

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 95% KULIT BATANG
BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*) TERHADAP HISTOPATOLOGI
PARU PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)
GALUR *Sprague dawley* YANG TERPAPAR ASAP ROKOK**

(SKRIPSI)

Oleh

Vonisy Mutia



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 95% KULIT BATANG
BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*) TERHADAP HISTOPATOLOGI
PARU PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)
GALUR *Sprague dawley* YANG TERPAPAR ASAP ROKOK**

Oleh
Vonisya Mutia

Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA KEDOKTERAN
Pada
Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018

ABSTRACT

THE EFFECT OF ETHANOL 95% EXTRACT OF *RHIZOPHORA APICULATA* BARK ON THE HISTOPATOLOGY OF MALE RATS (*RATTUS NOVERGICUS*) STRAIN *SPRAGUE DAWLEY* LUNGS EXPOSED TO CIGARETTE SMOKE

By

VONISYA MUTIA

Background: Smoking increased the number of death every year. Cigarette contains over 4000 chemicals and many of them are harmful to the human body. Free radicals that contained in cigarette smoke can lead into oxidative stress. Oxidative stress is a state of antioxidant imbalance in the body that can cause damage to the tissues. Antioxidants neutralize free radicals by donating one of their own electrons. *Rhizophora apiculata* contains antioxidants that can prevent lung from damages.

Methods: This study used 30 rats divided into 3 groups in 30 days. Control group not exposed by cigarette smoke and mangrove bark extract (K), first treatment group given mangrove bark extract with 56,55 mg/kgBB dose and exposed by 2 cigarette smoke each day (P1), Second treatment group exposed to cigarette smoke. Pulmonary histopathology was assessed using a microscope with a magnification of 400x. Data in this studies were analyzed using Kruskal-Wallis test.

Result: The results showed that there was an effect on pulmonary histopathology given exposure to cigarette smoke ($p = 0,000$), $p < 0.05$. The mean values in the experimental group were in groups K, KP1, KP2 were 0 (0-1), 2 (1-3) and 3 (2-3).

Conclusion: The ethanol 95% extract of *Rhizophora apiculata* bark has an effect on the histopathology of rats lungs exposed to cigarette smoke.

Keywords: Antioxidant, Cigarette, Free radical, *Rhizophora apiculata*.

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 95% KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*) TERHADAP HISTOPATOLOGI PARU PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG TERPAPAR ASAP ROKOK

Oleh

VONISYA MUTIA

Latar belakang: Setiap tahun nya terjadi peningkatan jumlah angka kematian yang disebabkan oleh rokok. Didalam rokok terkandung 4000 senyawa berbahaya bagi tubuh. Radikal bebas yang terkandung dalam asap rokok tersebut menyebabkan stres oksidatif jaringan. Antioksidan berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas dengan mendonorkan satu elektron nya. *Rhizophora apiculata* memiliki kandungan antioksidan yang dapat mencegah terjadinya kerusakan jaringan paru.

Metode: Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus yang terbagi dalam 3 kelompok selama 30 hari, yaitu kelompok kontrol yang tidak diberikan paparan asap rokok dan ekstrak kulit batang bakau (K), kelompok perlakuan 1 yang diberikan ekstrak kulit batang bakau minyak dengan dosis 56,55 mg/kgBB serta diberikan paparan asap rokok 2 batang perhari (P1), kelompok perlakuan 2 yang hanya diberikan paparan asap rokok. Histopatologi paru dinilai menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Data dianalisis menggunakan uji *Kruskall-Wallis*.

Hasil penelitian: Hasil menunjukkan terdapat pengaruh terhadap histopatologi paru yang diberikan paparan asap rokok ($p=0,000$) yaitu $p<0,05$. Nilai tengah pada kelompok percobaan yaitu pada kelompok K, KP1, KP2 adalah 0 (0-1), 2 (1-3) dan 3 (2-3).

Simpulan: Pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) berpengaruh terhadap histopatologi paru tikus yang dipaparkan asap rokok.

Kata kunci : Antioksidan, Radikal bebas, *Rhizophora apiculata*, Rokok.

Judul Skripsi

**: PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK
ETANOL 95% KULIT BATANG BAKAU
MINYAK (*Rhizophora apiculata*)
TERHADAP HISTOPATOLOGI PARU
PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus
norvegicus*) GALUR *Sprague dawley*
YANG TERPAPAR ASAP ROKOK**

Nama Mahasiswa

: Onisya Mutia

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1418011220

Program Studi

: Pendidikan Dokter

Fakultas

: Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

dr. Syazili Mustofa, M.Biomed

NIP 19830713 200812 1 003

dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, M.Farm

NIP 19841020 200912 2 005

Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Mubartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA

NIP 19701208 200112 1 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Pembimbing I : dr. Syazili Mustofa, M.Biomed

Pembimbing II : dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, M.Farm

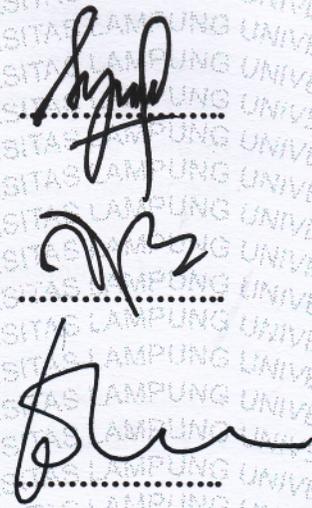
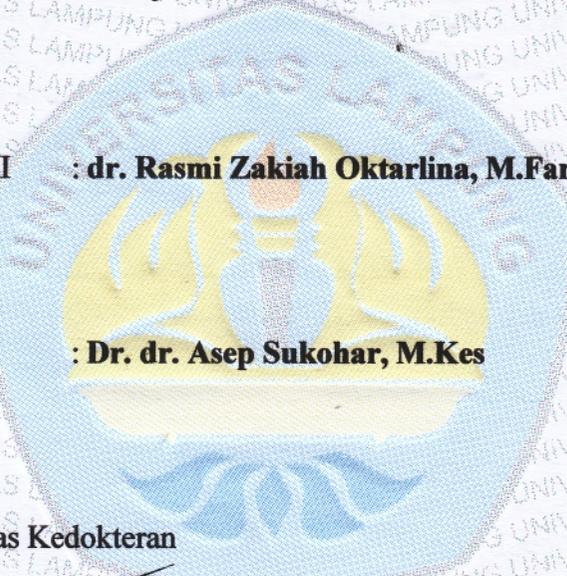
Pembahas : Dr. dr. Asep Sukohar, M.Kes

2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA

NIP 19701208 200112 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 24 Januari 2018



LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul "**Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 95% Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*) Terhadap Histopatologi Paru Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) Galur Sprague Dawley Yang Terpapar Asap Rokok**" adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarism.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 24 Januari 2018

Demi buat pernyataan,



vonisya Mutia

NPM. 1418011220

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 21 Juni 1996, merupakan ke empat dari lima bersaudara dari Ayahanda Hi. Novedy Yusufwan dan Ibunda Hj. Syamsidar Hambali.

Pendidikan Taman Kanak-kanak diselesaikan di TK. Trisula Rawalaut Bandar Lampung pada tahun 2002. Pendidikan Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SDN 2 Rawalaut Bandar Lampung pada tahun 2007. Sekolah Menengah Pertama diselesaikan di SMPN 4 bandar Lampung pada tahun 2011. Kemudian, melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 1 Bandar Lampung dan diselesaikan pada tahun 2014.

Pada tahun 2014, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam organisasi FSI IBNU SINA 1436H sebagai anggota. Penulis juga merupakan asisten dosen Patologi Klinik pada periode 2016-2017.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

“Bacalah dengan (menyebut) nama Tuhanmu Yang menciptakan. Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah. Bacalah, dan Tuhanmu lah yang Maha Pemurah. Yang mengajarkan manusia dengan perantaraan kalam. Dia mengajarkan manusia apa yang tidak diketahuinya.” (Qs. Al-Alaq [96]: 1-5)

Dengan penuh rasa syukur kepada Allah SWT, sebuah karya sederhana ini yang dikerjakan dengan penuh kesungguhan dan kesabaran yang diharapkan dapat bermanfaat, ku persembahkan untuk kedua orangtua dan keluarga tersayang.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

“Bacalah dengan (menyebut) nama Tuhanmu Yang menciptakan. Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah. Bacalah, dan Tuhanmu lah yang Maha Pemurah. Yang mengajarkan manusia dengan perantaraan kalam. Dia mengajarkan manusia apa yang tidak diketahuinya.” (Qs. Al-Alaq [96]: 1-5)

Dengan penuh rasa syukur kepada Allah SWT, sebuah karya sederhana ini yang dikerjakan dengan penuh kesungguhan dan kesabaran yang diharapkan dapat bermanfaat, ku persembahkan untuk kedua orangtua dan keluarga tersayang.

SANWACANA

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Serta Shalawat dan salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 95% Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*) Terhadap Histopatologi Paru Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* Yang Terpapar Asap Rokok” merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas dukungan, bantuan, saran, kritik, dan bimbingan kepada:

1. Ayah, ibu, kakak-adik dan keluarga tercinta yang selalu memberikan kasih sayang, doa, bantuan, dukungan, motivasi, dan semangat nya kepada penulis selama menjalankan pendidikan kedokteran dan dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

4. dr. Syazili Mustofa, S.Ked., M.Biomed., selaku Pembimbing Utama atas kesediaan waktu dalam bimbingan dan semua bantuan, saran, bimbingan dan arahan yang selalu diberikan untuk membantu dalam penyusunan dan penyelesaian skripsi ini.
5. dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm selaku Pembimbing Kedua atas kesediannya untuk menyempatkan waktu memberikan bimbingan, saran, motivasi, bantuan dan kritik selama penyelesaian skripsi ini.
6. Dr. dr. Asep Sukohar, S.Ked., M.Kes., selaku Pembahas untuk ketersediaan dan semua saran, masukan, nasihat serta bimbingan dalam menyelesaikan perbaikan pada skripsi ini.
7. dr. Oktafany, S.Ked., M.Pd.Ked., selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan selama menjalani perkuliahan.
8. dr. Rizki Hanriko, Sp.PA selaku Pembimbing Pembacaan Preparat Penelitian.
9. Ibu Nuriah, A.Md., dan mbak yani terimakasih telah banyak membantu saya dan tim selama di laboratorium Biomol FK Universitas Lampung.
10. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu, waktu, dan bimbingan yang telah diberikan dalam proses perkuliahan.
11. Seluruh staff TU, Administrasi dan Akademik FK Unila yang turut membantu dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
12. Sahabatku tersayang Niken Rahmatia dan Vincha Rahma yang selalu menemani dalam senang, bahagia dan sedih dalam keseharian ku dan perkuliahan serta memberikan dukungan, semangat, bantuan, doa, dan saran selama penelitian dan penyelesaian skripsi ini.

13. Teman seperjuangan penelitian dan skripsi Desty Marini dan William Bahagia atas kerjasama, bantuan, semangat dan selalu menemani dalam susah dan senang selama masa penelitian dan penyusunan skripsi.
14. Kepada kamu Andika Permana yang selalu memberikan doa, dukungan, semangat, motivasi, saran, pengingat dan pendengar keluh kesah ku yang sangat baik selama proses penyelesaian skripsi ini.
15. Sahabat-sahabat terbaik ku Arta, Destri, Enda, Gita, Hapsari, Jesy, Nita, Nurin, Oci, Triadha, Uty, Vio yang menjadi penyemangat dalam hari-hari sejak SMP, SMA hingga sekarang.
16. Sahabat ku Aria Rizky, Nadiya Kusnadi, Zafira Uswatun, Karine Meynda, Sutansyah, Komang dalam susah dan senang selama perkuliahan dan penyelesaian skripsi ini.
17. *Partner* LDR ku Annisa Syafiqa yang selalu menyemangati dan pendengarku dalam skripsi hingga hal lainnya sampai saat ini.
18. Teman-teman KKN Ayu, Audry, Ganesa, Nita, Komar, Riko dan keluarga induk semang selama masa kkn yang telah memberikan banyak pembelajaran.
19. Seluruh teman-teman Angkatan 2014 yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu atas persaudaraan, kebersamaan, kebahagiaan, kekompakan, ilmu dan pengalaman selama perkuliahan ini.
20. Seluruh kakak dan adik tingkat serta semua pihak yang memberikan saran, bantuan dan pengalaman dalam skripsi juga perkuliahan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua juga yang membacanya. Aamiin YRA.

Bandar Lampung, 24 Januari 2018
Penulis

Vonisya Mutia

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR GAMBAR	iii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Rokok	7
2.1.1 Pengaruh Paparan Asap Rokok Terhadap Paru	10
2.2 Histologi Paru	13
2.3 Tanaman Bakau Minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>)	17
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Bakau Minyak	17
2.3.2 Kandungan Zat Aktif Dalam Kulit Batang Bakau Minyak Sebagai Antioksidan	18
2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	21
2.4.1 Klasifikasi dan Jenis Tikus	21
2.4.2 Biologi Tikus	22
2.5 Kerangka Teori	24
2.6 Kerangka Konsep	25
2.7 Hipotesis	25

BAB III METODE PENELITIAN
3.1 Jenis dan Desain Penelitian	26
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.2.1 Waktu penelitian	26
3.2.2 Tempat Penelitian	26
3.3 Populasi dan Sampel.....	27
3.4 Kriteria Penelitian.....	29
3.5 Alat dan Bahan	30
3.5.1 Alat	30
3.5.2 Bahan	31
3.6 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional	32
3.6.1 Identifikasi Variabel	32
3.6.1.1 Variabel Independent	32
3.6.1.2 Variabel Dependent.....	32
3.6.2 Definisi Operasional.....	32
3.7 Prosedur Penelitian dan Alur Penelitian.....	33
3.7.1 Alur Penelitian	33
3.7.2 Prosedur Penelitian	35
3.7.2.1 Adaptasi Hewan Coba	35
3.7.2.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Batang Bakau Minyak	36
3.7.2.3 Pemaparan Asap Rokok	37
3.7.2.4 Terminasi Hewan Coba	38
3.7.2.5 Prosedur Pembuatan Preparat dan Pewarnaan Hematoxylin-Eosin	38
3.7.2.6 Penilaian Gambaran Histopatologi Paru	43
3.8 Diagram Alur Penelitian	45
3.9 Analisis Data Statistik	46
3.10 Etika Penelitian	46

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Gambaran Umum Penelitian.....	48
4.2 Hasil Penelitian.....	49
4.2.1 Analisis Data Penelitian.....	54
4.2.1.1 Sel Radang.....	54
4.2.1.2 Perdarahan	57
4.2 Pembahasan	60
4.3.1 Sel radang	60
4.3.2 Perdarahan	62
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	66
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN.....	

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Rokok Dan Komponen Senyawa di Dalamnya.....	9
Gambar 2. Radikal bebas terhadap kerusakan sel.....	12
Gambar 3. Respon Inflamasi Sebagai Mekanisme Pertahanan Saluran Pernafasan	13
Gambar 4. Histologi Paru.....	14
Gambar 5. Histologi Bronkiolus	15
Gambar 6. Histologi Alveolus	15
Gambar 7. Histologi Alveolus.....	16
Gambar 8. Tanaman Bakau Minyak	17
Gambar 9. Metode Penangkapan Radikal Bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) Terhadap Ekstrak Kulit Batang Bakau	19
Gambar 10. Struktur Tanin Terhidrolisis Dan Tanin Terkondensasi.....	20
Gambar 11. Tikus Putih	22
Gambar 12. Kerangka Teori.....	24
Gambar 13. Kerangka Konsep	25
Gambar 14. Pemaparan Asap Rokok	38
Gambar 15. Histologi Paru Dengan Infiltrasi Sel Radang.....	43
Gambar 16. Histologi Paru Dengan Perdarahan	43
Gambar 17. Diagram Alur Penelitian.....	45
Gambar 18. Gambaran Histopatologi Paru Kelompok Kontrol.....	50
Gambar 19. Gambaran Histopatologi Paru Kelompok Kontrol.....	50
Gambar 20. Gambaran Histopatologi Paru Kelompok Kontrol.....	51

Gambar 21. Gambaran Histopatologi Paru Kelompok Perlakuan 1	51
Gambar 22. Gambaran Histopatologi Paru Kelompok Perlakuan 1	52
Gambar 23. Gambaran Histopatologi Paru Kelompok Perlakuan 1	52
Gambar 24. Gambaran Histopatologi Paru Kelompok Perlakuan 2	53
Gambar 25. Gambaran Histopatologi Paru Kelompok Perlakuan 2	53
Gambar 26. Gambaran Histopatologi Paru Kelompok Perlakuan 2	53

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Nilai IC_{50} Antioksidan Pada Ekstrak Bakau	19
Tabel 2. Kelompok Perlakuan	29
Tabel 3. Definisi Operasional	33
Tabel 4. Skor Penilaian Derajat Kerusakan Histologi Paru	44
Tabel 5. Hasil Nilai Tengah Sel Radang	54
Tabel 6. Uji Normalitas Data	55
Tabel 7. Hasil Uji <i>Kruskal Wallis Test</i> Sel Radang	56
Tabel 8. Hasil <i>Post Hoc</i> Sel Radang	56
Tabel 9. Hasil Nilai Tengah Perdarahan	57
Tabel 10. Uji Normalitas Data	58
Tabel 11. Hasil Uji <i>Kruskal Wallis Test</i> Perdarahan	58
Tabel 12. Hasil <i>Post Hoc</i> Perdarahan	59

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Data Hasil Penelitian
- Lampiran 2. Analisis Data Statistik
- Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian
- Lampiran 4. Gambaran Hasil Histopatologi Paru
- Lampiran 5. Surat Persetujuan Etik
- Lampiran 6. Surat Izin Penelitian
- Lampiran 7. Sertifikat Hewan Coba Pada Penelitian

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebiasaan merokok merupakan gaya hidup yang menjadi faktor risiko yang dapat menyebabkan berbagai penyakit, yaitu penyakit saluran pernafasan, penyakit jantung koroner dan penyakit reproduksi pada pria maupun wanita (Kemenkes, 2013) Merokok sudah menjadi hal yang biasa dilakukan setiap hari nya oleh penduduk di dunia terutama di Negara berkembang dengan jumlah penduduk sebanyak 1,3 milyar, sekitar 80% mayoritas penduduknya adalah perokok. Menurut hasil data WHO, Indonesia menjadi salah satu Negara berkembang yang dikategorikan sebagai negara ketiga di dunia dengan jumlah perokok aktif terbanyak sejumlah 61,4 juta perokok dan terus mengalami peningkatan setiap tahun nya (WHO, 2011). Sehingga, merokok menjadi masalah kesehatan yang diperhatikan di Indonesia, dikarenakan setiap tahun nya terjadi sebanyak 6 juta kematian yang disebabkan oleh merokok (Kemenkes RI, 2013; WHO, 2012). Didalam rokok terkandung 4000 jenis senyawa kimia yang memiliki sifat berbahaya, toksik, dan tergolong karsinogenik. Beberapa kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam rokok yaitu nikotin, tar, dan karbon monoksida (Sari, 2014; Rizqi, 2016).

Asap rokok merupakan salah satu radikal bebas yang sangat tinggi yang berada dilingkungan (Prabaningtyas, 2010). Radikal bebas merupakan suatu molekul atau atom yang tidak memiliki elektron berpasangan, sifatnya tidak stabil dan molekul ini dapat mengikat molekul lain untuk berpasangan elektronnya sehingga menyebabkan kerusakan jaringan (Valavanidis *et al.*, 2013; Winarsi, 2007).

Radikal bebas yang berasal dari asap rokok tersebut menyebabkan kerusakan pada paru-paru. Kerusakan pada paru-paru tersebut disebabkan karena stress oksidatif jaringan dan sel paru yang ditimbulkan dari asap rokok yang dapat menyebabkan perubahan bahkan kerusakan pada struktur secara histologi paru, kerusakan fungsi paru dan kematian sel pada paru-paru. Stress Oksidatif ini disebabkan oleh ROS (*reactive oxygen species*) dalam konsentrasi tinggi yang di akibatkan paparan asap rokok sehingga menyebabkan kondisi terjadinya inaktivitas antiprotease, kerusakan epitel saluran napas, hipersekresi mukus, peningkatan influks neutrofil ke jaringan paru, dan peningkatan infiltrasi mediator inflamasi (TNF- α , IL-8, *macrophage inflammatory protein-1 α* (MIP1- α), *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), sel limfosit T, sel sitotoksik CD8+ beserta IL-4 dan IL-3) yang kemudian juga dapat memperparah keadaan sel dan jaringan tubuh yang telah mengalami kerusakan (Daijo *et al.*, 2016; Oktarlina, 2017). Aktifitas dari radikal bebas tersebut dapat dihambat dengan suatu antioksidan (Dorothy, 2010).

Antioksidan adalah suatu molekul yang memiliki manfaat bagi kesehatan karena dapat menghambat dan mencegah terjadinya proses pembentukan zat

radikal bebas baru (Poljsak *et al.*, 2014). Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektron atau satu atom hidrogen nya ke zat radikal bebas sehingga mencegah proses terjadinya oksidasi terhadap molekul lain dan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang kurang reaktif dan menghambat terjadinya apoptosis pada sel dan jaringan tubuh. Antioksidan juga memiliki banyak manfaat dan fungsinya dalam memperbaiki sel-sel tubuh yang mengalami kerusakan dan apoptosis sel (Muchtadi, 2013; Sukohar, 2015). Antioksidan ini dapat ditemukan dalam buah-buahan, tanaman atau tumbuhan, dan sayuran (Sukohar, 2015; Winarsi, 2007). Antioksidan dalam tumbuhan tersebut salah satunya terdapat pada tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) pada bagian kulit batang nya sebagai tanaman yang memiliki antioksidan yang tinggi agar dapat digunakan sebagai tanaman obat yang masih belum banyak dipakai dan diketahui untuk dimanfaatkan sebagai obat herbal oleh masyarakat secara terus-menerus (Abdullah, 2011; Rahim *et al.*, 2008). Obat herbal adalah bahan atau ramuan yang berasal dari tumbuhan yang secara turun-temurun digunakan untuk pengobatan dengan berdasarkan pengalaman dan bahan baku nya terstandar serta melalui pembuktian uji secara ilmiah maupun klinis yang kemudian dapat diterapkan sesuai dengan aturan yang berlaku di masyarakat (Kemenkes RI, 2016)

Tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) merupakan jenis tanaman bakau yang terdapat dalam jumlah yang banyak di Indonesia. Indonesia memiliki hutan bakau dengan luas hutan mencapai 4,5 juta hektar atau sejumlah 25% dari jumlah total luas hutan bakau yang ada di seluruh dunia

dan banyaknya 45 jenis spesies tanaman bakau diantaranya terdiri atas *R. Stylosa*, *R. Apiculata*, dan *R. Muncronata* (Duke *et al.*, 2010; Wiarta R, 2017). Tanaman *Rhizophora apiculata* ini memiliki ciri-ciri berwarna kemerahan pada daun nya. Beberapa kandungan antioksidan yang terdapat dalam tanaman bakau minyak ini adalah alkaloid, flavonoid, polyfenol, saponin, dan tanin dengan menggunakan uji fitokimia (Darlian *et al.*, 2011; Hadi *et al.*, 2016; Huda *et al.*, 2013). Penelitian sebelumnya juga membuktikan bahwa, *Rhizophora apiculata* dengan dosis 120mg/KgBB yang diberikan pada tikus putih jantan galur wistar memiliki antioksidan yang tinggi dengan DPPH 100% dapat mencegah terjadinya stress oksidatif (Vijayavel *et al.*, 2006). Dengan kandungan antioksidan tersebut, *Rhizophora apiculata* ini dapat dimanfaatkan untuk digunakan dalam memperbaiki jaringan dan sel yang mengalami stress oksidatif dan kerusakan pada paru, serta tanaman ini mampu menghambat terjadinya pembentukan radikal bebas yang disebabkan oleh paparan asap rokok (Abdullah, 2011).

Oleh karena itu, setelah mempertimbangkan terhadap penelitian-penelitian sebelumnya akhirnya peneliti tertarik untuk melakukan penelitian pada pengaruh pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap histopatologi paru pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang terpapar asap rokok. Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan informasi terhadap kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) untuk dapat dimanfaatkan dengan potensi antioksidan yang tinggi di dalamnya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, membuat peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dan didapatkan rumusan masalah yaitu apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap histopatologi paru pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang terpapar asap rokok.

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap histopatologi paru pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang terpapar asap rokok.

1.4 Manfaat Penulis

1. Bagi Ilmu Pengetahuan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi, menambah wawasan ilmiah dan ilmu pengetahuan terhadap pengaruh dan potensi antioksidan yang terdapat dalam tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).

2. Bagi Peneliti

Penelitian ini untuk dapat meningkatkan ilmu pengetahuan serta pengalaman peneliti untuk dapat terus mengembangkan kemampuan penelitian.

3. Bagi Masyarakat/Institusi

Memberikan informasi terkait manfaat dari tanaman herbal salah satunya ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) memiliki efek protektif sebagai antioksidan terhadap kerusakan paru-paru yang terpapar asap rokok.

4. Bagi Pemerintah

Mendukung upaya pemerintah dalam program memanfaatkan dan meningkatkan sumber daya alam di Provinsi Lampung dengan tanaman obat salah satunya kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).

5. Bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Penelitian ini dilakukan agar dapat bermanfaat dan ikut serta dalam membantu menunjang visi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sebagai Fakultas Kedokteran sepuluh terbaik di Indonesia pada tahun 2025 dalam bidang *agromedicine*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rokok

Saat ini rokok menjadi masalah kesehatan di negara Indonesia, dikarenakan sudah terjadinya 6 juta kematian yang terus meningkat disetiap tahunnya yang disebabkan oleh rokok. Menurut Kementerian Kesehatan RI pada tahun 2013 diperkirakan angka kematian tersebut akan terus meningkat sampai pada tahun 2030 angka kematian perokok di dunia dapat mencapai 10 juta jiwa dan 70% terdapat di negara berkembang (Kemenkes RI, 2013). Menurut data WHO, Indonesia dikategorikan sebagai negara berkembang ketiga di dunia yang memiliki sejumlah 61,4 juta perokok aktif setelah China dan India yang terus mengalami peningkatan di setiap tahunnya sehingga, Indonesia juga dikatakan sebagai penyumbang perokok tertinggi di dunia (WHO, 2012). Berdasarkan data *Global Adult Tobacco Survey* (GATS) pada tahun 2011 prevalensi perokok di Indonesia yaitu sejumlah 67% laki laki, dan 2,7% perempuan (Kemenkes RI, 2013).

Rokok merupakan hasil olahan dari tembakau yang didalamnya terkandung 4000 jenis senyawa kimia berbahaya yang bersifat karsinogenik dan toksik bagi kesehatan tubuh (Rizqi, 2016; Nururrahmah, 2014). Rokok juga menjadi faktor risiko terhadap penyakit berbahaya, seperti pada penyakit paru

obstruktif kronis (PPOK), penyakit kardiovaskuler, dan penyakit lainnya (Prabaningtyas, 2010; Sudoyo, 2016). Rokok memiliki tiga komponen utama senyawa kimia yang terkandung didalamnya, yaitu berupa nikotin, tar, dan gas karbon monoksida (Rizqi, 2016; Batubara *et al.*, 2013).

1. Nikotin adalah suatu zat aditif yang menjadi komponen terbesar dalam rokok yang bersifat alkaloid toksik. Bersifat alkali atau basa kuat dengan pH 8,0 dan berbentuk non ion sehingga dapat mempengaruhi membran sel saraf (Kareem *et al.*, 2015; Sari, 2014).
2. Tar merupakan campuran dari beberapa senyawa hidrokarbon dan bersifat karsinogen. Tar memiliki beberapa tipe radikal bebas yaitu diantaranya terdapat semiquinon dan PAH (*Polycyclic aromatic hydrocarbons*). Tar juga bersifat sangat lengket sehingga dengan mudah akan menempel pada paru, membungkus silia pada epitel paru, serta menyebabkan rusaknya mukosa rongga mulut, perubahan warna gigi, gusi, dan mengurangi kepekaan rasa pengecap dimulut (Kareem *et al.*, 2015; Sari, 2014).
3. Karbon monoksida merupakan senyawa berupa gas, dan biasanya dipakai dalam pembuatan senyawa organik maupun anorganik. Gas karbon monoksida ini tidak menyebabkan keracunan, melainkan berefek pada berkurangnya kemampuan hemoglobin dalam mengangkut oksigen untuk disalurkan ke sirkulasi dan seluruh jaringan tubuh, sehingga dapat mengakibatkan kematian sel yang dikarenakan seluruh jaringan tubuh terpapar senyawa kimia yang terkandung dalam rokok (Kareem *et al.*, 2015; Sari, 2014)



Gambar 1. Rokok Dan Komponen Senyawa Di Dalamnya
(Rizqi, 2016; Sari, 2014)

Perokok dibedakan menjadi dua tipe, yaitu perokok aktif dan perokok pasif. Perokok aktif adalah seseorang yang merokok dan langsung menghirup asap rokok dari proses pembakaran tembakau, sedangkan perokok pasif adalah seseorang yang menghirup asap rokok dari hasil pembakaran tembakau oleh perokok. Perokok pasif memiliki risiko berbahaya lebih tinggi dibandingkan dengan perokok aktif jika terjadi paparan asap rokok secara terus menerus.

WHO membagi tipe perokok menjadi tiga, yaitu:

1. Perokok ringan, merokok 1-10 batang perhari
2. Perokok sedang, merokok 11-20 batang perhari
3. Perokok berat, merokok lebih dari 20 batang perhari (WHO, 2011).

Asap rokok memiliki radikal bebas yang tinggi dan berbahaya bagi tubuh (Safitri *et al.*, 2010; Daijo *et al.*, 2016). Radikal bebas adalah suatu senyawa yang memiliki satu elektron yang tidak berpasangan dan dapat mengikat elektron dari senyawa lain dengan mengoksidasi molekul disekitarnya seperti lipid, protein, dan DNA. Memiliki sifat sangat reaktif, tidak stabil, dan

apabila terakumulasi dalam jumlah banyak di tubuh dapat menyebabkan stress oksidatif (Winarsi, 2007). Stress oksidatif merupakan suatu proses kerusakan dikarenakan ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan. Pada keadaan tersebut, cenderung lebih meningkat pada oksidan dan ketersediaan antioksidan yang kurang memadai (Daijo *et al.*, 2016; Droge, 2002) Stress oksidatif disebabkan oleh ROS (*Reactive oxygen species*). Setiap asap rokok dalam satu kali hirupan dapat mengandung 10^{17} molekul ROS (*Reactive oxygen species*). Jika ROS berada dalam konsentrasi yang tinggi dan terjadi peningkatan terus menerus yang disebabkan oleh paparan asap rokok dapat berakibat terjadinya stress oksidatif pada paru-paru. Sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada paru (Rahal *et al.*, 2014; Kumar *et al.*, 2013).

2.1.1 Pengaruh Paparan Asap Rokok terhadap Paru

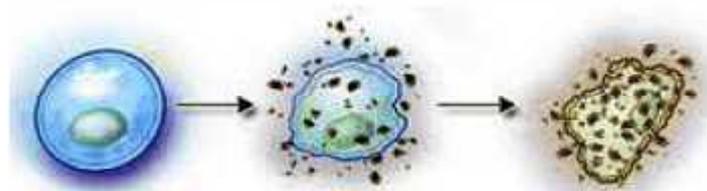
Paparan asap rokok akan mengaktivasi makrofag alveolar dan respon sel epitel saluran pernafasan berupa peningkatan jumlah kemokin seperti TNF α , IL-8, *macrophage inflammatory protein-1 α* (MIP1- α) dan *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1) untuk membentuk faktor kemotaktik yang selanjutnya akan terjadinya infiltrasi sel neutrofil pada paru yang menimbulkan kerusakan pada struktur paru. Makrofag dan neutrofil yang telah teraktivasi akan melepaskan protease dan *superoxide anion* (O_2^-) bersama dengan metalloproteinase (MMPs) dan neutrofil elastase yang dapat menyebabkan terjadinya inaktivasi antiprotease, kerusakan epitel saluran napas, hipersekresi mukus, fibrosis, peningkatan influks neutrofil dan mediator inflamasi ke jaringan paru. Infiltrasi sel inflamasi tersebut juga dapat

memperpanjang terjadinya inflamasi paru sehingga menjadi kronis dan progresif. Sel mediator inflamasi lainnya berupa peningkatan jumlah limfosit T yang didominasi oleh CD8⁺ dapat ditemukan pada jaringan paru dan kelenjar limfe paratrakeal. Sel sitotoksik CD8⁺ beserta IL-4 dan IL-3 menyebabkan hipersekresi mukus dan juga destruksi parenkim paru dengan melepaskan perforin (Daijo *et al.*, 2016; Kareem *et al.*, 2015; Kumar *et al.*, 2013; Price & Wilson, 2012).

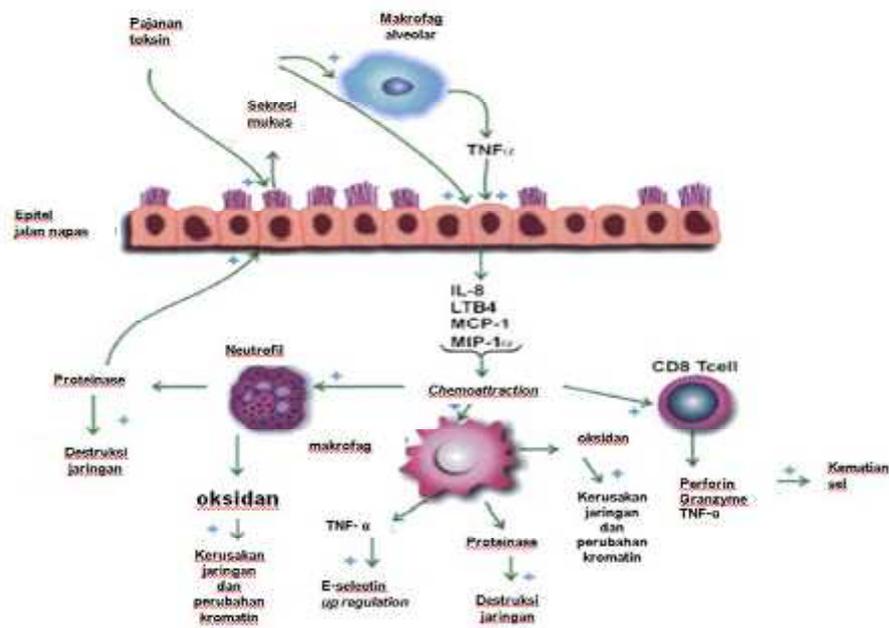
Makrofag alveolar merupakan pertahanan terakhir dan terpenting untuk melawan invasi benda asing ke dalam paru. Partikel debu atau mikroorganisme akan diangkut oleh makrofag dan akan dibuang oleh *muccociliary clearance*. Makrofag tersebut jika terstimulasi dapat menginaktivasi α 1-AT sebagai proteinase inhibitor dalam paru. Kemudian, neutrofil elastase juga dapat merusak struktur protein paru dan menyebabkan destruksi septum alveolar. Jejas pada jaringan juga terjadi dikarenakan peningkatan adhesi perlekatan fagosit ke dalam jaringan dan dapat meningkatkan terjadinya stress oksidatif yang lebih besar (Kumar *et al.*, 2013; Price & Wilson, 2012).

Muccociliary clearance sebagai mekanisme pertahanan paru akan rusak akibat paparan asap rokok terus-menerus. *Muccociliary clearance* terdiri dari lapisan mukus, refleks batuk, makrofag alveolar, dan penurunan gerakan silia. Lapisan mukus mengandung barier pertahanan yaitu immunoglobulin (IgA), PMN, interferon, dan antibodi spesifik (Kumar *et al.*, 2013).

Kebiasaan merokok dapat menyebabkan terdapatnya tahanan jalan nafas (*airways resistance*) yang disebabkan oleh asap rokok sehingga mudah terjadi kebocoran pada pembuluh darah paru, peningkatan permeabilitas endotel kapiler pembuluh darah paru dan menyebabkan protein plasma keluar bersamaan dengan cairan yang dapat tertimbun di jaringan lalu menimbulkan edema dan atrofi (Stockley *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2013; Price *et al.*, 2012). Keadaan lain nya yang terjadi pada paru-paru yang juga dapat diakibatkan oleh paparan asap rokok secara terus-menerus yaitu terjadi inflamasi, atrofi, hiperplasia. Kondisi tersebut dapat disebabkan karena aktivasi dari *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) epitel saluran pernafasan, metaplasia sel goblet, metaplasia sel squamosa, hipersekresi mukus yang menimbulkan sumbatan lendir pada bronkiolus sehingga mengakibatkan penyempitan saluran pernafasan dan apoptosis sel paru. Keadaan ini juga diperpanjang akibat oleh peningkatan ROS (*Reactive oxygen species*) dan RNS (*Reactive nitrogen species*) yang terkandung dalam asap rokok yang menimbulkan kerusakan sel dan jaringan paru oleh stres oksidatif (Kareem *et al.*, 2015; Kumar *et al.*, 2013).



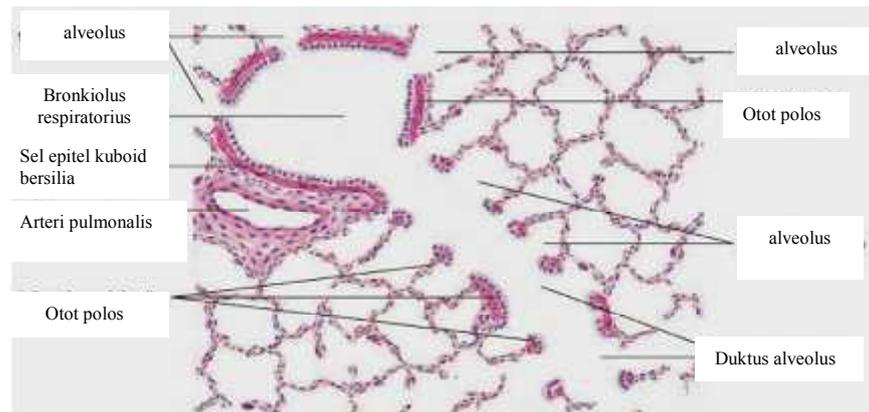
Gambar 2. Radikal Bebas Terhadap Kerusakan Sel
(Kumar *et al.*, 2013).



Gambar 3. Respon Inflamasi Sebagai Mekanisme Pertahanan Saluran Pernafasan (Kumar *et al.*, 2013).

2.2 Histologi Paru

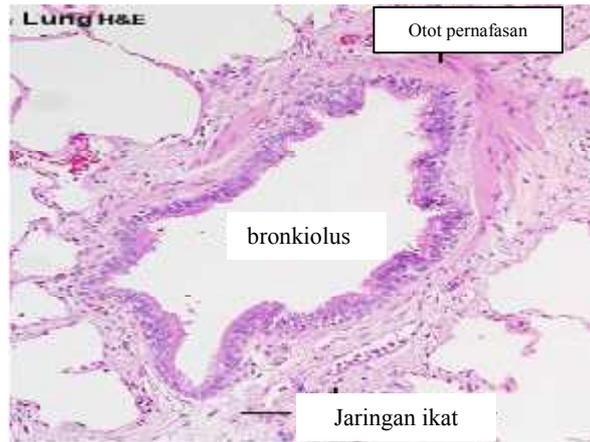
Paru-paru merupakan organ yang elastis, berpori dan berbentuk seperti kerucut yang terletak di dalam rongga dada. Sistem pernafasan terbagi menjadi bagian konduksi dan bagian respirasi. Sistem konduksi terdiri atas rongga hidung, nasofaring, laring, trakea, bronkus, bronkiolus, dan bronkiolus terminalis. Sedangkan pada bagian respirasi terdiri atas bronkiolus respiratorius, duktus alveolus, saccus alveolus, dan alveolus. Paru dilindungi oleh membran pleura dengan struktur histologi berupa lapisan jaringan ikat tipis, fibroblas, dan serat elastin (Eroschenko, 2013; Junqueira *et al.*, 2007).



Gambar 4. Histologi Paru (Junqueira *et al.*, 2007).

a. Bronkiolus

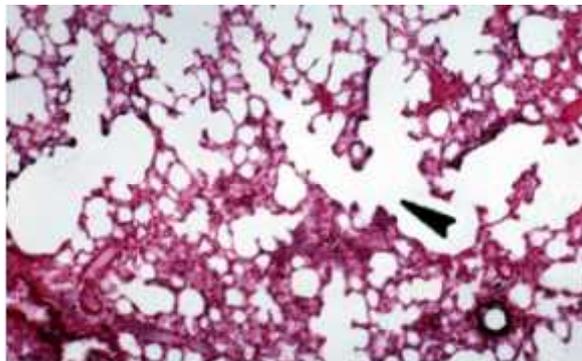
Bronkiolus merupakan saluran pernafasan dengan struktur histologi yang mengandung lempeng tulang rawan hialin, adventitia, kelenjar, lamina propria dikelilingi otot polos. Lapisan terluarnya terdiri atas jaringan ikat. Epitel pada bronkiolus adalah epitel kolumnar silindris bersilia dengan sel goblet dan lamina propia yang tipis. Pada bronkiolus terminalis memperlihatkan gambaran histologi yang berombak dengan epitel silindris bersilia dan juga memiliki sel goblet. Setiap Bronkiolus terminalis akan bercabang menjadi dua atau lebih bronkiolus respiratorius yang merupakan tempat terjadinya pertukaran gas pada dengan terdapat adanya saccus alveolus. Bronkiolus respiratorius memiliki sel epitel kuboid bersilia dengan sel clara. Tetapi pada bagian tepi alveolus, epitel bronkiolus akan menyatu dengan sel alveolus tipe I (sel alveolus gepeng) (Eroschenko, 2013; Junqueira *et al.*, 2007).



Gambar 5. Histologi Bronkiolus (Junqueira *et al.*, 2007).

b. Duktus alveolaris

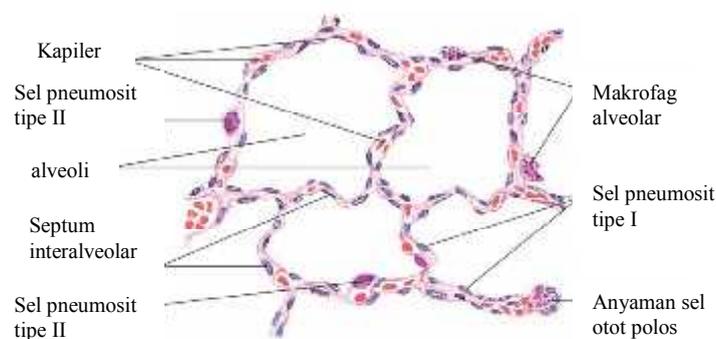
Bagian terminal dari setiap bronkiolus respiratoris akan bercabang menjadi beberapa duktus alveolus. Duktus alveolus dilapisi oleh sel alveolus gepeng dan di dalam lamina propria nya dikelilingi oleh anyaman sel otot polos (Eroschenko, 2013; Junqueira *et al.*, 2007).



Gambar 6. Histologi Alveolus (Junqueira *et al.*, 2007). Keterangan: Anak panah menunjukkan duktus alveolus.

c. Alveolus

Alveolus dilapisi oleh sel alveolus tipe I (sel pneumosit tipe I) dan sel alveolus tipe II (sel pneumosit tipe II). Sel-sel alveolus ini mengandung badan lamela yang menghasilkan materi yang menyebar pada permukaan atas dan melapisi alveolus. Sel alveolus tipe I atau sel alveolus gepeng merupakan sel yang sangat tipis yang melapisi permukaan alveolus. Sel tipe I menempati hampir 97% dari permukaan alveolus dan 3% ditempati oleh sel tipe II. Sel tipe II tersebar di antara sel alveolus tipe I. Pada gambaran histologi sel tipe II menunjukkan ciri sitoplasma yang khas yaitu bervesikel atau berbusa. Alveoli dipisahkan oleh septum interalveolar. Septum interalveolar terdiri dari sel alveolus selapis gepeng, jaringan ikat tipis, fibroblas dan kapiler. Selain itu alveolus juga mengandung makrofag alveolaris atau *sel dust*. Surfaktan paru memiliki fungsi penting yang utama pada paru, yaitu mengurangi tegangan pada permukaan sel alveolus dan jika tidak terdapat surfaktan dapat menyebabkan alveolus menjadi kolaps (Eroschenko, 2013; Junqueira *et al.*, 2007).



Gambar 7. Histologi Alveolus (Junqueira *et al.*, 2007).

2.3 Tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Bakau Minyak

Rhizophora apiculata merupakan jenis tanaman bakau yang memiliki potensi besar untuk dimanfaatkan sebagai obat herbal (Rahim *et al.*, 2008). Tanaman ini tersebar luas dan terbanyak berada di Indonesia dengan kandungan 100000–200000 senyawa aktif didalamnya (Purwaningsih, 2013). Terdapat tiga jenis tanaman bakau yang sering dijumpai di Indonesia, yaitu *Rhizophora apiculata*, *Rhizophora mucronata*, dan *Rhizophora stylosa*. Buah dari tanaman ini biasanya dijadikan sebagai bahan makanan oleh masyarakat (Khasanah *et al.*, 2012).

Tanaman *Rhizophora apiculata* ini termasuk dalam famili *Rhizophoraceae*, genus *Rhizophora*, dan spesies *Rhizophora apiculata*. Biasanya tanaman ini dikenal dengan nama bakau minyak (Duke, 2010; Purnobasuki, 2005).



Gambar 8. Tanaman Bakau Minyak (Hadi *et al.*, 2016)..

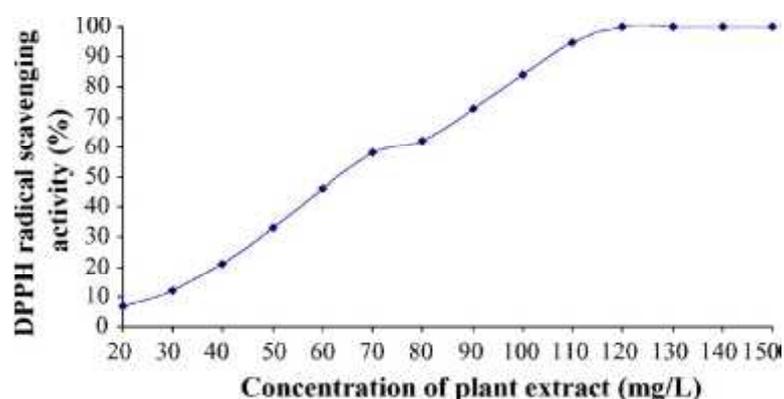
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Rhizophorales
Suku	: Rhizophoraceae
Marga	: <i>Rhizophora</i>
Jenis	: <i>Rhizophora apiculata</i> (Duke <i>et al.</i> 2010)

Tanaman ini dapat tumbuh dengan tinggi yang mencapai 30 meter disertai perakaran yang khas. Bentuk buahnya bulat, berwarna cokelat, dan kulit kayunya berwarna abu-abu tua (Purnobasuki, 2005). Bakau minyak ini dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, dikarenakan mengandung antioksidan yang tinggi (Nurzakiah, 2013).

2.3.2 Kandungan Zat Aktif Dalam Kulit Batang Bakau Minyak Sebagai Antioksidan

Rhizophora apiculata mengandung senyawa aktif yang dapat berpotensi sebagai antioksidan yang tinggi. Senyawa bioaktif yang terkandung didalam tanaman bakau minyak terdapat pada bagian buah, daun, batang maupun akar. Peranan antioksidan dalam tumbuhan sangat banyak bermanfaat sebagai antifungi, antivirus, antibakteri, antitumor, antidiare, antiinflamasi, dan antikanker (Cendikia, 2015; Darlian *et al.*, 2011; Felipe *et al.*, 2011; Harwoko, 2010; Mustofa *et al.*, 2014; Soetamo, 1997; Santoso *et al.*, 2015; Wulandari, 2014). Penelitian sebelumnya, terkait *Rhizophora* sebagai antioksidan yang dapat

menghambat radikal bebas sehingga mencegah terjadinya stress oksidatif yaitu dengan menggunakan ekstrak kulit batang bakau minyak melalui hasil uji ekstrak bakau (*Rhizophora apiculata*) dengan metode penangkapan radikal bebas DPPH dan ABTS merupakan bagian yang paling berpotensi sebagai antioksidan (Abdullah, 2011; Rahim *et al.*, 2008; Vijayavel *et al.*, 2006).

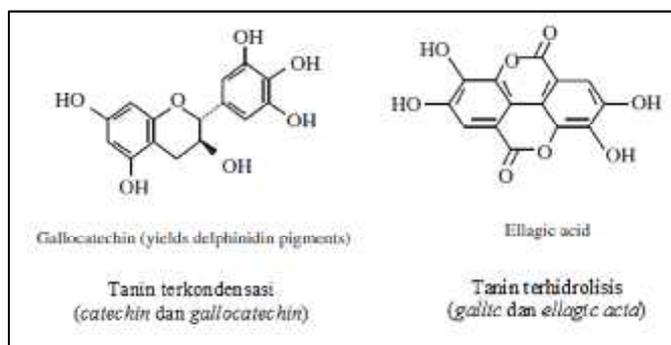


Gambar 9. Metode Penangkapan Radikal Bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) Terhadap Ekstrak Kulit Batang Bakau(Vijayavel *et al.*, 2006).

Tabel 1. Nilai IC₅₀ Senyawa Antioksidan Pada Ekstrak Bakau Minyak(*Rhizophora apiculata*) (Abdullah, 2011).

Ekstrak	Antioksidan	
	DPPH $\mu\text{g mL}^{-1}$	ABTS $\mu\text{g mL}^{-1}$
N-heksana batang	_*	_*
Etil asetat batang	26.93	71.92
Metanol batang	30	77.12
N-heksana kulit batang	_*	_*
Etil asetat kulit batang	137.11	30.89
Metanol kulit batang	3.31	18.47
N-heksana akar	_*	_*
Etil asetat akar	82.84	68.61
Metanol akar	53.12	55.54
Asam kojat	*	*
Asam askorbat	9.79	10.93

Kandungan antioksidan yang terdapat dalam *Rhizophora apiculata* yaitu berupa senyawa antioksidan golongan tanin, saponin, terpenoid, flavonoid, dan alkaloid (Abdullah, 2011; Rahim *et al.*, 2008; Yusro, 2010). Tanin yang terkandung dalam tanaman bakau minyak merupakan senyawa aktif yang berpotensi paling tinggi sebagai antioksidan. Tanin merupakan senyawa golongan polifenol, dan dibagi atas dua kelompok yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terhidrolisis adalah tanin yang memiliki struktur poliester yang dengan mudah dapat terhidrolisis oleh enzim, asam klorida atau asam sulfat yang akan menghasilkan asam polifenolat. Tanin terkondensasi adalah tanin yang sering disebut proantosianidin dan pada pemanasan dengan asam klorida akan menghasilkan phloroglucinol (Hagerman, 2002; Sujarnoko 2012; Yusro, 2010).



Gambar 10. Struktur Tanin Terhidrolisis Dan Tanin Terkondensasi (Dennis, 2005).

Pada bagian kulit batang bakau minyak mengandung kadar tanin yang cukup tinggi. Tanin dapat dijumpai hampir pada semua jenis tumbuhan dengan kadar yang berbeda-beda. Tanin memiliki gugus fenol dan bersifat koloid. Tanin memiliki sifat mudah larut dalam air. Kelarutan

yang dimiliki oleh tanin akan bertambah besar jika menggunakan pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton, dan pelarut organik lainnya. Tanin mudah terurai pada suhu 98,8^o C. Tanin juga dapat dihidrolisis oleh asam, basa dan enzim. Ikatan kimia yang terjadi pada tanin adalah ikatan hidrogen, ikatan ionik, dan ikatan kovalen (Hagerman, 2002; Huda *et al.*, 2013; Sujarnoko 2012; Yusro, 2010).

2.4 Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)

2.4.1 Klasifikasi dan Jenis Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)

Tikus putih banyak digunakan sebagai hewan percobaan pada penelitian. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) awal mulanya berasal dari wilayah Cina kemudian menyebar ke wilayah Eropa bagian barat. Tikus putih ini juga menyebar ke wilayah Asia Tenggara dan berkembang biak di Indonesia, Malaysia, Singapura, Filipina, dan Laos. Tikus putih terbagi menjadi beberapa galur dengan kekhususan untuk dapat digunakan pada penelitian sebagai hewan percobaan yaitu *Sprague dawley*, *Wistar*, *Long evans* dan *Holdzman* (Fawcett A, 2012; Depkes RI, 2001).



Gambar 11. Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) (Fakultas Kedokteran Hewan UGM, 2006).

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Odontoceti
Familia	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

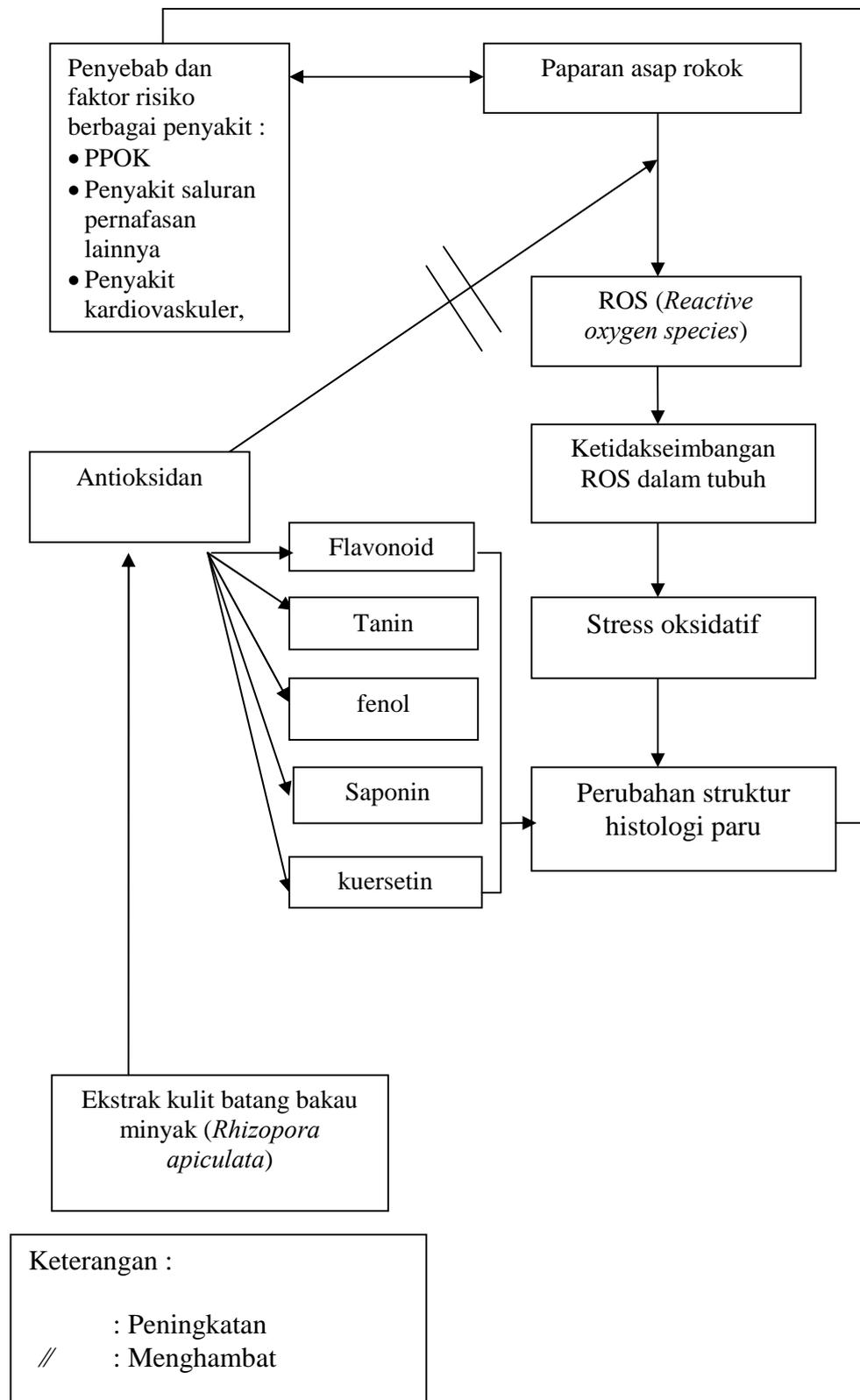
(Fakultas Kedokteran Hewan UGM, 2006).

2.4.2 Biologi Tikus Putih

Tikus putih memiliki masa hidup lebih lama daripada mencit (Fakultas Kedokteran Hewan UGM, 2006). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sering digunakan sebagai hewan percobaan pada penelitian karena tikus juga dapat menderita suatu penyakit baik secara alamiah maupun menggunakan induksi suatu zat atau bahan yang menyebabkan penyakit (Fawcett A, 2012; Depkes RI, 2001).

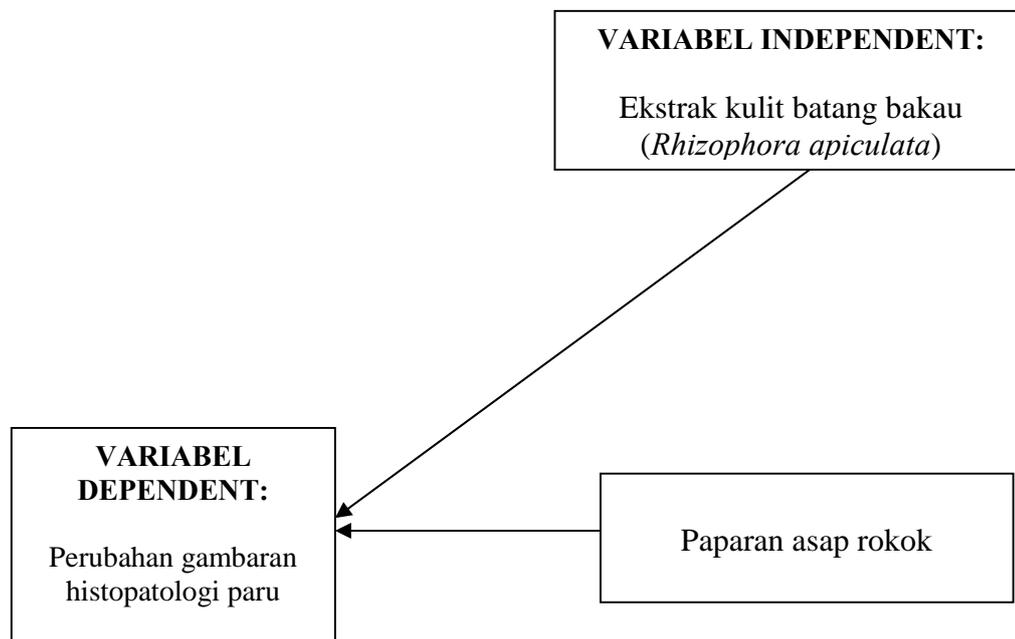
Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan, karna tikus putih dapat dengan cepat berkembang biak, memiliki metabolisme yang sama dengan manusia yaitu dengan kesamaan karakteristik anatomis, fisiologis, kelengkapan organ-organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimia, sistem reproduksi, eksresi dan peredaran darah yang sama dengan manusia. Memiliki pertumbuhan yang cepat, dan mudah dipelihara dalam jumlah banyak. Serta memiliki tingkat ketenangan yang baik sehingga memberikan kemudahan dan tahan dalam perlakuan pada penelitian, serta ukurannya lebih besar daripada mencit sehingga pada penelitian yang memerlukan pengukuran darah tidak mengkhawatirkan hal-hal yang mengganggu selama proses penelitian seperti tidak cukup darah untuk pemeriksaan (Fawcett A, 2012; Depkes RI, 2001).

2.5 Kerangka Teori



Gambar 12. Kerangka Teori
(Kumaret al., 2013; Price *et al.*, 2012; Vijayavelet *et al.*, 2006).

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 13. Kerangka Konsep.

2.7 Hipotesis

Terdapat pengaruh ekstrak etanol 95% kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) terhadap histopatologi paru tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang terpapar asap rokok.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan menggunakan desain penelitian adalah *post test only control group design*. Pengambilan data hanya dilakukan pada saat akhir penelitian setelah sampel diberi perlakuan dengan membandingkan hasil pada kelompok kontrol, dengan kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan September 2017 sampai bulan Oktober 2017.

3.2.2 Tempat Penelitian

Pemeliharaan hewan coba dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Unila. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan ekstraksi dilakukan di Fakultas MIPA Universitas Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* berumur 8-10 minggu dan memiliki berat badan 200-250 gram. Hewan diperoleh dari Institut IPB Bogor. Penelitian ini menggunakan tikus karna tikus memiliki metabolisme yang sama dengan manusia secara fisiologis, kelengkapan organ-organ, kebutuhan nutrisi, dan metabolisme biokimia. Memiliki pertumbuhan yang cepat serta memiliki tingkat ketenangan yang baik sehingga memberikan kemudahan dan tahan dalam perlakuan selama penelitian (Fakultas Kedokteran Hewan UGM, 2006).

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 30 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Sampel terbagi ke dalam tiga kelompok ditentukan dengan menggunakan perhitungan rumus Federer. Rumus penentuan besar sampel untuk uji eksperimental rancangan acak lengkap (RAL) adalah:

$$(t-1)(n-1) \leq 15$$

Nilai t merupakan jumlah kelompok percobaan dan nilai n merupakan jumlah sampel tiap kelompok. Pada penelitian ini akan menggunakan tiga kelompok perlakuan dengan perhitungan sampel yaitu:

$$(t-1)(n-1) = 15$$

$$(3-1)(n-1) = 15$$

$$2(n-1) = 15$$

$$2n = 17$$

$$n = 8,5$$

$$\mathbf{n \geq 9}$$

Kemudian, koreksi pada subjek penelitian dilakukan sebagai antisipasi terjadinya *drop out* eksperimen dengan menggunakan rumus yaitu:

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

Keterangan :

N = besar sampel koreksi

n = besar sampel awal

f = perkiraan proporsi drop out sebesar 10%

Berdasarkan rumus diatas, maka akan diperoleh perhitungan besar sampel sebanyak :

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

$$N = \frac{9}{1 - 10\%}$$

$$N = \frac{9}{1 - 0,1}$$

$$N = \frac{9}{0,9}$$

$$\mathbf{N = 10}$$

Jadi, sampel yang digunakan dalam penelitian ini pada tiap kelompok berjumlah 9 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* (n

6) dengan 10% drop out sehingga menjadi 10 ekor tikus putih pada tiap kelompoknya dan jumlah keseluruhan hewan coba yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* terbagi menjadi tiga kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan tersebut, yaitu:

Tabel 2. Kelompok Perlakuan.

No	Kelompok	Perlakuan
1	Kelompok kontrol (K)	10 ekor tikus kontrol normal yang hanya diberikan pakan standar dan minum.
2	Kelompok perlakuan 1 (KP1)	10 ekor tikus yang diberikan paparan asap rokok dan pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak dengan dosis 56,55 mg/KgBB.
3	Kelompok perlakuan 2 (KP2)	10 ekor tikus kontrol positif yang diberikan paparan asap rokok.

3.4 Kriteria Penelitian

1. Kriteria Inklusi

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.
- b. Sehat (tidak tampak sakit, rambut tidak rontok dan tidak tampak kusam, gerak dan aktifitas aktif).
- c. Memiliki berat badan 200–250 gram.
- d. Berumur sekitar 8-10 minggu.
- e. Tidak memiliki kelainan anatomis bawaan atau didapat.

2. Kriteria Eksklusi

- a. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi.

- b. Sakit (penampakan rambut kusam, rambut rontok atau botak, aktivitas dan gerakan kurang atau tidak aktif, serta keluarnya eksudat yang tidak normal dari mata, mulut, anus serta genital).
- c. Tikus mati selama masa penelitian dan pemberian perlakuan.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini adalah

1. Neraca
2. Kotak plastik pengumpul asap rokok
3. Sonde tikus
4. Spuit oral 1 cc dan spuit 10 cc
5. Alat bedah minor
6. *Object glass dan cover glass*
7. *Tissue cassette*
8. Gelas ukur dan pengaduk
9. Alat tulis
10. *Mikrotom*
11. *Waterbath*
12. *Platening table*
13. *Autotechnicome processor*
14. *Staining jar*
15. Kertas saring
16. Mesin penggiling

17. *Rotatory evaporator*
18. *Histoplast*
19. *Paraffin*
20. *Slicer preparat*
21. Mikroskop cahaya
22. Kamera digital
23. Kandang tikus
24. Tempat makan dan minum tikus
25. Penangas air
26. Gelas ukur dan pengaduk
27. Kapas alkohol, handscoon dan masker

3.5.2 Bahan

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah

1. Ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dengan dosis 56,55 mg/KgBB.
2. Rokok dan korek api
3. Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*
4. Pakan standar dan minum tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur (*Sprague dawley*)
5. Sekam kandang tikus
6. Aquades
7. Reagen.
8. Etanol 95% untuk ekstraksi
9. kulit batang bakau minyak

10. Larutan formalin 10 % untuk fiksasi
11. Alkohol dan kapas
12. Ether
13. Xylol
14. Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE)

3.6 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

3.6.1 Identifikasi Variabel

3.6.1.1 Variabel Independent

Variabel independent atau variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dan paparan asap rokok pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

3.6.1.2 Variabel Dependent

Variabel dependent atau variabel terikat pada penelitian adalah Gambaran histopatologi paru pada yang diberikan ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dan paparan asap rokok pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

3.6.2 Definisi Operasional

Berikut merupakan tabel definisi operasional penelitian bertujuan untuk memberikan penjelasan secara mudah dan tepat dengan

memperlihatkan variabel-variabel yang termasuk didalam penelitian ini. Sehingga diberikan konsep definisi operasional sesuai dengan penelitian yang dilakukan yaitu sebagai berikut:

Tabel 3. Definisi Operasional.

No	Variabel	Definisi	Jenis Variabel
1	Ekstrak kulit batang bakau (<i>Rhizophora apiculata</i>).	Pada penelitian ini menggunakan Pemberian ekstrak kulit batang bakau (<i>Rhizophora apiculata</i>). Diberikan dengan dosis 56,55mg/kgBB.	Numerik
2	Histopatologi paru	Gambaran histopatologi paru tikus dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya, dan dilakukan dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang berdasarkan diamati terdapat atau tidak berupa perdarahan dan infiltrasi sel radang.	Kategorik

3.7 Prosedur Penelitian dan Alur Penelitian

3.7.1 Alur Penelitian

Penelitian ini merupakan uji eksperimental murni dalam bidang ilmu Biokimia, dan Histopatologi klinik. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap gambaran histopatologi paru tikus putih jantan galur sprague dawley yang terpapar asap rokok. Tikus dipelihara dan dilakukan adaptasi di animal house Fakultas Kedokteran Universitas lampung selama 1 minggu. Setiap kelompok percobaan dipelihara pada waktu dan tempat yang sama dengan kondisi yang sesuai. Tikus dipilih secara acak dan dibagi menjadi 3 kelompok yang

terdiri dari 10 ekor tikus tiap kelompoknya. Sehingga, pada penelitian ini menggunakan tikus sejumlah 30 ekor. Tiga kelompok tersebut terdiri dari kelompok kontrol normal yang diberikan pakan standar dan minum (K1), kelompok perlakuan yang kedua dengan pemberian pakan standar, minum, paparan asap rokok selama 1 jam sebanyak 2 batang rokok perhari selama 30 hari dan pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak dengan dosis 56,55 mg (KP1) dan kelompok perlakuan 2 dengan pemberian pakan standar, minum dan paparan asap rokok selama 1 jam sebanyak 2 batang rokok perhari selama 30 hari (KP2) (Rachmad *et al.*, 2015; Vijayavel *et al.*, 2006).

Ekstrak kulit batang bakau di buat dengan pelarut etanol 95% yang dilakukan di Fakultas MIPA Universitas Lampung. Kulit batang bakau minyak diperoleh dari kota Lampung Timur. Pemberian paparan asap rokok terhadap tikus putih jantan galur *Sprague dawley* menggunakan rokok filter batangan dilakukan 1 jam sebanyak 2 batang perhari selama 30 hari dengan dilakukan pemberian paparan asap rokok 1 jam setelah pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak. Asap rokok dikumpulkan didalam *smoking chamber* yang terdapat tikus di dalamnya. Setelah 30 hari perlakuan terhadap hewan coba, 10 ekor tikus pada tiap kelompok masing-masing akan dilakukan anastesi terlebih dahulu dengan menggunakan ether untuk membebaskan dari rasa nyeri, stress dan kecemasan pada hewan coba.

Kemudian setelah tikus dipastikan mati, dilakukan pembedahan toraks untuk mengambil organ paru sebagai sediaan mikroskopis. Pembuatan sediaan preparat mikroskopis dilakukan dengan metode paraffin dan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE). Pembuatan sediaan preparat histopatologi paru dengan metode *fixation, trimming, dehidrasi, clearing, impregnasi, embedding, cutting, staining, mounting, dan slide* yang dilakukan pembacaan dengan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Pada pembuatan preparat ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.7.2 Prosedur Penelitian

3.7.2.1 Adaptasi Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *sparague Dawley* berumur 8-10 minggu dan memiliki berat badan 200-250 gram. Tikus putih jantan akan dibagi secara acak menjadi 3 kelompok yang masing masing tiap kelompoknya ditempatkan dalam 1 kandang , Setiap kelompok percobaan berisi 10 ekor tikus. Suhu dan kelembapan dalam ruangan dibiarkan secara kisaran alamiah. Makanan hewan percobaan diberikan berupa pakan standar dan minuman diberikan secukupnya dalam wadah terpisah dan diganti setiap hari. Setiap tikus diberi perlakuan setiap hari selama 30 hari. Sebelum diberi perlakuan, tikus diadaptasikan

selama selama satu minggu dipelihara di *Animal House* Fakultas Kedokteran Unila.

3.7.2.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Batang Bakau Minyak

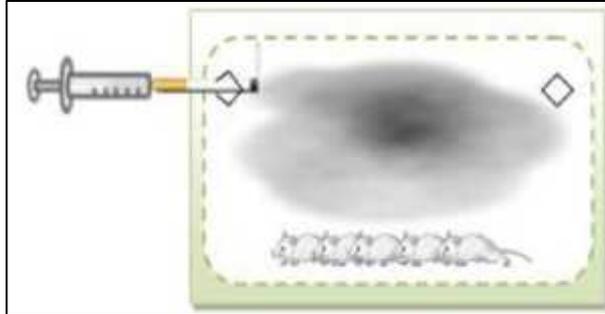
Penelitian ini menggunakan kulit batang bakau minyak yang akan di ekstrak dengan pelarut etanol 95%. Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan satu atau lebih substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Kulit batang bakau dicuci dan dikeringkan dengan penganginan alami. Kemudian, 600 gram kulit batang bakau yang telah dipotong-potong akan dibuat dalam bentuk serbuk simplisia menggunakan mesin penggiling dan setelah itu diayak dengan ayakan mesh 40 tanpa menyebabkan kerusakan Serbuk simplisia kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) kemudian dicampur dengan pelarut etanol 95% sebanyak 1,5 L dan direndam selama 18 jam lalu disaring dengan kapas dan kain kasa, lalu disaring ulang dengan kertas saring. Ampas yang dihasilkan dan didapat akan dimaserasi sampai hasil filtrasi maserasi tersari dengan sempurna. Filtrat yang diperoleh akan dipekatkan dengan evaporator pada suhu 50°C. Ekstrak kulit batang bakau minyak diambil 1 ml dan dibiarkan selama 24 jam dalam suhu ruangan normal hingga mengering. Hasil ekstrak kulit batang bakau yang sudah kering kemudian ditimbang dengan didapatkan berat jenis dan volume nya. Kemudian dilakukan pengenceran dan

didapatkan dosis yang akan digunakan pada penelitian. Sehingga, dosis ekstrak kulit batang bakau minyak yang digunakan pada penelitian ini adalah 56,55 mg/kgBB (Mustofa *et al.*, 2013; Istiqomah 2013; Vijayavel *et al.*, 2006).

3.7.2.3 Pemaparan Asap Rokok

Pemaparan asap rokok terhadap hewan coba dilakukan setiap hari selama 30 hari. Hewan coba akan diberikan paparan asap rokok filter sebanyak 2 batang rokok dan dilakukan selama 1 jam. Kelompok percobaan yang diberikan paparan asap rokok hanya pada dua kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan I (KP1) yang diberikan paparan asap rokok dan 1 jam sebelumnya telah dilakukan pemberian ekstrak kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) dan kelompok perlakuan II (KP2) yang hanya diberikan paparan asap rokok. Pemaparan asap rokok dilakukan dengan *smoking chamber*, mengumpulkan sampel hewan coba dalam kotak plastik yang didalamnya terdapat dua lubang. Lubang pertama berfungsi sebagai tempat memasukan ujung rokok yang dibakar sehingga akan terisi asap rokok dalam kotak plastik dan lubang kedua untuk sirkulasi atau ventilasi pertukaran dan pengeluaran asap rokok yang dpaparkan. Asap rokok dimasukan dengan menggunakan spuit 20cc dan dihubungkan dengan selang karet yang dimasukan ke dalam

lubang pertama untuk pemaparan asap rokok (Rahmaniya, 2009; Rachmad *et al.*, 2015).



Gambar 14. Pemaparan Asap Rokok (Rachmad *et al.*, 2015).

3.7.2.4 Terminasi Hewan Coba

Setelah 30 hari perlakuan hewan coba, maka tiap ekor tikus pada masing-masing kelompok akan dilakukan terminasi hewan coba dengan diberikan ether. Kemudian setelah tikus dipastikan mati, dilakukan pembedahan toraks pada tikus untuk mengambil organ paru sebagai sediaan mikroskopis (Rachmad *et al.*, 2015).

3.7.2.5 Prosedur Pembuatan Preparat dan Pewarnaan Hematoxylin-Eosin

Metode pembuatan preparat histopatologi pada organ paru dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

a. *Fixation*

Spesimen berupa paru tikus yang akan dibuat sebagai preparat histopatologi terlebih dahulu difiksasi menggunakan

formalin 10% selama 3 jam hingga mengeras. Kemudian paru tersebut dicuci dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali.

b. *Trimming*

Sampel organ paru yang telah difiksasi kemudian di *trimming* hingga ukuran $\pm 3 - 5$ mm. Potongan organ paru tersebut lalu dimasukkan ke dalam *tissue cassette*.

c. Dehidrasi

Proses dehidrasi dilakukan dengan mengeringkan air dari jaringan sehingga dapat mencegah terjadinya pengerutan pada sampel yaitu dengan meletakkan *tissue cassette* pada kertas tisu. Lalu, dehidrasi dilakukan dengan larutan alkohol 70% selama 0,5 jam, alkohol 96% selama 0,5 jam, alkohol absolut selama 1 jam. Dan alkohol xylol 1:1 selama 0,5 jam.

d. *Clearing*

Clearing dilakukan untuk membersihkan sisa alkohol dengan *xylol* I dan II, masing-masing selama 1 jam.

e. *Impregnasi*

Impregnasi dilakukan dengan menggunakan paraffin selama 1 jam dalam oven suhu 65°C sehingga jaringan lebih mudah dipotong dengan pisau mikrotom. Paraffin yang digunakan adalah paraffin histoplast.

f. *Embedding*

Sisa parafin yang ada pada pan dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas. Parafin cair disiapkan dengan memasukkan parafin ke dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu di atas 58°C. Parafin cair dituangkan ke dalam *pan*. Dipindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya. Kemudian *pan* dimasukkan ke dalam air. Parafin yang berisi potongan paru dilepaskan dari *pan* dengan dimasukkan ke dalam suhu 4–6°C beberapa saat. Parafin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel atau pisau hangat. Kemudian diletakkan pada balok kayu, diratakan bagian pinggirnya, dan dibuat ujungnya sedikit meruncing. Lalu, memblok parafin dan siap dipotong dengan mikrotom.

g. *Cutting*

Proses pemotongan dilakukan pada ruangan dingin dengan pemotongan kasar dan dilanjutkan dengan pemotongan halus jaringan menggunakan mikrotom pada ketebala 4-5 μm . Sebelum memotong, blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es. Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*. Dipilih lembaran potongan yang paling baik, diapungkan pada air, dan

dihilangkan kerutannya dengan cara menekan salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi yang lain ditarik menggunakan kuas runcing. Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam *water bath* suhu 60°C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna. Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan *slide* bersih kemudian ditempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah. *Slide* yang telah berisi jaringan selanjutnya ditempatkan pada inkubator dengan suhu 37° C selama 24 jam sampai jaringan melekat dengan sempurna.

h. *Staining* atau pewarnaan Hematoksilin–Eosin. Setelah jaringan melekat sempurna pada *slide*, dipilih *slide* yang terbaik, dan selanjutnya secara berurutan memasukkan ke dalam zat kimia dibawah ini dengan waktu sebagai berikut :

1) Dilakukan deparafinisasi dalam:

a. Larutan *xylol* I selama 5 menit

b. Larutan *xylol* II selama 5 menit.

c. *Ethanol* absolut selama 1 jam.

2) Hidrasi dalam:

a. Alkohol 96% selama 2 menit

b. Alkohol 70% selama 2 menit,

c. Air selama 10 menit.

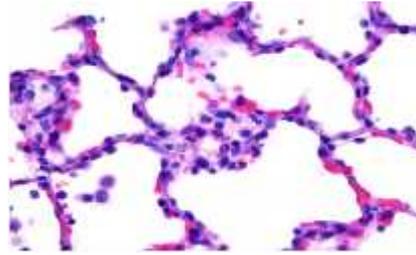
3) Pulasan inti dibuat dengan menggunakan:

a. Harris Hematoksilin selama 15 menit

- b. Dibilas menggunakan air mengalir
 - c. Diwarnai dengan eosin selama maksimal 1 menit.
- 4) Selanjutnya, didehidrasi dengan menggunakan:
- a. Alkohol 70% selama 2 menit
 - b. Alkohol 96% selama 2 menit,
 - c. Alkohol absolut selama 2 menit.
- 5) Penjernihan dengan:
- a. *Xylol* I selama 2 menit.
 - b. *Xylol* II selama 2 menit.
- i. *Mounting*, setelah pewarnaan selesai kemudian *slide* ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat datar, ditetesi dengan bahan *mounting* yaitu perekat permount dan ditutup dengan *cover glass*. *Slide* dibaca dengan mikroskop.
- j. *Slide* diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x menggunakan mikroskop cahaya.

3.7.2.6 Penilaian Histopatologi Paru Gambaran

Gambaran histopatologi paru tikus dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya, dan dilakukan dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang berdasarkan diamati terdapat atau tidak berupa infiltrasi sel radang dan perdarahan (Chan *et al.*, 2017; Kubiak *et al.*, 2010).



Gambar 15. Histologi Paru Dengan Infiltrasi Sel Radang.
(Chan *et al.*, 2017; Kubiak *et al.*, 2010).

Tipe kerusakan : Infiltrasi sel radang

Tidak terdapat sel radang atau terdapat < 10 sel = 0

Terdapat < 25 sel radang = 1

Terdapat > 25 sel radang = 2

Terdapat > 50 sel radang = 3



Gambar 16. Histologi Paru Dengan Perdarahan Pada Alveolus
(Kubiak *et al.*, 2010).

Tipe kerusakan : Perdarahan pada rongga alveolus

Tidak ada perdarahan = 0

Terdapat perdarahan pada 1 kuadran = 1

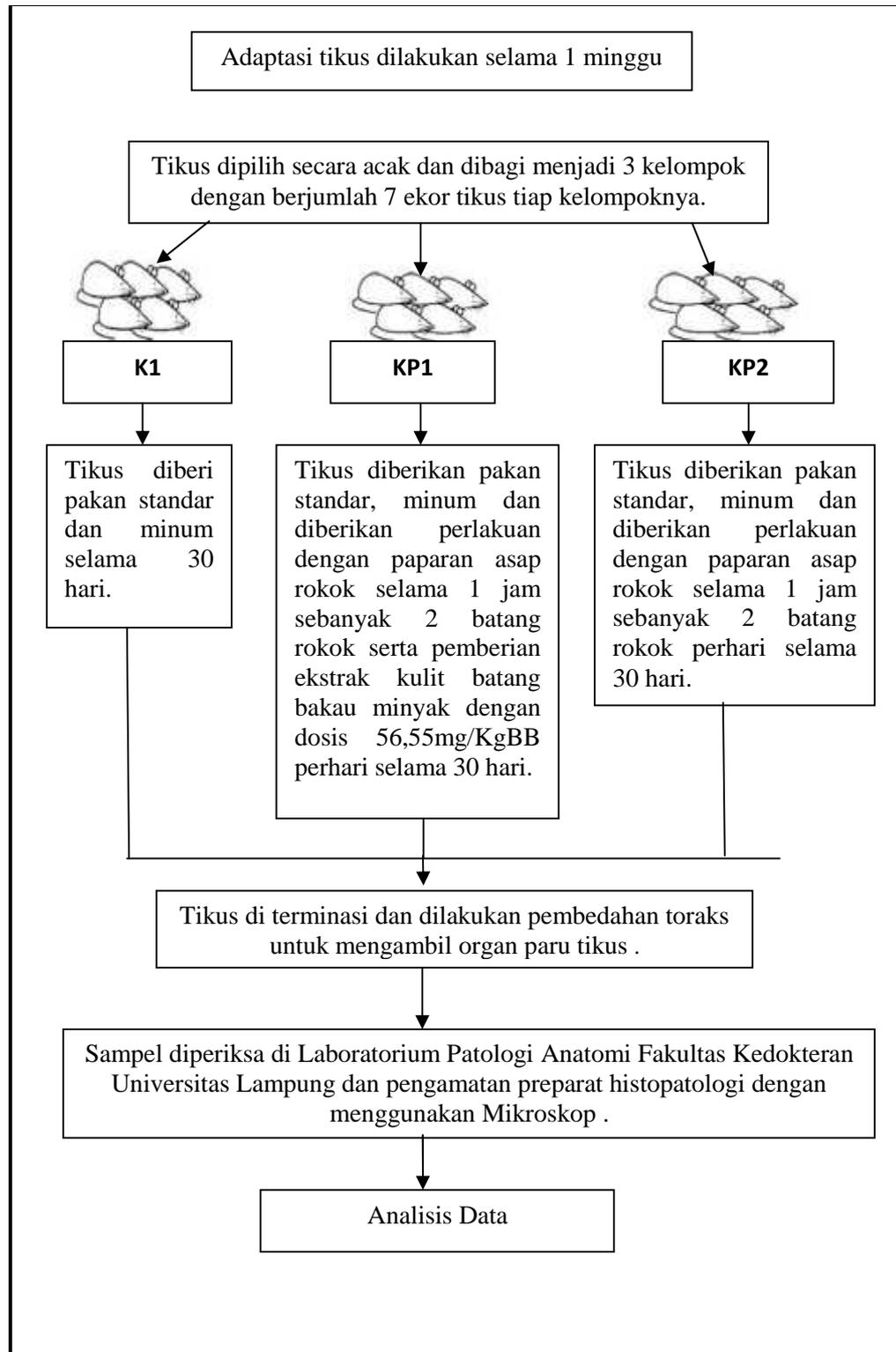
Terdapat perdarahan pada 2-3 kuadran = 2

Terdapat perdarahan pada semua kuadran = 3

Tabel 4. Skor Penilaian Derajat Kerusakan Histologi Paru
(Chan *et al.* 2017; Kubiak *et al.*, 2010).

No	Skor Derajat Kerusakan	Tingkat Kerusakan
1	Skor 0	Tidak terjadi kerusakan (Tidak terdapatnya infiltrasi sel radang atau <10 infiltrasi sel radang dan perdarahan).
2	Skor 1	Kerusakan ringan (Terdapat <25 infiltrasi sel radang dan perdarahan pada 1 kuadran).
3	Skor 2	Kerusakan Sedang (Terdapat >25 infiltrasi sel radang dan perdarahan pada 2-3 kuadran).
4	Skor 3	Kerusakan berat (Terdapat >50 infiltrasi sel radang dan perdarahan pada semua kuadran).

3.8 Diagram Alur Penelitian



Gambar 17. Diagram Alur Penelitian.

3.9 Analisis Data Statistik

Analisis data hasil penelitian ini dilakukan dengan jenis analisis bivariat. Analisis hasil penelitian diawali dengan melakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel 50 dan dilakukan untuk melihat sampel terdistribusi normal. Setelah itu, jika data terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji parametrik yaitu uji *One-Way ANOVA*. Jika data tidak terdistribusi dengan normal maka dilakukan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis*. Hipotesis dianggap bermakna apabila didapatkan hasil $p < 0,05$. Jika pada uji *One Way ANOVA* menghasilkan $p < 0,05$ maka dilanjutkan dengan analisis data *Post Hoc Test* untuk mengetahui dan menilai perbedaan yang terdapat antara setiap kelompok perlakuan pada penelitian (Dahlan, 2014).

3.10 Etika Penelitian

Ethical clearance penelitian ini akan didapatkan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor surat persetujuan etik yaitu 434/UN26.8/DL/2017 (**lampiran 5**). Pada penelitian ini menerapkan prinsip 3R dalam protokol penelitian dan prinsip 5F (*Freedom*) yaitu:

1. *Replacement*

Replacement adalah mempergunakan dan memanfaatkan hewan percobaan sudah dipertimbangkan dengan tepat dari pengalaman terdahulu maupun

literatur untuk mendapatkan data dan hasil penelitian dan tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan.

2. *Reduction*

Reduction diartikan sebagai pemanfaatan hewan dalam penelitian dapat dilakukan dengan penggunaan hewan cobadalam jumlah sesedikit mungkin, dengan tetap mendapatkan hasil optimal seperti yang diharapkan pada penelitian. Jumlah sampel hewan coba pada penelitian ini menggunakan rumus Frederer yaitu $t(n-1) = 15$, dengan nilai t adalah jumlah kelompok perlakuan dan nilai n adalah jumlah hewan yang diperlukan.

3. *Refinement*

Refinement adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi yaitu dengan cara memelihara hewan dengan baik dan tidak menyakiti hewan percobaan, serta meminimalisasikan perlakuan yang akan menyakitkan hewan coba sampai akhir penelitian.

Lima dasar prinsip *refinement* yaitu:

- a. *Freedom from hunger and thirst* (bebas dari rasa lapar dan rasa haus).
- b. *Freedom from discomfort* (bebas dari rasa tidak nyaman).
- c. *Freedom from pain, injury and diseases* (bebas dari rasa sakit, terluka dan penyakit-penyakit).
- d. *Freedom from fear and distress* (bebas dari rasa takut dan stres).
- e. *Freedom to express natural behavior* (bebas untuk mengekspresikan tingkah-laku alamiah) (Sajuthi, 2012; Ridwan, 2013).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) mampu mencegah kerusakan histopatologi paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang disebabkan paparan asap rokok.

5.2 Saran

1. Peneliti lain disarankan untuk meneliti lebih lanjut pengaruh pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dengan parameter inflamasi (TNF-) dan stres oksidatif lainnya (SOD dan MDA).
2. Peneliti lain disarankan dapat meneliti untuk menguji lebih lanjut dosis toksisitas dari ekstrak kulit batang minyak (*Rhizophora apiculata*).

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, 2011. Potensi bakau rhizophora apiculata sebagai inhibitor tirosinade dan Antioksidan. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Cendekia D. 2015. Isolasi dan identifikasi senyawa antiinflamasi dari kayu batang tumbuhan Rhizophora apiculata. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Lampung.
- Batubara I, Wantouw B, Tendean L. 2013. Pengaruh paparan asap rokok kretek terhadap kualitas spermatozoa mencit jantan (*mus musculus*). Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado. Manado; Jurnal e-biomedik. vol 1. hlm 330-337.
- Daijo H, Hoshino Y, Kai S, Suzuki K, Nishi K, Matsuo Y, *et al.*, 2016. Cigarette smoke reversibly activates hypoxia-inducible factor 1 In: A reactive oxygen species- dependent manner. Nature Publishing Group, (January), hlm 1–12. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/srep34424>.
- Dahlan S. 2014. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan seri 1 edisi 6. Jakarta: Epidemiologi Indonesia.
- Darlian L, Imran G, Fachruddin. 2011. Skrining bioaktivitas ekstrak kulit akar bakau merah (Rhizophora apiculata) terhadap daya hambat pertumbuhan koloni bakteri Streptococcus sp. Universitas Haluoleo.
- Dorothy T. 2010. Pengaruh pemberian jus mangga (*Mangifera indica* L.) terhadap kerusakan struktur histologi paru mencit yang dipapar asap rokok. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Duke N, Kathiresan K, Salmo, Fernando E, Peras J, Sukardjo S, *et al.*, 2010. Rhizophora apiculata. , 5(2), hlm 1–6.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2001. Pedoman pengendalian tikus di rumah sakit [Report]. Jakarta.
- Droge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 82:47-95.

- Eroschenko V. 2013. Atlas histologi difiore: Dengan Korelasi Fungsional Edisi 11., Jakarta: EGC.
- Fakultas Kedokteran Hewan UGM. 2006. Tikus laboratorium. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Fallis A. & Kementerian Kesehatan, R.I., 2012. Profil Kesehatan Indonesia.
- Fawcett A. 2012. Guideline 22 Guidelines for the housing of mice in scientific institutions table of contents. Australia: West Pennant Hills Public School.
- Hadi M., Irawati, M, & Suhadi. 2016. Karakteristik morfo-anatomi struktur vegetatis spesies *Rhizopora apiculata* (Rhizoporaciae). Jurnal Pendidikan, 1, 1688–1692.
- Hagerman A, Riedl K, Jones A, Sovik K, Ritchard N, Hartzfeld P, dan Riechel P. 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46(1): 1887-1892.
- Harwoko, Utami Esti D. 2010. Aktivitas sitotoksik fraksi n-heksana: kloroform dari ekstrak metanol kulit batang mangrove (*R. mucronata*) pada sel kanker myeloma. Jurusan Farmasi Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Huda N, Halim A, Auni N, Abidin Z. & Me R.. 2013. A study of chemical compounds in *rhizophora apiculata*. , hlm 108–110.
- Istiqomah, 2013. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar piperin buah cabe jawa (*piperis retrofracti fructus*). UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Junqueira L, Carneiro R, Kelley. 2007. Histologi dasar. Edisi ke-5. EGC. Jakarta.
- Katja Hueper et al., 2015. Pulmonary microvascular blood flow in mild chronic obstructive pulmonary disease and emphysema. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*.
- Kementerian Kesehatan RI. 2013. Info DATIN : Hari tanpa tembakau sedunia. , p.12. Jakarta.
- Kemenkes. 2013. Badan penelitian dan pengembangan kesehatan. Riset kesehatan dasar (RISKESDAS). Laporan Nasional 2013, hlm 1–384. Jakarta.
- Kirana R. 2009. Pengaruh pemberian teh hijau (*Cammelia sinesis*) terhadap kerusakan struktur histologis alveolus paru mencit yang dipapar asap rokok. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Surakarta.

- Kubiak B, Albert S, Gatto L, Snyder K, Majer K, Christopher J, *et al.*, 2013. Histological parameters. Departmen of Surgery upstate University Hospital.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2013. Buku ajar patologi robbins. Edisi ke-7. Jakarta: EGC.
- Muchtadi D. 2013. Antioksidan dan kiat sehat usia produktif. Alfabeta.
- Mustofa S, Kurniawan B, Setyaningrum E, Repindo A. 2014. The effectiness of garlic (*Allium sativum*) extract as ovicide of aedes aegypti's eggs. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Lampung; Agromedicine journal. vol 1 no. 1. hlm 17-21.
- Mustofa S, Anindito A, Putri A, Maulana M. 2014. The influence of Piper retrofractum Vahl (Java's chili) extract towards lipid profile andhistology of rats coronary artery with high-fat diet. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung; Juke Unila. Vol 4. hlm 52-59.
- Nururrahmah. 2014. Pengaruh rokok terhadap kesehatan dan pembentukan karakter manusia. Universitas Cokroaminoto Palopo.
- Khasanah N, Rastuti U, Handayani Santi N. 2012. Uji fitokimia kulit buah rhizopora muncronata. Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto. Indonesia.
- Oktarlina R, Triajayanti A. 2017. Peran antioksidan pada buah delima dan buah merah (*pandanus conoideus*) terhadap splenomegali pada penderita malaria. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Lampung; Medula. vol 7 no.4. hlm 94-100.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 6. 2016. *Formularium obat herbal asli Indonesia*. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
- Poljsak B, Fink R. 2014. The protective of antioxidants in the defence against ROS/RNS-mediated environmental pollution. Hindawi Publishing. Slovenia.
- Prabaningtyas O. 2010. Hubungan antara derajat merokok dengan kejadian PPOK. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Price, Sylvia Anderson dan Wilson, Lorraine McCarty. 2012. Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit. Edisi 6 Volume 1. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. hlm 1320-1331.
- Purnobasuki, H., 2005. Potensi mangrove sebagai tanaman obat. Jurusan MIPA Universitas Airlangga. Surabaya.
- Rachmad L, Millah UI Nida, Kusumawardani A, Herliyani N, Sarwendah K, Sutrisno B, *et al.* 2015. Pengaruh pemberian ekstrak rimpang kunyit

(*Curcuma domestica*) terhadap gambaran histopatologi paru yang diinduksi asap rokok pada tikus putih wistar. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

- Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, *et al.*, 2014. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. Pubmed Central.
- Rahim A, Rocca E, Steinmetz J, Jain K, Sani I, & Osman H. 2008. Antioxidant activities of mangrove rhizophora apiculata bark extracts. Food Chemistry, 107(1), hlm 200–207.
- Ridwan E. 2013. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. J Indon Med Assoc. 63(2):112-6.
- Rizqi C, Hariadi M, Warsito S. 2016. Pengaruh pemberian beta karoten terhadap persentase jumlah fetus mencit (*mus musculus*) hidup yang diberi paparan asap rokok kretek. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sajuthi D. 2012. Workshop on bioethics: Prinsip-prinsip kesejahteraan hewan (animal welfare) di dalam penelitian biomedis. Bogor : Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Safitri, Wenny. 2010. Bahaya merokok bagi kesehatan. UMM. Malang.
- Santoso Vivi P, Posangi J, Awaloei H, Bara Robert. 2015. Uji efek antibakteri daun mangrove *R. apiculata* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Sari P. 2014. Effect of cigarette smoke on quality spermatozoa. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Lampung; Majority. vol 3 no. 7.
- Sastroasmoro S, Gatot D, Kadri N. 2010. Usulan penelitian. Dalam: Sastroasmoro S, Ismael S, 2010. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis Ed.3 Cet.2. Jakarta: Sagung Seto: 29-56.
- Soeroto AY, Suryadinata H. 2014. Penyakit paru obstruktif kronik. Departemen Ilmu Penyakit Dalam RS. Dr. Hasan Sadikin. Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran. Jawa Barat.
- Sudoyo A, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. 2016. Buku ajar ilmu penyakit dalam edisi 6. Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta: Interna Publishing.
- Sujarnoko T. 2012. Studi meta-analisis efek senyawa metabolit sekunder tanin terhadap kualitas silase. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Sukohar A. 2015. Manfaat asam klorogenat kopi robusta lampung pada penghambatan pertumbuhan sel kanker hepatoseluler tipe Hep-G2 1886 dengan biomarker gen miRNA 146 A. Dalam: Manfaat herbal indonesia. Yogyakarta: Plantaxia. hlm 59-71
- Tobacco Control Support Center, IAKMI. 2010. Fakta tembakau: Masalah rokok di Indonesia Tahun 2010. TCSC, IAKMI.
- Tohomi K. 2014. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun buas-buas (*prema cordifolia linn*) terhadap gambaran histopatologi paru-paru tikus (*rattus novergicus*) wistar jantan pasca paparan asap rokok. Universitas Tanjungpura. Pontianak.
- Valavanidis A., Vlachogianni T., Fiotakis K., Loridas S. 2013. Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: respirable particulate matter, fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms. University of Athens. International Journal of Environmental Research and Public Health. pp. 3886-3907.
- Vijayavel K., Anbuselvam, C. & Balasubramanian M.P. 2006. Free radical scavenging activity of the marine mangrove *Rhizophora apiculata* bark extract with reference to naphthalene induced mitochondrial dysfunction. Chemico-Biological Interactions.
- Wiarta R, Astiani D, Indriyani Y, Mulia F, Semesta PT. Bina Ovivipari. 2017. Pendugaan jumlah karbon tersimpan pada tegakan jenis bakau (*R.apiculata*) di IUPHHK PT. bina ovivipari semesta kabupaten kubu raya. Fakultas Kehutanan Universitas Tanjungpura Pontianak. Kalimantan Barat.
- Winarsi H. 2007. Antioksidan alami dan radikal bebas. Yogyakarta Kanisius.
- WHO. 2012. Global Adult Tobacco Survey: Indonesia Report 2011, Jakarta. Available at: http://www.who.int/tobacco/surveillance/survey/gats/indonesia_report.pdf.
- WHO. 2011. Who report on the Global Tobacco Epidemic. WHO.diakses dari: http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789240687813_eng.pdf [12 Februari 2012].
- Wulandari A. 2014. Aktivitas ekstrak buah bakau merah (*R. Stylosa*) sebagai antidiare secara invitro. Departemen Teknologi Hasil Perairan. Institut Teknologi Bogor. Bogor.
- Yusro Fathul. 2010. Rendemen ekstrak etanol dan uji fitokimia tiga jenis tumbuhan obat kalimantan barat. Fakultas Kehutanan Universitas Tanjungpura. Kalimantan Barat.