

**PENGARUH PEMBERIAN *THYMOQUINONE* PADA PARU TIKUS PUTIH  
(*Rattus novergicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DIPAPAR ASAP ROKOK  
BERDASARKAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI**

(Skripsi)

**Oleh :  
NADIA EVA ZAHARA**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2019**

## ABSTRACT

### **The Effect of *Thymoquinone* on Lung *Sprague Dawley* White Rats (*Rattus norvegicus*) Exposed to Cigarette Smoke Based on Histopathological Overview**

By

**NADIA EVA ZAHARA**

**Background :** In 2014, Indonesia ranked 4th in the highest cigarette consumption in the world. Pulmonary damage due to inflammation caused by exposure to cigarettes can be improved by utilizing drugs from traditional plants. *Nigella sativa* L is believed to have an effect on health is with the active content of *thymoquinone*.

**Objective:** The aim of the study was to determine the effect of *thymoquinone* on rat lungs exposed to cigarette smoke based on histopathology feature .

**Methods :** 24 mice were divided into 4 experimental groups. Group 1 (K1) as a normal control was only given aquades. Group 2 (K2) as a negative control was given two cigarettes per day. Group 3 (K3) as a positive control was given two cigarettes per day and after 2 hours intervals was given 0.5 ml / kgBB olive oil. The treatment group (P) is a treatment group given with two cigarettes and after intervals of 2-4 hours performed *thymoquinone* 5 mg / kgBB orally. Cigarette smoke and *thymoquinone* given for 14 days. The lung damage parameters were seen from neutrophils in the alveolar , interstitial spaces and septal thickening based on Bello's scoring.

**Result:** One Way Annova test results showed  $p = 0,000$  ( $p < 0,005$ ) and Post Hoc LSD test showed significant differences between groups except for K3 and P.

**Conclusion :** There was an effect of giving *thymoquinone* to rat lungs exposed to cigarette smoke based on histopathology

**Keywords:** cigarettes, pulmonary histopathology, *thymoquinone*

## ABSTRAK

### **Pengaruh Pemberian *Thymoquinone* pada Paru Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* yang Dipapar Asap Rokok Berdasarkan Gambaran Histopatologi**

Oleh

**NADIA EVA ZAHARA**

**Latar belakang:** Tahun 2014 Indonesia menempati urutan ke-4 konsumsi rokok paling tinggi di dunia. Kerusakan paru akibat inflamasi yang disebabkan paparan rokok dapat diperbaiki dengan pemanfaatan obat dari tanaman tradisional. Salah satu tanaman yang dipercaya memiliki efek bagi kesehatan adalah *Nigella sativa* dengan kandungan aktifnya *thymoquinone*.

**Tujuan:** Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian *thymoquinone* terhadap paru tikus yang dipapar asap rokok berdasarkan gambaran histopatologi.

**Metode:** Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit yang dibagi kedalam 4 kelompok percobaan. Kelompok 1 (K1) sebagai kontrol normal hanya diberi akuades. Kelompok 2 (K2) sebagai kontrol negatif, diberikan asap rokok dua batang/hari. Kelompok 3 (K3) sebagai kontrol positif diberi asap rokok dua batang/hari dan selang 2 jam diberi minyak zaitun 0,5 ml/kgBB. Kelompok perlakuan (P) adalah kelompok perlakuan coba dengan asap rokok dua batang/hari kemudian selang 2–4 jam dilakukan pemberian *thymoquinone* dosis 5 mg/kgBB per oral. Pemberian asap rokok dan *thymoquinone* diberikan selama 14 hari. Parameter kerusakan paru dilihat dari neutrofil di ruang alveolar dan interstitial dan penebalan septum berdasarkan skoring Bello.

**Hasil:** Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan  $p=0,000$  ( $p<0,005$ ) dan uji *Post Hoc LSD* menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok kecuali pada K3 dan P.

**Simpulan :** Terdapat pengaruh pemberian *thymoquinone* terhadap paru tikus yang dipapar asap rokok berdasarkan gambaran histopatologi

**Kata kunci:** histopatologi paru, rokok, *thymoquinone*

**PENGARUH PEMBERIAN *THYMOQUINONE* PADA PARU TIKUS PUTIH  
(*Rattus novergicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DIPAPAR ASAP ROKOK  
BERDASARKAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI**

**Oleh :  
NADIA EVA ZAHARA**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar  
SARJANA KEDOKTERAN**

**pada**

**Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2019**

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN *THYMOQUINONE*  
PADA PARU TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)  
GALUR *Sprague dawley* YANG DIPAPAR ASAP  
ROKOK BERDASARKAN GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI**

Nama Mahasiswa : Nadia Eva Zahara

No. Pokok Mahasiswa : 1518011114

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran

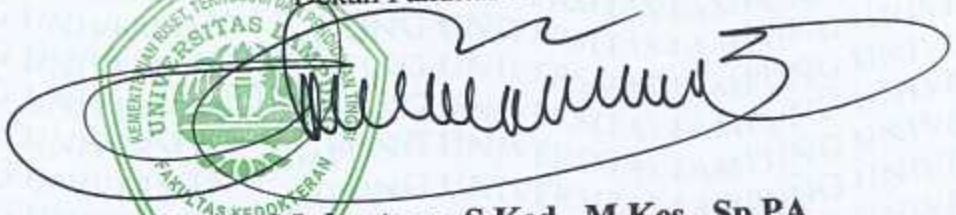
**MENYETUJUI**  
Komisi Pembimbing

  
**Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc**  
NIP 19780805 200501 2 003

  
**dr. Agustyas Tjiptaningrum, S.Ked., Sp.PK**  
NIP 19720829 200212 2 001

**MENGETAHUI**

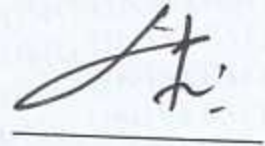
Dekan Fakultas Kedokteran

  
**Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA**  
NIP 19701208 200112 1 001

## MENGESAHKAN

### 1. Tim Penguji

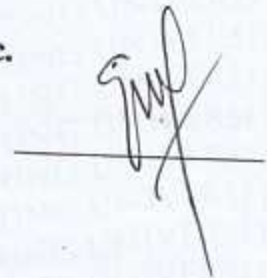
Ketua : **Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc**



Sekretaris : **dr. Agustyas Tjiptaningrum, S.Ked., Sp.PK**



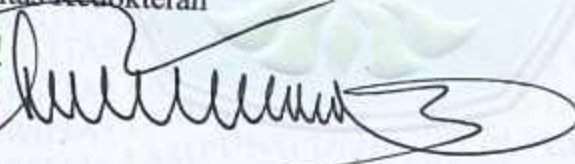
Penguji  
Bukan Pembimbing : **Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.**



### 2. Dekan Fakultas Kedokteran



**Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA**  
NIP 19701208 200112 1 001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **16 Januari 2019**

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN *THYMOQUINONE* TERHADAP PARU TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS*) GALUS SPRAGUE DAWLEY YANG DIPAPAR ASAP ROKOK BERDASARKAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI”** 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 plagiarisme.
2. Hak intelektual dan karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

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

Bandar Lampung, 16 Januari 2019



...t pernyataan,

Nadia Eva Zahara  
NPM 1518011114

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Gisting, Tanggamus pada tanggal 20 April 1997, sebagai anak ketiga dari empat bersaudara, dari Bapak Amiruddin Harun, M.Pd.I dan Ibu Mardiatun, S.Pd.I.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan pada TK Raudhatul Athfal Mathlaul Anwar pada tahun 2002, Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di Madrasah Ibtidaiyah Mathlaul Anwar Gisting pada tahun 2009, Sekolah Menengah Pertama diselesaikan di Madrasah Tsanawiyah Mathlaul Anwar Gisting pada tahun 2012 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di Madrasah Aliyah Unggulan Amanatul Ummah Mojokerto Jawa Timur pada tahun 2015. Pada tahun 2015, penulis terdaftar sebagai mahasiswi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah aktif pada organisasi PMPATD Pakis *Rescue Team* sebagai sekretaris divisi Pengabdian Masyarakat pada tahun 2017 dan pada tahun 2018, staff Media dan Syiar FSI Ibnu Sina pada tahun 2016, dan anggota divisi Ilmiah LUNAR pada tahun 2018



*“And with Him are the keys of the unseen; none knows them except Him. And He knows what is on the land and in the sea. Not a leaf falls but that He knows it. And no grain is there within the darkneses of the earth and no moist or dry [thing] but that it is [written] in a clear record ”*

*( Al-Anam : 59 )*

## SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, karena atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan. Shalawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad *Shallahu 'alaihi Wasallam*.

Skripsi ini berjudul “PENGARUH PEMBERIAN *THYMOQUINONE* TERHADAP PARU TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS*) GALUS SPRAGUE DAWLEY YANG DIPAPAR ASAP ROKOK BERDASARKAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran di Universitas Lampung. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes, Sp.PA., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc., selaku Pembimbing Satu yang telah bersedia meluangkan waktu ditengah kesibukan, memberikan bimbingan, kritik, saran, dan nasihat yang bermanfaat dalam penelitian skripsi ini;
4. dr. Agustyas Tjiptaningrum, S.Ked,Sp.PK., selaku Pembimbing Kedua yang telah bersedia meluangkan waktu ditengah kesibukan, memberikan

masukan, kritik, saran, dan nasihat bermanfaat dalam penyelesaian skripsi ini;

5. Dr. dr. Evi Kurniawaty., S.Ked., M.Sc selaku Pembahas skripsi yang bersedia meluangkan waktu dan kesediannya untuk memberikan kritik, saran,dan nasihat yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;
6. dr. Fitria Saftarina, S.Ked, M.Sc. dan Wakil Dekan II selaku Pembimbing Akademik saya atas waktu dan bimbingannya selama ini;
7. Seluruh Staf Dosen FK Unila atas ilmu yang telah diberikan kepada penulis untuk menambah wawasan yang menjadi landasan untuk mencapai cita-cita;
8. Seluruh Staf Tata Usaha, Administrasi, Akademik, pegawai dan karyawan FK Unila;
9. Bapak tercinta Amiruddin Harun, terima kasih banyak atas doa, kasih sayang, nasihat, dukungan, serta bimbingan yang selalu diberikan untuk saya. Semoga Allah SWT selalu melindungi dan menyayangi Bapak;
10. Ibu tercinta Mardiatun, terima kasih banyak atas doa, kasih sayang, nasihat, dukungan, serta bimbingan yang selalu diberikan untuk.saya. Semoga Allah SWT selalu melindungi dan menyayangi Ibu.
11. Saudara kandung saya, Dian Hafidh Dzulfikar, Riza Nur Ubaidillah dan Dahlia Evi Shofia selalu memberikan doa, dukungan, semangat, dan kasih sayangnya;
12. Tim Penelitian saya, Aliezsha Esthi dan Sarah Tria atas kerjasama, kesabaran dan bantuannya dalam melakukan penelitian ini;

13. Teman-teman terdekat saya Oti, Rika, Wulan, Fuaziah, Anis, Eni yang telah bersedia memberikan dukungan, menjadi teman belajar, dan membantu selama penelitian;
14. Teman-teman yang telah membantu pengolahan data saya, Vani dan Melati yang telah meluangkan waktu untuk membantu saya di tengah kesibukannya;
15. Mas Bayu yang telah membantu dalam proses pembuatan hingga pembacaan preparat;
16. Teman-teman sejawat angkatan 2015 yang tidak bisa disebutkan satu persatu;

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan.

Akan tetapi, semoga skripsi yang sederhana ini dapat bermanfaat dan berguna bagi kita semua.

Bandar Lampung, 16 Januari 2019

Penulis

**Nadia Eva Zahara**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	i
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	iv
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Bagi Ilmu Pengetahuan .....	4
1.4.2. Bagi Institusi .....	4
1.4.3. Bagi Peneliti Lain .....	4
1.4.4. Bagi Peneliti .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Paru.....	6
2.1.1. Anatomi .....	6
2.1.2. Histologi .....	11
2.1.3. Histopatologi Paru .....	12
2.2. <i>Thymoquinone</i> .....	17
2.3. Tikus Putih Jantan ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Galur <i>Sprague dawley</i> .....	20
2.3.1. Klasifikasi Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	20
2.4. Kerangka Penelitian.....	21
2.4.1. Kerangka Teori.....	21
2.4.2. Kerangka Konsep .....	24
2.5. Hipotesis .....	24
<b>BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1. Jenis dan Desain Penelitian .....	25
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian .....	25
3.3. Populasi dan Sampel.....	26
3.3.1. Populasi Penelitian .....	26
3.3.2. Sampel Penelitian .....	26
3.3.3. Kelompok Perlakuan .....	27
3.4. Kriteria Penelitian.....	28

3.4. 1. Kriteria Inklusi .....	28
3.4.2. Kriteria Eksklusi.....	29
3.5. Alat dan Bahan .....	29
3.5.1. Alat-alat yang digunakan.....	29
3.5.2. Bahan-bahan yang digunakan .....	29
3.6. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional .....	30
3.6 .1. Identifikasi Variabel.....	30
3.6. 2. Definisi Operasional.....	30
3.7. Prosedur Penelitian dan Alur Penelitian.....	32
3.7.1. Prosedur Penelitian.....	32
3.7.1.2. Prosedur Pemberian <i>Thymoquinone</i> .....	32
3.7.1.3 Prosedur Pemberian Asap Rokok.....	32
3.7.2. Alur Penelitian.....	33
3.9. Analisis Data .....	41
3.10. Etika Penelitian.....	42

#### **BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Hasil Penelitian.....	44
4.1.1 Gambaran Histopatologi Paru Tikus .....	44
4.1. 2. Analisis Histopatologi Paru Tikus.....	47
4.2. Pembahasan .....	50

#### **BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1. Kesimpulan .....	57
5.2. Saran.....	57

#### **DAFTAR PUSTAKA**

#### **LAMPIRAN**

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 1. Kelompok Perlakuan.....	28
Tabel 2. Definisi Operasional .....	31
Tabel 3. Sistem Penilaian Kerusakan Paru .....	41
Tabel 4. Data hasil pengamatan gambaran histopatologis paru tikus .....	48
Tabel 5. Hasil Analisis <i>Post Hoc</i> LSD .....	50

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 1. Lobus kiri dan kanan paru tampak medial .....	8
Gambar 2. Pembuluh darah paru.....	9
Gambar 3. Dinding alveolus dan sel alveolus.....	11
Gambar 4. Alveoli paru tikus yang terpapar asap rokok.....	14
Gambar 5. a) Biji <i>Nigella sativa</i> (black seeds). (b) Struktur <i>thymoquinone</i> ;.....	18
Gambar 6. Tikus Putih ( <i>Rattus Norvegicus</i> ) .....	21
Gambar 7. Kerangka Teori .....	23
Gambar 8. Kerangka Konsep .....	24
Gambar 9. Diagram Alur Penelitian.....	39
Gambar 10. Neutrofil di ruang alveolar .....	40
Gambar 11. Penebalan septum alveolar .....	41
Gambar 12. Gambaran histopatologi paru tikus kelompok K1 .....	45
Gambar 13 Gambaran histopatologi paru tikus kelompok K2.....	45
Gambar 14. Gambaran histopatologi paru tikus kelompok K3.....	46
Gambar 15. Gambaran histopatologi paru tikus kelompok P .....	47
Gambar 16. Grafik perbandingan skor kerusakan paru .....	49



# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Rokok telah membunuh lebih dari 100 juta orang pada abad ke-20, jumlah yang lebih banyak dibanding korban yang mati pada perang dunia 1 dan 2. Kematian akibat rokok ini diperkirakan akan terus meningkat mencapai 1 milyar pada abad ke-21 apabila pola merokok tetap berlanjut. Jumlah kematian yang meningkat ini berbanding lurus dengan peningkatan konsumsi rokok di seluruh dunia. Pada tahun 2014, konsumsi rokok mencapai 5,8 triliun batang di seluruh dunia. Indonesia sendiri menempati urutan ke-4 konsumsi rokok paling tinggi di dunia setelah China, Russia, dan Amerika (Drope *et al.* , 2014) .

Identifikasi komponen kimia tembakau dalam batang rokok telah dilakukan secara intensif selama lebih dari 50 tahun dan diketahui bahwa terdapat sekitar 4.800 komponen kimia di dalamnya yang berbahaya. Komponen beracun dan bersifat karsinogenik ini merupakan sumber paparan signifikan yang dapat memediasi munculnya berbagai penyakit pada manusia (Tirtosastro *et al.*, 2010 ; Talhout *et al.*, 2011).

Paru adalah salah satu organ yang paling mudah terpapar agen-agen kimiawi seperti asap rokok lewat saluran nafas. Hal ini dapat menimbulkan efek

patologis yang diawali dengan inflamasi jaringan bronkial sehingga dapat menimbulkan gejala asma bahkan PPOK. Setiap sepuluh detik terdapat kasus kematian di seluruh dunia yang disebabkan oleh PPOK. Diperkirakan pada tahun 2030 PPOK akan menjadi penyebab kematian nomor 3 di seluruh dunia setelah penyakit jantung dan stroke (Wan dan Tze, 2008 ; Drope *et al.*, 2014 ).

Kerusakan paru akibat inflamasi yang disebabkan paparan rokok dapat diperbaiki dengan pemanfaatan obat yang berasal dari tanaman tradisional. Penggunaan obat-obatan tradisional di dunia semakin diminati karena efek yang menjanjikan dan minimnya efek samping yang ditimbulkan. Salah satu tanaman yang dipercaya memiliki banyak manfaat bagi kesehatan adalah *Nigella sativa* L. (jintan hitam) yang juga dikenal dengan *black cumin*. Tumbuhan ini hidup di wilayah Mediterania dan di negara-negara Asia Barat termasuk India, Pakistan, dan Afghanistan. *Nigella sativa* dipercaya sebagai pengobatan tradisional untuk mengobati banyak penyakit termasuk asma, hipertensi, diabetes, radang, batuk, bronkitis, sakit kepala, eksim, demam, pusing dan influenza. Tanaman *Nigella sativa* sendiri sudah mulai dikembangkan pada beberapa daerah di Indonesia terutama daerah pegunungan dengan ketinggian > 700 m seperti Lembang dan Dieng (Khader *et.al.*, 2014 ; Wahyuni, 2009).

*Nigella sativa* mengandung banyak komponen. Bijinya mengandung 28-36% minyak non-volatil , protein, alkaloid, saponin, dan 0,4-2,5% minyak esensial . Terdapat beberapa senyawa aktif yang telah diisolasi dari biji *Nigella sativa*, namun senyawa aktif yang paling banyak dilaporkan adalah *thymoquinone*

(TQ), *dithymoquinone*, timol, dan *thymohydroquinone*. *Thymoquinone* sendiri merupakan komponen utama dengan presentase hampir 50% (Ali *et al.*, 2012).

Adanya efek anti inflamasi *thymoquinone* pada paru yang mengalami inflamasi pada model hewan percobaan tikus dengan alergi saluran nafas pertama kali di laporkan oleh El Meyazen. *Thymoquinon* menghambat komponen penting dari respon inflamasi seperti prostaglandin dan leukotrien sehingga menahan sel untuk mengalami apoptosis. Pada studi lain, *thymoquinone* dilaporkan mampu menghambat pembentukan leukotrin pada sel darah manusia dan tikus. Secara bersamaan, semua penelitian yang disebutkan mendukung gagasan bahwa *thymoquinon* dapat berguna dalam mengintervensi kaskade inflamasi yang dapat memperbaiki angka morbiditas dan mortalitas pasien (Mcmahon *et al.* , 2015 ; Banerjee *et al.*, 2009).

Berdasarkan hal tersebut, penulis ingin membuktikan pengaruh pemberian pemberian *thymoquinone* sebagai salah satu zat aktif dalam *Nigella sativa* pada paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang dipapar asap rokok berdasarkan gambaran histopatologi.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Apakah terdapat pengaruh pemberian *thymoquinone* terhadap paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang dipapar asap rokok berdasarkan gambaran histopatologi ?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

Mengetahui adanya pengaruh pemberian *thymoquinone* terhadap paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang dipapar asap rokok berdasarkan gambaran histopatologi

## **1.4. Manfaat Penelitian**

### **1.4.1. Bagi Ilmu Pengetahuan**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian *thymoquinone* terhadap gambaran histopatologi paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang dipapar asap rokok

### **1.4.2. Bagi Institusi**

Meningkatkan penelitian dibidang *agromedicine* sehingga dapat menunjang pencapaian visi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung (FK Unila) sebagai Fakultas Kedokteran sepuluh terbaik di Indonesia pada tahun 2025 dengan kekhususan *agromedicine*.

### **1.4.3. Bagi Peneliti Lain**

Dapat dijadikan bahan acuan untuk dilakukannya penelitian yang serupa yang berkaitan dengan pengaruh *thymoquinone* terhadap organ lainnya selain paru.

#### **1.4.4. Bagi Peneliti**

Penelitian ini akan memperluas wawasan keilmuan peneliti serta menjadi pengalaman yang bermanfaat dalam pengaplikasian disiplin ilmu yang telah dipelajari

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Paru**

##### **2.1.1. Anatomi**

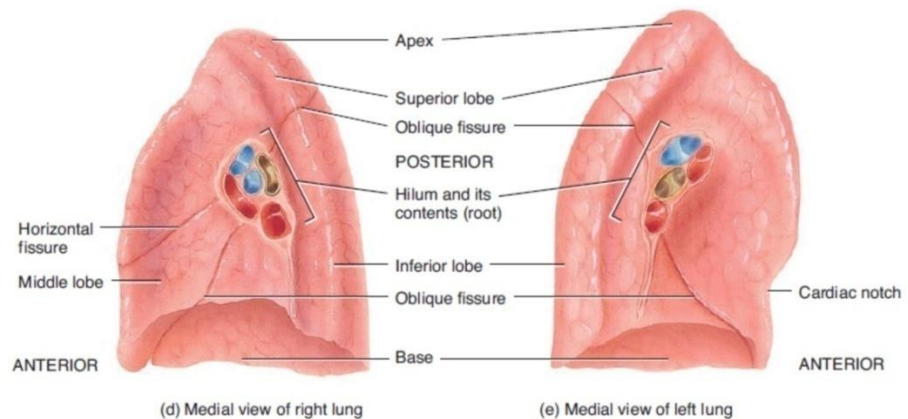
Paru merupakan sepasang organ berbentuk kerucut yang terletak di rongga toraks. Keduanya dipisahkan oleh jantung dan struktur mediastinum lain yang membagi rongga toraks menjadi dua ruang anatomis berbeda. Paru tertutup dan terlindungi oleh membran serosa berlapis ganda yang disebut membran pleura. Lapisan superfisial yang disebut juga pleura parietal berfungsi melapisi dinding rongga toraks. Sedangkan pleura viseral berfungsi melapisi paru itu sendiri. Terdapat ruang kecil antara pleura viseral dan parietal yang disebut rongga pleura. Rongga ini mengandung cairan pelumas yang berfungsi untuk mengurangi gesekan antar selaput dan memungkinkan mereka bergeser dengan mudah satu sama lain saat bernafas. Rongga pleura terpisah mengelilingi paru kiri dan kanan (Tortora *et. al.*, 2012).

Paru kanan sedikit lebih besar dari paru kiri, dibagi oleh fisura oblik dan fisura horizontalis menjadi tiga lobus; lobus superior, lobus media, dan lobus inferior. Fisura oblik berjalan dari pinggir inferior ke atas dan belakang menyilang permukaan medial dan costalis sampai memotong

pinggir posterior. Fisura horizontalis berjalan horizontal menyilang permukaan costalis dan bertemu dengan fisura oblik. Lobus medius merupakan lobus kecil berbentuk segitiga yang dibatasi oleh fisura horizontalis dan fisura obliqua. Paru kiri dibagi oleh satu fisura menjadi dua lobus yaitu lobus superior dan lobus inferior (Snell, 2008).

Setiap bronkus lobaris (sekunder) berjalan ke lobus paru dan mempercabangkan bronkus segmentalis (tersier). Setiap bronkus segmentalis kemudian masuk ke *segmenta bronchopulmonalia* yang merupakan unit paru secara anatomi, fungsi, dan pembedahan. Setelah masuk *segmenta bronchopulmonalia*, setiap bronkus segmentalis terbagi dua berulang-ulang. Pada saat bronkus menjadi lebih kecil, cartilago yang berbentuk U yang ditemui sejak dari trakea perlahan-lahan diganti dengan lempeng cartilago yang lebih kecil dan lebih sedikit jumlahnya. Bronkus yang paling kecil membelah dua menjadi bronchiolus, yang diameternya kurang dari 1 mm. Bronkiolus kemudian membagi dua menjadi bronchiolus terminalis yang mempunyai kantong-kantong lembut pada dindingnya. Pertukaran gas yang terjadi antara darah dan udara terjadi pada dinding kantong-kantong tersebut, karena itu dinamakan bronkialis respiratorik. Diameter bronkiolus respiratorik sekitar 0,5 mm. Bronkiolus respiratorik berakhir dengan bercabang menjadi duktus alveolaris yang menuju ke arah saluran berbentuk kantong dengan dinding yang tipis disebut sakus alveolaris. Sakus alveolaris terdiri dari beberapa alveoli yang terbuka ke satu ruangan. Masing-masing alveolus dikelilingi oleh jaringan yang

mengandung kapiler yang padat. Pertukaran gas terjadi antara udara yang terdapat di dalam lumen alveolus, melalui dinding alveoli ke dalam darah yang ada di dalam kapiler di sekitarnya (Snell, 2008).



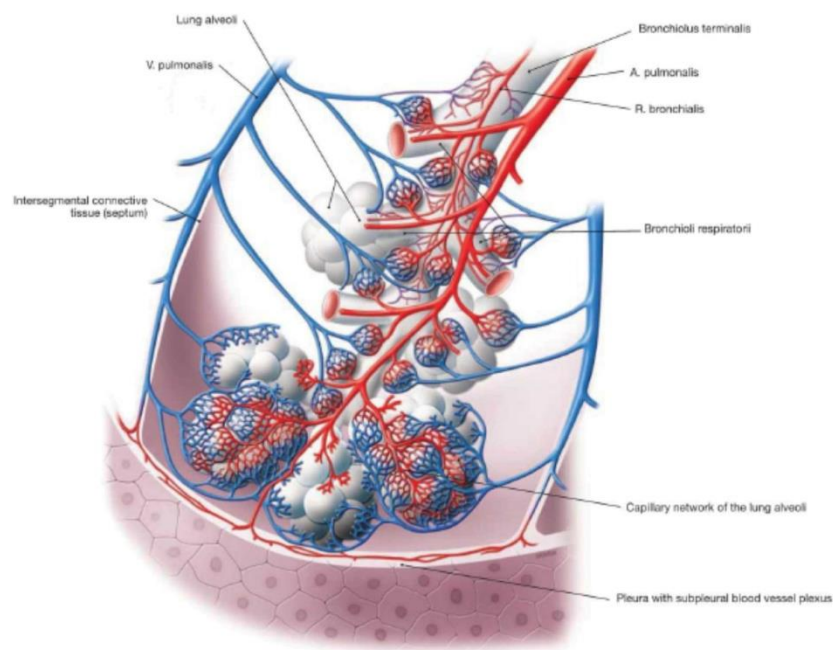
**Gambar 1.** Lobus kiri dan kanan paru tampak medial (Tortora *et.al.*, 2012)

Masing-masing paru memperoleh pendarahan dari satu arteria pulmonalis yang besar, dan darah venosa disalurkan keluar melalui vena pulmonalis. Arteria pulmonalis dekstra dan arteria pulmonalis sinistra berasal dari satu trunkus pulmonalis setinggi angulus sterni, dan mengantar darah yang miskin oksigen ke paru untuk oksigenasi. Arteri pulmonalis melintas ke radiks pulmo *dextra* dan radiks pulmo *synistra* sebelum memasuki hilum pulmonalis. Masing-masing paru memiliki arteri menurun di sebelah dorso lateral bronkus prinsipalis dan membagi diri menjadi arteri-arteri lobar, dan lalu arteri-arteri tersier (segmental). Terdapat satu cabang arteri untuk tiap lobus dan segmen bronkus pulmonal (Moore *et.al.*, 2010).

Arteri bronkialis mengantar darah untuk nutrisi paru dan pleura viseralis. Umumnya arteri ini berasal dari aorta *pars thoracica* tetapi arteri



bronkialis dekstra dapat dilepaskan dari arteri interkostalis posterior superior dekstra. Arteria bronkialis yang kecil melintas mengikuti permukaan dorsal bronkus untuk memperdarahi bronkus. Arteri bronkialis beranastomosis dengan cabang arteri pulmonalis dalam dinding bronkus kecil dan pleura viseralis. Pleura parietalis memperoleh darah dari arteri-arteri untuk dinding toraks.



**Gambar 2.** Pembuluh darah paru (Paulsen *et.al.*, 2015)

Vena pulmonalis mengantar darah yang kaya akan oksigen dari paru ke atrium sinistrum jantung. Berawal sebagai kapiler pulmonal, beberapa vena bersatu menjadi pembuluh yang makin besar. Satu vena utama menyalurkan darah dari setiap *segmentum bronchopulmonale*, biasanya pada permukaan ventral bronkus yang sesuai. Vena bronkialis hanya menyalurkan sebagian darah yang dipasok oleh arteria bronkialis ke paru; bagian lainnya disalurkan melalui vena pulmonalis. Vena

bronkialis dextra bermuara ke dalam vena azygos, dan vena bronkialis sinistra ke dalam vena hemiazygos atau vena intercostalis superior. Vena-vena dari pleura parietalis bersatu dengan vena sistemik bagian dinding toraks yang berdekatan. Vena dari pleura viseral bermuara ke dalam vena pulmonalis (Moore *et al*, 2010).

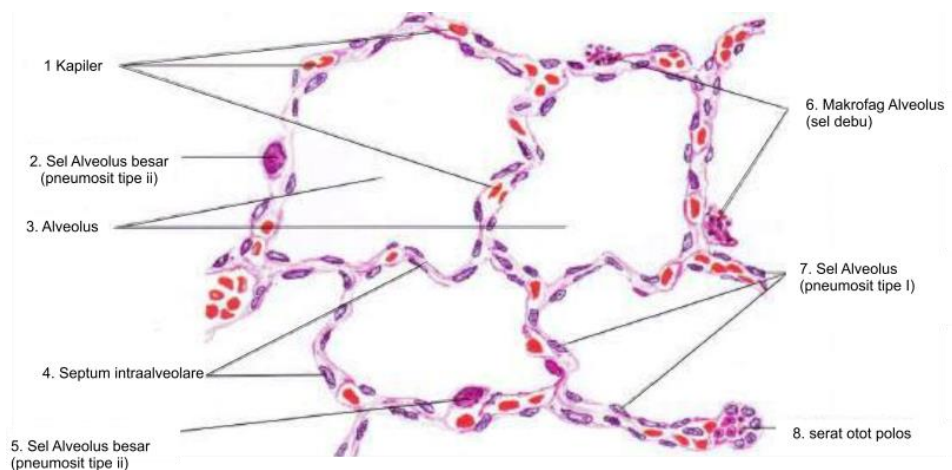
Pembuluh limfe paru berasal dari pleksus superfisial dan pleksus profundus dan tidak terdapat pada dinding alveoli. Pleksus superfisial (subpleura) terletak di bawah pleura viseral dan mengalirkan cairannya melalui permukaan paru ke arah hilus pulmonalis, tempat pembuluh-pembuluh limfe bermuara ke nodi bronkhopulmonal. Pleksus profundus berjalan sepanjang bronkus dan arteria dan vena pulmonalis menuju ke hilus pulmonis, mengalirkan limfe ke nodi pulmonis yang terletak di dalam substansi paru. Limfe kemudian masuk ke dalam nodi bronchopulmonales di dalam hilus pulmonis. Semua limfe dari paru meninggalkan hilus pulmonis mengalir ke nodi *tracheobronchiales* dan kemudian masuk ke dalam *truncus lymphaticus bronchomediastinalis* (Snell, 2008).

Persarafan paru berasal dari pleksus pulmonal. Pleksus dibentuk dari cabang-cabang trunkus simpatikus dan serabut-serabut parasimpatik nervus vagus. Serabut-serabut eferen simpatik mengakibatkan bronkodilatasi dan vasokonstriksi. Serabut-serabut eferen parasimpatik mengakibatkan bronkokonstriksi, vasodilatasi, dan peningkatan sekresi kelenjar. Impuls aferen yang berasal dari membrana mucosa bronkus dan

dari reseptor regang dinding alveoli berjalan ke sistem saraf pusat di dalam saraf simpatik dan parasimpatik (Snell, 2008) .

### 2.1.2. Histologi

Paru memiliki area permukaan alveolar kurang lebih seluas 40 m<sup>2</sup> untuk pertukaran udara. Proses respirasi dapat berlangsung di dalam alveoli paru karena sawar antara udara yang masuk ke dalam alveoli dan darah vena dalam kapiler sangat tipis. Struktur intrapulmonal tempat berlangsungnya respirasi adalah duktus alveolaris dan saku alveolaris. Duktus alveolaris dan alveolus dilapisi oleh sel alveolus gepeng yang sangat halus. Di lamina propria yang mengelilingi tepian alveolus terdapat anyaman sel otot polos, yang menghilang di ujung distal duktus alveolaris. Sejumlah besar matriks serat elastin dan kolagen memberikan sokongan pada duktus dan alveolusnya (Tortora *et al*, 2012) .



**Gambar 3.** Dinding alveolus dan sel alveolus (Eroschenko , 2010)

Duktus alveolaris bermuara ke dalam atrium di dua *sakus alveolaris* atau lebih serat elastin dan retikular membentuk jalinan rumit yang mengelilingi muara atrium, sakus alveolaris, dan alveoli. Serat-serat

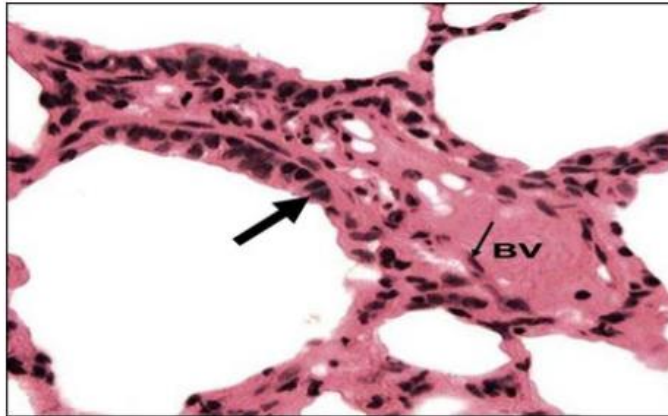
elastin memungkinkan alveolus mengembang sewaktu inspirasi dan berkontraksi secara pasif selama ekspirasi. Serat-serat retikular berfungsi sebagai penunjang yang mencegah pengembangan berlebih dan kerusakan kapiler-kapiler halus dan septa alveolar yang tipis. Kedua serabut tersebut menunjang jaringan ikat yang menampung jalinan kapiler di sekitar alveolus. Selain sel-sel di saluran pernapasan, terdapat jenis sel lainnya di dalam paru. Alveoli mengandung dua jenis sel. Sel yang paling banyak adalah sel alveolus gepeng atau pneumosit tipe I (*pneumocytus typus I*). Sel gepeng ini melapisi seluruh permukaan alveolus. Di antara sel-sel alveolis gepeng ini terselip pneumosit tipe II (*pneumocytes typus II*) baik tunggal maupun dalam kelompok paru, berasal dari monosit darah, juga ditemukan di jaringan ikat dinding alveolus. Makrofag atau septum interalveolaris (*macrophagocytus alveolaris*) dan di alveoli (sel debu). Di dalam septum interalveolaris juga terdapat banyak anyaman kapiler, arteri pulmonalis, vena pulmonalis, duktus limfe, dan saraf (Mescher, 2016).

### **2.1.3. Histopatologi Paru**

Adanya stimulus (rangsang) endogen maupun eksogen menyebabkan jejas sel dan menimbulkan reaksi kompleks pada jaringan ikat yang dinamakan inflamasi (peradangan) di paru. Hal ini merupakan suatu respons protektif yang berfungsi untuk menghilangkan penyebab awal jejas sel serta membuang sel dan jaringan nekrotik yang diakibatkan oleh kerusakan asal. Inflamasi melaksanakan tugas pertahanannya dengan mengencerkan, menghancurkan, atau menetralkan agen berbahaya

(misalnya, mikroba atau toksin). Inflamasi kemudian menggerakkan berbagai kejadian yang akhirnya menyembuhkan dan menyusun kembali tempat terjadinya jejas. Inflamasi juga saling terkait erat dengan proses perbaikan, yang mengganti jaringan yang rusak dengan regenerasi sel parenkim, dan dengan pengisian setiap defek yang tersisa dengan jaringan parut fibrosa (Abbas *et al.*, 2013).

Penyebab kerusakan paru banyak diakibatkan oleh rokok. Salah satu penyakit paru akibat rokok adalah penyakit paru obstruktif kronis (PPOK). Pada pasien PPOK, terjadi respon inflamasi abnormal yang menyebabkan destruksi jaringan parenkim dan mengganggu *normal repair* dan mekanisme pertahanan paru (menyebabkan fibrosis saluran nafas). Perubahan patologis ini menyebabkan tahanan jalan nafas yang progresif. Terdapatnya tahanan jalan nafas yang disebabkan oleh asap rokok secara terus menerus ini menyebabkan mudah terjadi kebocoran pada pembuluh darah paru dan protein plasma keluar bersama cairan yang dapat tertimbun di alveolus. Bentuk PPOK yang erat kaitannya dengan perokok adalah emfisema jenis sentriasinar. Pada emfisema sentriasinar terdapat perlekatan partikel asap pada bronkioli kecil menyebabkan datangnya sel-sel radang dan peningkatan elastase, dan penurunan *α1-antitripsin*. Pada gambaran mikroskopik tampak ruang-ruang udara melebar, dinding menipis dan kapilar septal tertekan serta tidak terisi darah. Ruptur dinding alveol membentuk gambaran sarang tawon (Abbas *et al.*, 2013).



**Gambar 4.** Alveoli paru tikus yang terpapar asap rokok dengan penebalan septum (Shraideh *et al.*, 2013)

Rokok menggunakan tembakau sebagai bahan utama dan ditambah berbagai senyawa kimia lainnya untuk memberikan rasa tertentu. Berdasarkan penelitian, sebuah rokok tembakau yang dibakar dapat mengeluarkan sekitar 4000 senyawa kimia, 50 senyawa diantaranya dikenal sebagai karsinogen dan sekitar 400 senyawa lainnya termasuk golongan racun, seperti tar, karbon monoksida, formaldehid, amonia, hidrogen sianida dan *dichlorodiphenyltrichloroethane* (Tanuwiharja dan Susanto, 2012).

Daun tembakau sebagai bahan baku rokok mengandung banyak bahan kimia alkaloid. Salah satu alkaloid yang paling melimpah dalam tanaman tembakau adalah nikotin. Nikotin yang merupakan alkaloid alam (*1 metil-2 {3- piridil} pirolidin*) berbentuk cairan, tidak berwarna dan merupakan suatu basa lemah yang mudah menguap serta dapat melewati sawar darah otak. Nikotin pertama kali diisolasi dari tanaman tembakau *Nicotana tabacum* oleh Posselt dan Reiman pada tahun 1828. Kadar nikotin dalam tembakau hanya berkisar 1-2% namun memiliki sifat toksik dan dapat menimbulkan ketergantungan atau bersifat adiktif. Nikotin merupakan zat adiktif karena molekul nikotin mirip

dengan molekul asetilkolin, salah satu neurotransmitter penting yang berada di otak (U.S Departement of Health and Human Services, 2010).

Nikotin dapat diserap dari jalan napas, rongga mulut dan kulit. Metabolisme nikotin terutama di hati dan dapat juga dimetabolisme di paru dan ginjal. Nikotin yang masuk peroral akan diabsorpsi sedikit di lambung karena sifatnya sebagai basa kuat, namun absorpsi di usus cukup untuk menyebabkan keracunan. Nikotin yang diinhalasi akan dimetabolisme di paru dan dapat mencapai otak hanya dalam waktu 6 detik (Tanuwihardja dan Susanto, 2012).

Ribuan *reactive oxygen species* (ROS) diproduksi oleh rokok yang dibakar. *Reactive oxygen species* yang terkandung dalam fase gas ini dapat bertahan sementara dan menimbulkan efek pada saluran napas. *Reactive oxygen species* merusak lapisan epitel saluran napas dengan menginduksi peroksidasi lipid dan komponen sel membran lain, mengaktifasi jalur oksidasi seluler, dan menyebabkan kerusakan DNA ( Lee *et al.*, 2012).

Oksidan di dalam rokok akan mengaktifasi sel epitel dan makrofag di saluran napas untuk merilis faktor kemotakik seperti *interleukin* (IL-8) dan *leukotrin B4* (LTB4). Pada sebuah studi melaporkan bahwa paparan asap rokok mampu mengaktifasi beberapa *cell-signaling pathways*, diantaranya *mitogen-activated protein kinases* (MAPK), *nuclear factor kappa-B* (NF-κB), *signal transducer and activator. of transcription* (STAT), dan *activatory protein-1* (AP-1). Semua *cell-signaling pathways* memiliki peran dalam regulasi siklus inflamasi pada sel dan gen-gen lain Adapun NF-κB and AP-1 merupakan faktor

transkripsi yang sangat penting dalam regulasi pembentukan kemokin inflamasi (Doz *et al.*, 2008).

Sel-sel inflamasi ditarik oleh berbagai macam mediator inflamasi. Pada pasien PPOK yang mayoritas disebabkan oleh paparan asap rokok, ditemukan beberapa mediator inflamasi yang mampu menarik sel-sel inflamasi. Pertama, faktor kemotaktik yang terdiri dari mediator lipid, contohnya *leukotriene B4 (LTB4)* yang berfungsi menarik neutrofil dan limfosit T. Kedua, kemokin seperti *interleukin-8 (IL-8)* yang berfungsi menarik neutrofil dan monosit. Ketiga, sitokin proinflamasi contohnya *tumor necrosis factor (TNF)*, *IL-1*, and *IL-6*. Terakhir terdapat *growth factors* seperti *transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )* yang dapat menginduksi fibrosis di saluran nafas (Fabbri *et al.*, 2006).

Neutrofil dan makrofag-makrofag alveolar yang meningkat akibat paparan asap rokok juga akan mensekresikan *matrix metalloprotease (MMPs)*, di antaranya MMP-2 MMP-9, dan serine protease yang berperan dalam merusak matriks ekstraseluler. Proses ini menjadi tidak terkendali pada paparan kronik dari asap rokok. Selain protease yang meningkat, terjadi penurunan anti protease, seperti  *$\alpha$ -1 antitripsin (AAT)*. Penurunan AAT disebabkan oleh inaktivasi AAT oleh oksidan yang terkandung dalam rokok itu sendiri maupun oksidan yang dirilis sitokin inflamasi (Doz *et al.*, 2008; U.S Department of Health and Human Services, 2010).

Sebuah studi juga telah membuktikan bahwa paparan asap rokok dapat menyebabkan proses apoptosis melalui aktivasi kaspase-3 pada sel alveolar tipe 2 pada seekor tikus. Aktivasi kaspase-3 distimulasi oleh TNF- $\alpha$  yang

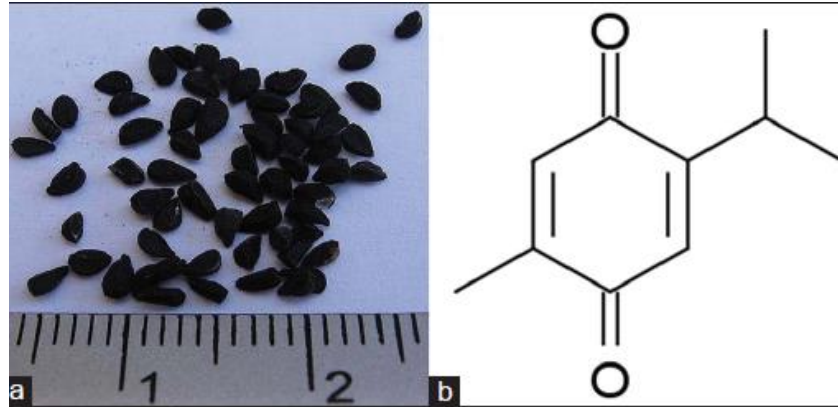


meningkat karena paparan asap rokok. Kaspase-3 merupakan kaspase sentral dalam kaskade kaspase yang mediasi eksekusi dari proses apoptotis sel. Kaspase-3 yang teraktivasi akan membelah protein nuklear dan menyebabkan fragmentasi DNA (Ahmed *et al.*, 2013).

Menurut Ramaniya Kirana (2009) paparan asap rokok selama 14 hari terbukti menunjukkan perubahan gambaran histologi pada paru mencit berupa kerusakan struktur histologis alveolus paru mencit yang ditandai dengan adanya destruksi septum alveolar, oedema paru, dan infiltrasi sel radang (Kirana, 2009) .

## **2.2. Thymoquinone**

*Nigella sativa* (*N. sativa*) adalah tanaman tahunan yang berasal dari Asia dan dikembangbiakan di seluruh dunia, seperti Eropa dan Afrika. Tanaman ini dikenal dengan beberapa nama, seperti *Habbat al-barakah* dalam bahasa Arab, *Siah-Daneh* dalam bahasa Persia, dan *Black Cummin* atau *Black seed* dalam bahasa Inggris. Berdasarkan catatan sejarah, tanaman ini telah digunakan sejak 1400 tahun yang lalu sebagai obat tradisional untuk berbagai macam penyakit. Tanaman ini telah tercatat dalam kedokteran Islam dapat menyembuhkan segala macam penyakit kecuali kematian dan penuaan berdasarkan hadist Nabi Muhammad *Shollallahu 'alaihi Wasallam* (Gholamnezhad *et al.*, 2016) .



**Gambar 5.** a) Biji *Nigella sativa* (black seeds). (b) Struktur *thymoquinone*; 2-isopropyl-5-methyl-1,4-benzoquinone (Abukhader MM, 2013)

Biji *Nigella sativa* memiliki lebih dari 100 komponen kimia, beberapa komponen kimia yang terkandung di antaranya adalah resin, alkaloid, flavonoid, sterols, tannis, saponins. Aktivitas biologi *Nigella sativa* berkaitan erat dengan komponen utamanya. Komponen utamanya adalah *thymoquinone*, *p-cyme*, *carvacrol*, *terpineol*, *tan-ethole*, a *sesquiterpene longifolene*. *Thymoquinone* dan turunannya (*dithymoquinone*, *thymohidroquinone*, dan *thymol*) adalah komponen aktif yang diketahui memiliki efek farmakologis paling banyak. Penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa biji *Nigella sativa* memiliki khasiat untuk terapi asma, inflamasi, bronkitis, dan eksim dengan mempengaruhi pemberiani fungsi biologis di tubuh. Hampir seluruh aktivitas biologis ini terkandung di dalam *thymoquinone* (Sriwahyuni *et al.*, 2010).

*Thymoquinone* berperan dalam menghambat pembentukan mediator inflamasi, *thromboxane B2* dan *leukotrin B4* dengan menarget enzim *cyclooxygenase* dan jalur *5-lipoxygenase* dari metabolisme asam arakidonat Sitokin proinflamasi dan mediator inflamasi adalah komponen utama dalam proses inflamasi.

Inhibisi keduanya dapat mencegah kelanjutan proses inflamasi dan mengurangi kerusakan sel. El-Gazzar melaporkan terdapat inhibisi *LPS-induced IL-5* dan *produksi IL-13* pada sel yang mengalami inflamasi dengan menggunakan *thymoquinone* (Sriwahyuni *et al.*, 2010 ; El Gazzar, 2006).

Pada sebuah penelitian, *Thymoquinone* terbukti dapat menghambat secara kuat *nitric oxide* (NO) dan *tumor necrosis factor* (TNF)- $\alpha$ , *cyclooxygenase* (COX)-2, interleukin (IL)-6, dan IL-1 $\beta$  pada tikus yang diinduksi lipopolisakarida . *Thymoquinone* juga mencegah terjadinya inflamasi dengan menurunkan level mediator inflamasi yaitu NF-kB, dan COX-2, sedangkan efek antiapoptosis dari *thymoquinone* berupa penurunan kaspase 3 yang merupakan ekspresi penanda apoptosis (Chiu *et al.*, 2012 ; Hossen *et al.*, 2017).

*Thymoquinone* merupakan molekul yang potensial untuk memodulasi *tumor necrosis factor alfa* yang dapat menyebabkan inflamasi dan destruksi jaringan pada kasus reumatoid arthritis. Pada penelitian lebih lanjut, administrasi oral dari *thymoquinone* pada tikus wistar sebanyak 5mg/kgBB selama 21 hari dapat menyebabkan reduksi yang signifikan pada nilai mediator pro-inflamasi. Efek dari *thymoquinone* pada kasus inflamasi saluran nafas seekor tikus yang mengalami asma menunjukkan nilai penurunan nilai eosinofil baik pada *in vivo* maupun *in vitro*. Pada pemeriksaan histologi dari jaringan paru juga terdapat inhibisi yang signifikan pada jumlah eosinofil dan produksi mukus oleh sel goblet. Pada percobaan lain dengan hewan murine ditemukan adanya efek *thymoquinone* dengan menghambat perubahan-perubahan akibat inflamasi terutama agregasi sel-sel inflamasi di jaringan (Umar *et al.*, 2015).

### 2.3. Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan pengerat dan sering digunakan untuk penelitian, dikarenakan tikus merupakan hewan yang mewakili dari kelas mamalia, sehingga kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimianya, sistem reproduksi, pernafasan, peredaran darah dan ekskresi menyerupai manusia. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri yaitu albino, kepala kecil dan ekor lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhan cepat, tempramen baik, kemampuan laktasinya tinggi dan tahan terhadap perlakuan (Isroi, 2010).

Sebuah galur atau strain tikus, adalah kelompok tikus dengan semua anggota secara genetik identik. Tikus *Sprague dawley* yang merupakan jenis tikus albino serbaguna digunakan secara ekstensif dalam riset medis. Keuntungan utamanya adalah ketenangan dan kemudahan penanganannya. Rata-rata ukuran berat tubuh tikus *Sprague dawley* adalah 10,5 g. Berat badan dewasa adalah 250-300g bagi betina, dan 450-520g untuk jantan. Lama hidupnya adalah 2,5-3,5 tahun (Isroi, 2010).

#### 2.3.1. Klasifikasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Setiorini Y pada tahun 2011

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Mamalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Subordo	: <i>Sciurognathi</i>

Famili : *Muridae*  
Sub-Famili : *Murinae*  
Genus : *Rattus*



**Gambar 6.** Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Fakultas Kedokteran Hewan UGM, 2006)

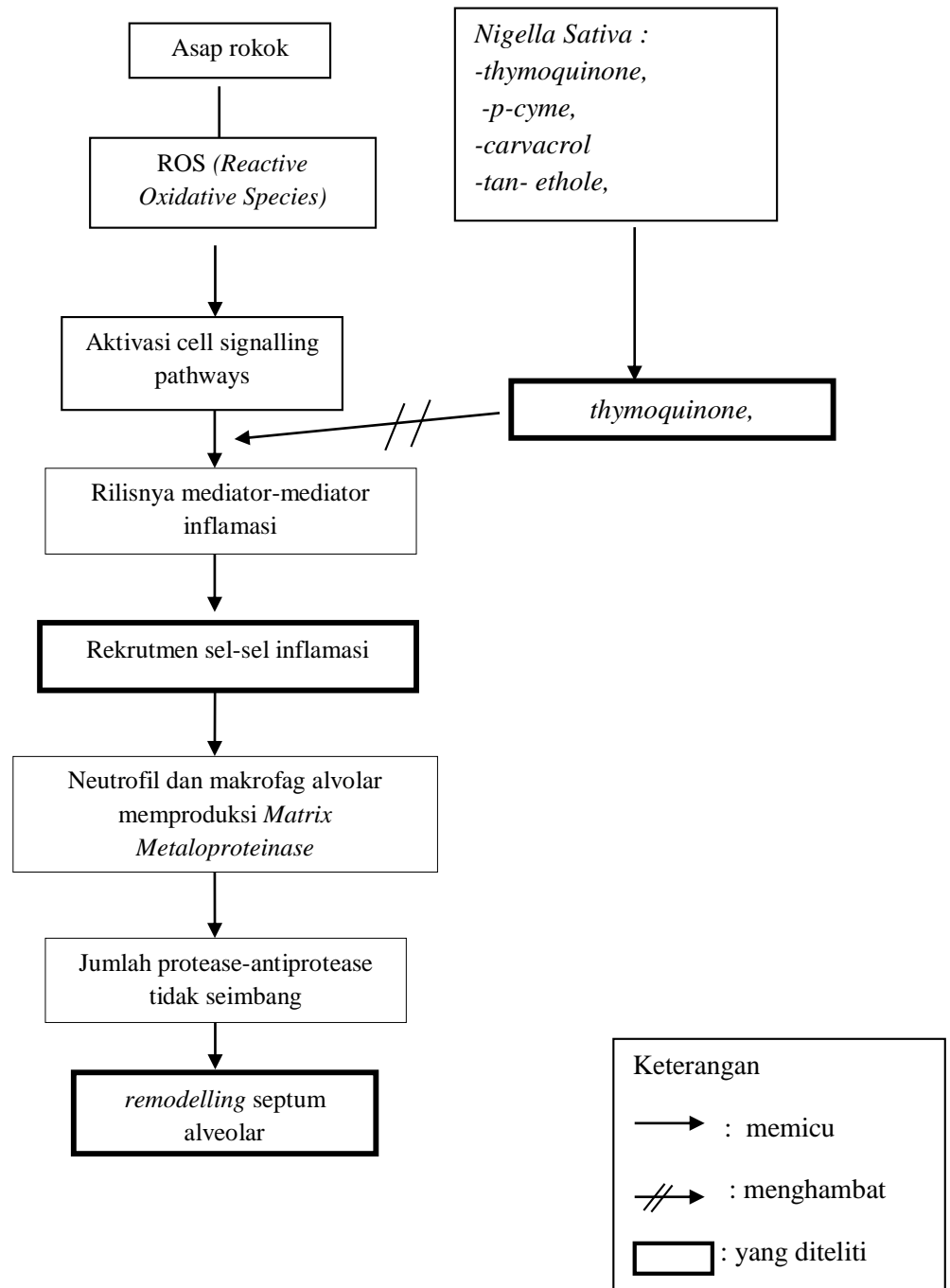
## 2.4. Kerangka Penelitian

### 2.4.1. Kerangka Teori

Ribuan ROS diproduksi oleh rokok yang dibakar. *Reactive oxygen species* yang terkandung dalam fase gas ini dapat bertahan sementara dan menimbulkan efek pada saluran nafas. Pada sebuah studi melaporkan bahwa paparan asap rokok mampu mengaktifasi beberapa *cell-signaling pathways*. *Cell-signaling pathways* memiliki peran dalam regulasi siklus inflamasi pada sel dan gen-gen lain Adapun NF- $\kappa$ B and AP-1 merupakan faktor transkripsi yang sangat penting dalam regulasi pembentukan kemokin inflamasi ( Lee *et al.*, 2012 ; Doz *et al.*, 2008) .

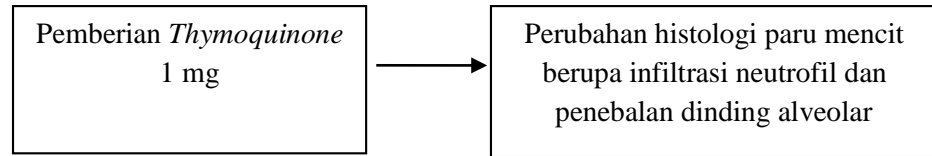
Sel-sel inflamasi ditarik oleh berbagai macam mediator inflamasi. Neutrofil dan makrofag-makrofag alveolar yang ditarik oleh mediator

inflamasi akan mensekresikan *matrix metalloprotease* (MMPs) yang berperan dalam merusak matriks ekstraseluler sehingga terjadi kerusakan septum alveolar. *Thymoquinone* berperan dalam menghambat pembentukan mediator inflamasi, *thromboxane B2* dan *leukotrin B4* dengan menarget enzim *cyclooxygenase* dan jalur *5-lipoxygenase* dari metabolisme asam arakidonat. Inhibisi sitokin proinflamasi dan mediator inflamasi dapat mencegah kelanjutan proses inflamasi dan mengurangi kerusakan sel (Fabbri *et al.*, 2006; Sriwahyuni *et al.*, 2010).



**Gambar 7.** Kerangka Teori Pengaruh pemberian Thymoquinon pada Paru tikus yang dipapar Asap Rokok Berdasarkan Gambaran Histopatologi

### 2.4.2. Kerangka Konsep



**Gambar 8.** Kerangka Konsep Pengaruh pemberian *Thymoquinon* pada Paru tikus yang dipapar Asap Rokok Berdasarkan Gambaran Histopatologi

### 2.5. Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian pemberian *thymoquinone* terhadap paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang dipapar asap rokok berdasarkan gambaran histopatologi



## **BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN**

### **3.1. Jenis dan Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode *true experiment* dengan pola *post test-only control group design*. Menggunakan 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 10–16 minggu yang dipilih secara random yang dibagi menjadi 4 kelompok dengan pengulangan sebanyak 4 kali, digunakan sebagai subjek penelitian.

### **3.2. Waktu dan Tempat Penelitian**

#### **3.2.1. Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan November 2018 sampai bulan Desember 2018.

#### **3.2.2. Tempat Penelitian**

Perlakuan hewan coba dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sedangkan pembuatan preparat dan pengamatannya dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

### 3.3. Populasi dan Sampel

#### 3.3.1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berusia 10–16 minggu yang diperoleh dari Palembang Tikus Center.

#### 3.3.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian dipilih secara acak berjumlah 24 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok. Banyaknya jumlah sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Frederer.

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

Keterangan:

n = besar sampel tiap kelompok

t = banyak kelompok

Besar sampel yang dibutuhkan untuk tiap kelompok:

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$(n-1)3 \geq 15$$

$$3n-3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Jadi sampel yang digunakan tiap kelompok percobaan sebanyak 6 ekor.

Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus yang dibagi ke dalam 4 kelompok.

Untuk mengantisipasi adanya kriteria eksklusi dan *drop out*, maka dilakukan koreksi dengan menambahkan sampel dengan rumus:

$$N / (1-f)$$

Keterangan:

N = besar sampel koreksi

n = besar sampel awal

f = perkiraan proporsi drop out sebanyak 10% maka jumlah sampel koreksi yang ditambahkan pada penelitian ini yaitu:

$$N = 6 / (1-f)$$

$$N = 6 / (1-10\%)$$

$$N = 6 / (1 - 0,1)$$

$$N = 6 / 0,9$$

$$N = 6,667 \text{ (maka dibulatkan menjadi 7 sampel)}$$

Jadi, keseluruhan sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah 28 ekor tikus yang dibagi ke dalam 4 kelompok sehingga setiap kelompok berisi 7 ekor tikus dengan 1 ekor tikus sebagai cadangan atau koreksi jika terdapat kriteria eksklusi.

### 3.3.3. Kelompok Perlakuan

Tikus sebanyak 24 ekor, dikelompokkan dalam 4 kelompok. Kelompok kontrol 1 (K1) sebagai kontrol normal, tidak dipapar asap rokok dan tidak diberikan *thymoquinone*. Kelompok kontrol 2 (K2) sebagai kontrol patologis yang dipapar asap rokok dan tidak diberikan *thymoquinone* selama 14 hari. Kelompok kontrol 3 (K3) dipapar asap

rokok sebanyak 2 batang/hari dan diikuti dengan pemberian *minyak zaitun* dosis 0,5 mg selama 14 hari. Kelompok perlakuan 1 (K1) dipapar asap rokok sebanyak 2 batang rokok/hari dan diikuti dengan pemberian *thymoquinone* dosis 5 mg/kgBB/hari selama 14 hari..

**Tabel 1.** Kelompok Perlakuan

No	Kelompok	Perlakuan
1	Kelompok kontrol 1 (K1)	tidak dipapar asap rokok dan tidak diberikan <i>thymoquinone</i>
2	Kelompok kontrol 2 (K2)	sebagai kontrol patologis yang dipapar asap rokok dan tidak diberikan <i>thymoquinone</i> selama 14 hari
3	Kelompok kontrol minyak zaitun (K3)	Kelompok yang diberi paparan asap rokok sebanyak 2 batang/hari dan diikuti dengan pemberian minyak zaitun dosis 0,5 mg selama 14 hari
4	Kelompok perlakuan (P)	Kelompok yang diberi paparan asap rokok sebanyak 2 batang rokok/hari dan diikuti dengan pemberian <i>thymoquinone</i> dosis 1 mg/kgBB/hari selama 14 hari.

### 3.4. Kriteria Penelitian

#### 3.4. 1. Kriteria Inklusi

- a. Sehat (tidak nampak sakit, rambut tidak rontok dan tidak nampak kusam, aktivitas aktif).
- b. Jantan.
- c. Berat Badan 200-300 gram.
- d. Usia 2-3 bulan atau 10-12 minggu.

### 3.4.2. Kriteria Eksklusi

- a. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi.
- b. Sakit (penampakan rambut kusam, rontok atau botak dan aktivitas kurang atau tidak aktif, keluarnya eksudat yang tidak normal dari mata, mulut, anus serta genital).
- c. Mati selama masa pemberian perlakuan.

## 3.5. Alat dan Bahan

### 3.5.1. Alat-alat yang digunakan

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu :

- a. Kandang tikus terbuat dari bahan plastik berukuran 40x20x20 cm<sup>3</sup> dengan tutup kawat.
- b. Tempat makan dan minum hewan.
- c. Timbangan.
- d. Timbangan digital .
- e. Sonde lambung.
- f. Spuit 1cc dan 5 cc
- g. Alat bedah minor.
- h. Tabung.
- i. Handschoen, kapas, dan alkohol.
- j. Mikroskop.

### 3.5.2. Bahan-bahan yang digunakan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu :

- a. Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

- b. Pakan hewan berupa pelet.
- c. *Thymoquinone*.
- d. Rokok

### **3.6. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional**

#### **3.6 .1. Identifikasi Variabel**

##### **3.6.1.1. Variabel Independen**

Variabel independent atau variabel bebas pada penelitian ini adalah *Thymoquinone* dan paparan asap rokok pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) galur *Sprague dawley*.

##### **3.6.1.2 Variabel Dependen**

Pada penelitian ini yang termasuk ke dalam variabel terikat adalah gambaran histopatologi paru yang dipapar asap rokok

##### **3.6.1.3 Variabel Perantara**

###### 1. Variabel yang dapat dikendalikan

Variabel perantara yang dapat dikendalikan adalah jenis tikus, umur tikus, makanan tikus, minuman tikus, dosis *thymoquinone*, minyak zaitun dan asap rokok.

###### 2. Variabel yang tidak dapat dikendalikan

Variabel perantara yang tidak dapat dikendalikan adalah absorpsi *thymoquinone* dan asap rokok.

#### **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 2.** Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Thymoquinone	<i>Thymoquinone</i> sintesis yang dibeli dari perusahaan kimia	Timbangan	Dosis <i>thymoquinone</i> 1 mg	Kategorik
2.	Histopatologi paru	Gambaran histopatologi paru tikus dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya, dan dilakukan dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang Parameter kerusakan didasarkan pada : A. neutrofil di ruang alveolar ; B. neutrofil di ruang intersitial ; C. Penebalan septum alveolar Adapun skor akhir kerusakan paru tiap subjek menggunakan rumus = $[(20 \times A) + (14 \times B) + (7 \times C) / (\text{jumlah lapang pandang} \times 100)]$	Mikroskop Cahaya	Neutrofil di ruang alveolar Skor 0 : tidak ada neutrofil yang ditemukan per lapang pandang Skor 1 : ditemukan 1-5 neutrofil per lapang pandang Skor 2 : lebih dari 5 neutrofil per lapang pandang  Neutrofil di ruang intersitial Skor 0 : tidak ada neutrofil yang ditemukan per lapang pandang Skor 1 : ditemukan 1-5 neutrofil per lapang pandang Skor 2 : lebih dari 5 neutrofil per lapang pandang  Penebalan septum alveolar Skor 0 : penebalan kurang dari dua kali lipat tebal septum normal Skor 1 : penebalan kurang 2-4 kali lipat tebal septum normal Skor 2 : penebalan lebih dari 4 kali lipat tebal septum normal	Numerik

### 3.7. Prosedur Penelitian dan Alur Penelitian

#### 3.7.1. Prosedur Penelitian

##### 3.7.1.1. Adaptasi Tikus

Tikus sebanyak 24 ekor dibagi atas 4 kelompok diadaptasi selama 1 minggu di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, dan dilakukan penimbangan dan penandaan untuk menentukan perlakuan perkelompok.

##### 3.7.1.2. Prosedur Pemberian *Thymoquinone*

*Thymoquinone* yang didapat dari SIGMA ALDRICH merupakan *thymoquinone* bentuk serbuk, sehingga harus dilarutkan terlebih dahulu (Ali *et al.*, 2008). Dosis *thymoquinone* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 mg/kgBB didasarkan pada penelitian Barnawi *et al.* yang menunjukkan dosis efektif *thymoquinone* dalam menghambat efek negatif asap rokok (Barnawi *et al.*, Dosis tersebut akan dilarutkan dalam 0,5 ml minyak zaitun. Hal ini berarti sebagai berikut:

a. Dosis untuk kelompok P

Pada tikus dengan berat rata-rata 200 g maka dosis per ekor tikus sebesar :

$$200 \text{ g} = 0,2 \text{ kg, maka } 5 \text{ mg/kgBB} \times 0,2 \text{ kg} = 1 \text{ mg (per ekor tikus)}$$

##### 3.7.1.3 Prosedur Pemberian Asap Rokok

Asap rokok digunakan sebagai bentuk paparan radikal bebas. Rokok yang digunakan adalah jenis kretek. Kelompok tikus yang dipapar dimasukkan ke dalam *smoking pump* yang berukuran 50 x 40 x 20 cm. Rokok dinyalakan sebanyak 2 batang/hari dan asap dimasukkan ke



dalam *smoking pump* selama 15 menit. Pemaparan asap rokok dilakukan setiap pagi berturut turut selama 14 hari.

### 3.7.2. Alur Penelitian

- a. Tikus sebanyak 24 ekor, dikelompokkan dalam 4 kelompok. Kelompok 1 (K1) sebagai kontrol normal hanya diberi akuades. Kelompok 2 (K2) sebagai kontrol negatif, diberikan asap rokok sebanyak dua batang/hari. Kelompok 3 (K3) sebagai kontrol positif diberi asap rokok sebanyak dua batang/hari dan selang 2 jam diberi minyak zaitun 0,5 ml/kgbb. Kelompok perlakuan (P) adalah kelompok perlakuan coba dengan asap rokok sebanyak dua batang/hari kemudian selang 2–4 jam dilakukan pemberian *thymoquinone* dosis 5 mg/kgBB. Pemberian asap rokok dan *thymoquinone* diberikan selama 14 hari.
- b. Pada hari ke 15, sebelum dilakukan laparotomi, tikus dianestesi dengan dengan *Ketamin-xylazine* 75-100mg/ kgBB + 5-10 mg/Kg IP lalu dengan menggunakan metode cervical dislocation dengan cara ibu jari dan jari telunjuk ditempatkan di kedua sisi leher di dasar tengkorak . tangan lainnya ditempatkan pada pangkal ekor atau kaki belakang dan dengan cepat ditarik sehingga menyebabkan pemisahan antara tulang leher dan tengkorak.. Selanjutnya dilakukan laparotomi menggunakan pisau bedah dan bantuan pinset . Organ paru diambil dari rongga thorax untuk selanjutnya dicuci dengan larutan NaCl fisiologis 0,9 % agar tidak merusak jaringan .

- c. Dilakukan laparatomi pada tikus dan diambil paru untuk dibuat sediaan mikroskopis dengan metode paraffin dan pewarnaan *Hematoksilin & Eosin*.
- d. Sampel paru difiksasi dengan formalin 10% dan dikirim ke laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk pembuatan sediaan mikroskopis jaringan paru. Pembuatan sediaan akan dikerjakan oleh staff ahli laboratorium.
- e. Metode teknik histopatologi yaitu:
  1. *Fixation*
    - a. Memfiksasi spesimen berupa potongan organ paru yang telah dipilih segera dengan larutan pengawet formalin 10%.
    - b. Mencuci dengan air mengalir.
  2. *Trimming*
    - a. Mengecilkan organ  $\pm 3$  mm.
    - b. Memasukkan potongan organ paru tersebut ke dalam *embedding cassette*.
  3. Dehidrasi
    - a. Menuntaskan air dengan meletakkan *embedding cassette* pada kertas tisu.
    - b. Berturut-turut melakukan perendaman organ paru dalam alkohol bertingkat 80% dan 95% masing-masing selama

2 jam. Selanjutnya dilakukan perendaman alkohol 95%, absolut I, II, III selama 1 jam.

4. *Clearing*

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan clearing dengan *xilol* I, II, III masing-masing selama 1 jam.

5. *Impregnasi*

*Impregnasi* dengan menggunakan paraffin I, II, III masing-masing selama 2 jam.

6. *Embedding*

- a. Membersihkan sisa paraffin yang ada pada pan dengan memanaskan beberapa saat diatas api dan usap dengan kapas.
- b. Menyiapkan paraffin cair dengan memasukkan paraffin ke dalam cangkir logam dan memasukkan ke dalam oven dengan suhu diatas 58<sup>0</sup>C.
- c. Menuangkan paraffin cair ke dalam pan.
- d. Memindahkan satu-persatu dari *embedding cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak satu dengan yang lainnya.
- e. Memasukkan pan ke dalam air.
- f. Melepaskan paraffin yang berisi potongan paru dari pan dengan memasukkan ke dalam suhu 4-6<sup>0</sup> C beberapa saat.

- g. Memotong paraffin sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel hangat.
- h. Meletakkan pada balok kayu, ratakan pinggirnya dan buat ujungnya sedikit meruncing.
- i. Memblok paraffin siap dipotong dengan mikrotom.

#### 7 . *Cutting*

- a. Melakukan pemotongan pada ruangan dingin.
- b. Sebelum memotong, mendinginkan blok terlebih dahulu.
- c. Melakukan pemotongan kasar, dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron.
- d. Memilih lembaran potongan yang paling baik, mengapungkan pada air dan menghilangkan kerutannya dengan cara menekan salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi yang lain ditarik menggunakan kuas runcing.
- e. Memindahkan lembaran jaringan kedalam *waterbath* selama beberapa detik samapai mengembang sempurna.
- f. Dengan gerakan menyendok mengambil lembaran jaringan tersebut dengan *slide* bersih dan menempatkan di tangan atau pada sepertiga atas atau bawah,

mencegah jangan sampai ada gelembung udara dibawah jaringan.

- g. Menempatkan *slide* yang berisi jaringan pada inkubator (suhu 37<sup>0</sup> C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

#### 8. *Staining* (pewarnaan)

dengan *Harris Eosin* Setelah jaringan melekat sempurna pada *slide*, memilih *slide* yang terbaik selanjutnya secara berurutan memasukkan ke dalam zat kimia di bawah ini dengan waktu sebagai berikut. Untuk pewarnaan, zat kimia yang pertama digunakan xilol I, II, III masing-masing selama 5 menit. Kedua, zat kimia yang digunakan alkohol absolut I, II, III masing-masing selama 5 menit. Zat kimia yang ketiga yaitu akuades selama 1 menit. Keempat, potongan organ dimasukkan dalam zat warna *Harris Hematoxylin* selama 20 menit. Kemudian memasukkan potongan organ paru dalam akuades selama 1 menit dengan sedikit menggoyang-goyangkan organ. Keenam, mencelupkan organ dalam asam alkohol 2-3 celupan. Ketujuh, dibersihkan dalam akuades bertingkat masingmasing 1 dan 15 menit. Kedelapan, memasukkan potongan organ dalam eosin selama 2 menit. Kesembilan, secara berurutan memasukkan potongan organ dalam alkohol 96% selama 2 menit, alkohol 96%, alkohol absolut

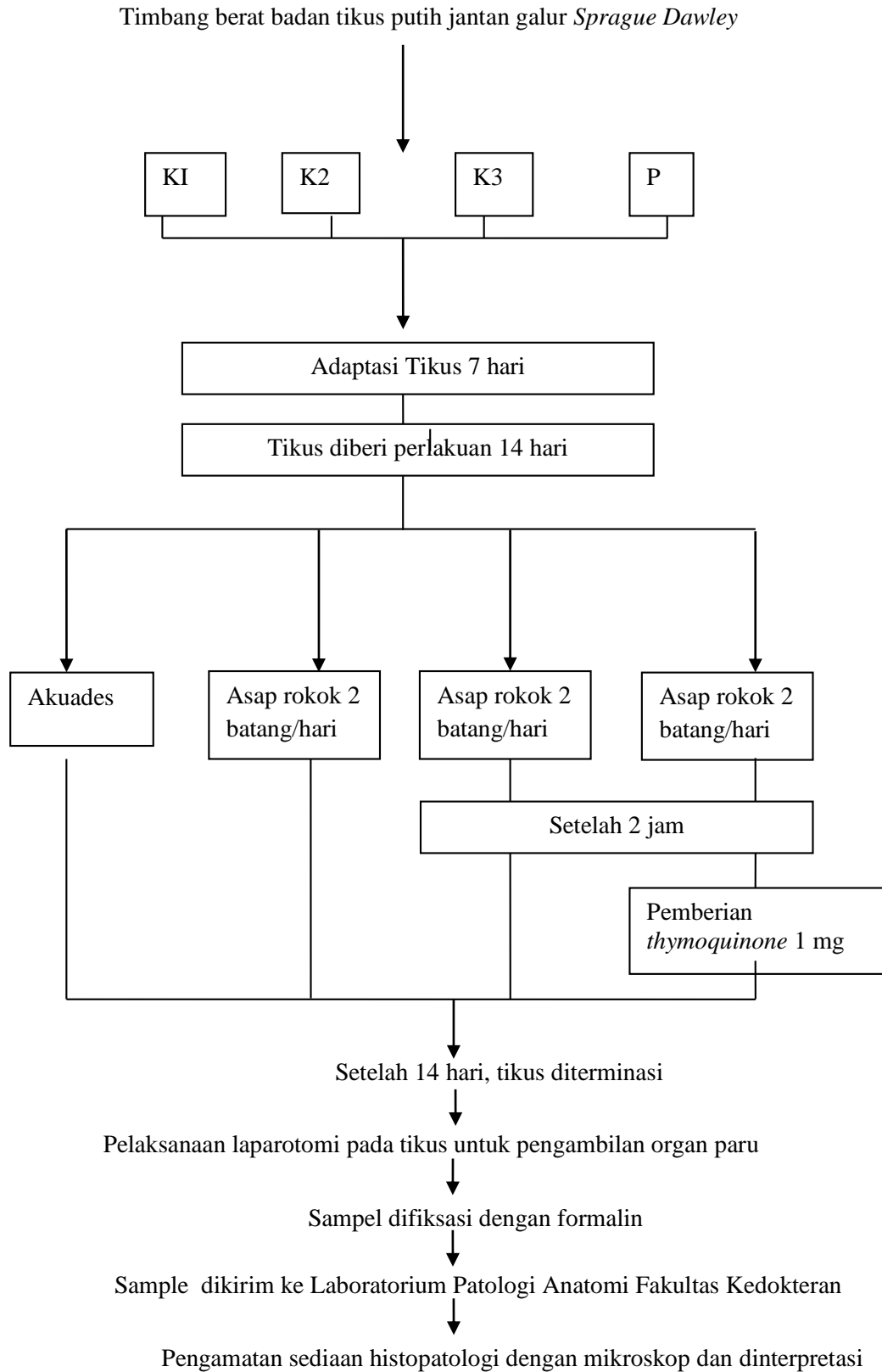
III dan IV masing-masing selama 3 menit. Terakhir memasukkan kedalam xilol IV dan V masingmasing 5 menit.

#### 9. *Mounting*

Setelah pewarnaan selesai menempatkan *slide* diatas kertas tisu pada tempat datar, menetes dengan bahan *mounting* yaitu kanada balsam dan ditutup dengan *cover glass*, cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.

#### 10. Membaca slide dengan mikroskop

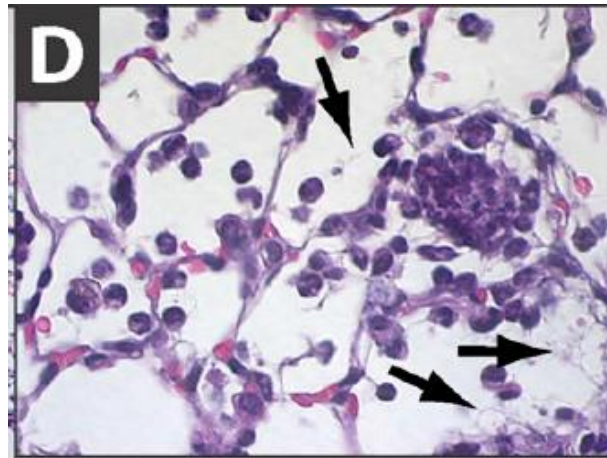
*Slide* diperiksa di bawah mikroskop sinar dengan pembesaran 400x. Metode yang digunakan dalam melihat preparat adalah prosedur *double blinded*. Pada *double-blind*, peneliti maupun pengamat preparat tidak mengetahui apakah preparat yang diperiksa termasuk kelompok intervensi atau kelompok non-intervensi.



**Gambar 9.** Diagram Alur Penelitian

### 3.8. Penilaian Histopatologi Paru

Gambaran histopatologi paru tikus dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya dan dilakukan dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang berdasarkan adanya neutrofil di ruang alveolar, neutrofil di ruang intersitial, dan penebalan septum alveolar (Bello, 2011).



**Gambar 10.** Neutrofil di ruang alveolar (Bello, 2011)

Neutrofil di ruang alveolar

Skor 0 : tidak ada neutrofil yang ditemukan per lapang pandang

Skor 1 : ditemukan 1-5 neutrofil

Skor 2 : lebih dari 5 neutrofil

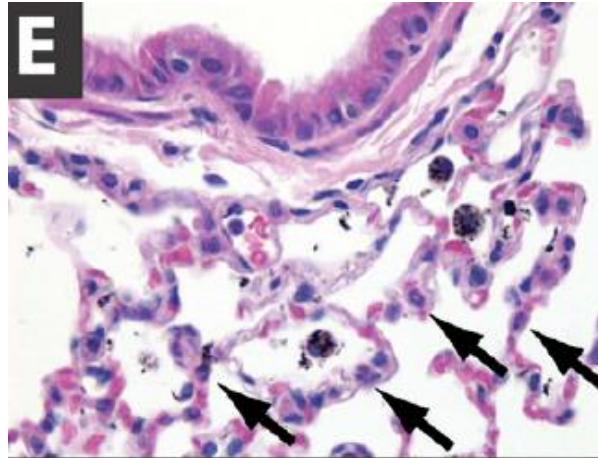
Neutrofil di ruang intersitial

Skor 0 : tidak ada neutrofil yang ditemukan per lapang pandang

Skor 1 : ditemukan 1-5 neutrofil

Skor 2 : lebih dari 5 neutrofil





**Gambar 11.** Penebalan septum alveolar (Bello, 2011)

Penebalan septum alveolar

Skor 0 : penebalan kurang dari dua kali lipat tebal septum normal

Skor 1 : penebalan kurang 2-4 kali lipat tebal septum normal

Skor 2 : penebalan lebih dari 4 kali lipat tebal septum normal

**Tabel 3.** Sistem Penilaian Kerusakan Paru (Bello, 2011)

Parameter	Skor per lapang pandang		
	0	1	2
A. Neutrofil di ruang alveolar	Tidak ada	1-5	>5
B. Neutrofil di ruang intersitial	Tidak ada	1-5	>5
C. Penebalan septum alveolar	<2x	2x-4x	>4x

$$\text{Skor} = [(20 \times A) + (14 \times B) + (7 \times C) / (\text{jumlah lapang pandang} \times 100)]$$

### 3.9. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop diuji analisis statistik menggunakan *software* statistik. Hasil penelitian dianalisis apakah memiliki distribusi normal atau tidak secara statistik dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel  $\leq 50$ . Kemudian, dilakukan uji Levene untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varians yang sama atau tidak. Jika varians data berdistribusi normal dan

homogen, dilanjutkan dengan metode uji parametrik *One Way ANOVA*. Bila tidak memenuhi syarat uji parametrik, digunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis*.

### **3.10. Etika Penelitian**

Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor 5293/UN26.18/PP.05.02/00.2018. Penelitian ini menerapkan prinsip 3R data protokol penelitian, yaitu *replacement, reduction* dan *refinement*.

*Replacement* yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan memanfaatkan hewan dari ordo yang lebih rendah yaitu ordo *Rodentia* dari kelas Mamalia. Penggunaan sel atau biakan jaringan tidak dilakukan karena menurut literatur yang ada penelitian ini tidak dapat digantikan oleh sel atau biakan jaringan. *Reduction* yang dilakukan pada penelitian ini adalah memanfaatkan hewan dalam penelitian sesedikit mungkin, tetapi tetap mendapatkan hasil yang optimal. Jumlah minimum sampel dihitung menggunakan rumus Freederer yaitu  $(n-1)(t-1) > 15$ , dengan n adalah jumlah hewan yang diperlukan dan t adalah jumlah kelompok perlakuan. *Refinement* pada penelitian ini dilakukan dengan memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi, memelihara hewan dengan baik, tidak menyakiti hewan, serta meminimalisasi perlakuan yang menyakitkan sehingga menjamin kesejahteraan hewan coba sampai akhir penelitian. Hewan percobaan dipelihara dalam *Animal House* Fakultas Kedokteran Unila. Hewan ditempatkan dalam kandang plastik 40x20x20 cm<sup>3</sup> dengan pemberian makan dan minum secara teratur setiap hari. Terminasi tikus

dilakukan dengan meminimalisasi rasa sakit yang ditimbulkan. Terminasi diawali dengan pemberian anestesi dengan *Ketamin-xylazine* 75-100mg/kgBB + 5-10 mg/Kg IP lalu dilanjutkan dengan metode *cervical dislocation* sebelum dilakukan laparotomy.

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. Kesimpulan**

Adapun kesimpulan yang didapat dari penelitian ini yaitu :terdapat pengaruh pemberian *thymoquinone* pada paru tikus putih jantan *Ratus novergicus* galur *Sparague dawley* yang dipapar asap rokok berdasarkan gambaran histopatologi

#### **5.2. Saran**

1. Peneliti lain disarankan untuk menguji pengaruh *thymoquinone* terhadap organ lain selain jantung
2. Peneliti lain disarankan untuk menggunakan pelarut lain selain minyak zaitun sesuai dengan literatur yang ada
3. Peneliti disarankan untuk memperhatikan kondisi lingkungan tempat penelitian dilaksanakan agar tikus tidak mengalami stress.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas A, Aster J, Kumar V. 2013. Buku Ajar Patologi Robbins. Edisi 7. Jakarta: EGC.
- Abu Khader MM. 2013. *Thymoquinone* in the clinical treatment of cancer: Fact or fiction. *Pharmacognosy Reviews* 7(14) :117-20.
- Ahmed A, Thliveris A, Shaw A, Sowa M, Gilchrist J, Scott JE. 2013. Cigarette smoke induces apoptosis by activation of caspase-3 in isolated fetal rat lung type II alveolar epithelial cells in vitro. *Open Journal of Respiratory Diseases* (3) : 4–12
- Al-Ali, Alkhawajah, Randhawa, Shaikh. 2008. Oral and intraperitoneal LD50 of *Thymoquinone*, an active principle of *Nigella sativa* in mice and rats. *J Ayub Med Coll.* 20(2). : 25–7.
- Ali SA, Asghar F, Nafees M, Tayyab M. 2012. Effect of *Nigella Sativa* ( Kalonji) on serum lipid profile. *ANNALS.* 18(2) : 224–8.
- Balamash KS, Alkreathy HM, Al Gahdali EH, Khoja SO, Ahmad A. 2018. Comparative biochemical and histopathological studies on the efficacy of metformin and virgin olive oil against streptozotocin- induced diabetes in Sprague-Dawley Rats. *J Diabetes Res.* 29(15) : 3106-6.
- Balhara J, Gounni As. 2012. The alveolar mechrophage in asthma a double edged sword. *mucosal immunology.* 5(6): 605-9.
- Banerjee S, Padhye S , Azmi A, Wang Z, Kong D, Mussop M *et al.* 2009. Antitumor activity of gemcitabine and oxaliplatin is augmented by *Thymoquinone* in pancreatic cancer. *J Can Res Ther .* 69(13) : 5575–83.
- Banerjee S, Padhye S, Azmi A, Wang Z, Philip A, Kucuk O *et al.* 2015. Review on molecular and therapeutic potential of *thymoquinone* in cancer. *NIH Public Access.* 27(3) : 320–31.
- Barnawi, J, Tran HB, Roscioli E, Hodge G, Jersmann H, Haberberger R *et al.* 2016. Pro-phagocytic effects of Thymoquinone on cigarette smoke-exposed macrophages occur by modulation of the sphingosine-1-phosphate signalling System. *Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease.* 13 (5) : 653-61.

- Bello MG, Downey G, Moore BB, Groshong SD, Matthay MA, Slutsky AS *et al.* 2011. "An official american thoracic society workshop report : Features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am J Resp Cell Mol Biol.* 44 : 725–38.
- Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense . 2012. *World Allergy Organ J.* 5 (1) : 9-19
- Chiu CW, Kumar AP, Sethi G, Huat K, Tan B. 2012. *Thymoquinone* : Potential cure for inflammatory disorders and cancer. *Biochemical Pharmacology.* 83(4) : 443–51.
- Debicka MG, Przychodzen P, Cappello F, Jankowska AK, Gammazza AM, Knap N *et al.* Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols. *J MOL SCI.* 19 (547) : 1-13.
- Drope J, Eriksen M, Schlunger N, Farhad I *et al.* 2014. *The Tobacco Atlas Fifth edition.* USA: American Cancer Society.
- Doz E, Noulin N, Boichot E, Gue´non I, Fick L, Le BM *et al.* 2008. Cigarette smoke-induced pulmonary inflammation is TLR4/MyD88 and IL-1R1/MyD88 signaling dependent. *J Immunol.* 180(2) : 1169–78.
- El Gazzar M, El Mezayen R, Marecki JC, Nicolls MR, Canastar A, Dreskin SC 2006. Anti-inflammatory effect of thymoquinone in mouse model of allergic lung inflammation. *Int J Immunopharmacol.* 6 (7) : 1135-42.
- Eroschenko VP .2010. *Atlas Histologi D’Fiore.* Jakarta: EGC.
- Fakultas Kedokteran Hewan UGM .2006. *Tikus laboratorium.* Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Fabbri L, Hogg JC, Jenkins C, Mogilnicka EN, Sullivan S *et al.* 2006. *Global initiative for chronic obstructive lung disease.* Portland: MCR Vision Inc.
- Fezai M, Senovilla L, Jemma M, Attia MB. 2013. Analgesic, anti-Inflammatory and anticancer activities of extra virgin olive oil. *J. Lipid Res* : 1-6.
- Gholamnezhad Z, Havakhah S, Boskabady MH. 2016. Preclinical and clinical effects of *Nigella Sativa* and its constituent, *thymoquinone*: A review. *J Ethnopharmacol.* 22 (190) :372-86
- Hossen MJ, Yang WS, Kim D, Ravinthan A, Kim JH dan Cho JY. 2017. *Thymoquinone* : An IRAK1 inhibitor with in vivo and in vitro anti-inflammatory activities. *Sci Rep.* 20 (7) : 1–12.

- Islam MT, Sultan N, Riaz TA, Ferdous J, Guha B, Mohagon S *et al.* 2016. *Thymoquinone* is knocking at the door of clinical trial. *International Archives of Medicine* . 9 (122) : 1-25.
- Isroi. 2010. Biologi rat (*Rattus norvegicus*). Diakses pada : <http://isroi.wordpress.com>. (Pada tanggal: 1 January 2018)
- Jain DP, Pancholi SS, Patel R. 2011. Synergistic antioxidant activity of green tea with some herbs. *J Adv Pharm Technol Res*. 2(3): 177–83.
- Khader M & Petter M.E. 2014. *Thymoquinone* : An emerging natural drug with a wide range of medical application. *Iran J Basic Med Sci* . (17) : 950–7.
- Lee J, Taneja V, Vassallo R. 2012. Cigarette smoking and inflammation. *J Dent Res*. 91(2): 142–9
- Meiliana. 2018. *Extra virgin olive oil* Menurunkan Kadar MDA (Malondialdehyde) Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Wistar* yang Dipapar Asap Rokok. *Intisari Sains Medis*. 8 (2): 97-101
- Mescher, AL. 2016. *Histology Dasar Junqueira : Teks dan Atlas*. Edisi 12. Jakarta: EGC.
- Moore KL.& Anne M.R. 2010. *Anatomi Klinis Dasar*. Jakarta: Hipokrates.
- Paulsen, F & Waschke, J. 2015. *Sobotta : Atlas Anatomi Manusia*. Edisi 23. Jakarta: EGC.
- Ramaniya K. 2009. Skripsi : Pengaruh Pemberian Teh Hijau (*Cammelia sinensis*) Terhadap Kerusakan Struktur Histologis Alveolus Paru Mencit yang Dipapar Asap Rokok. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta
- Rosillo MA, Alcaraza MJ, Hidalgo MS, Ferrandiz ML, Fernandez-Bolanos JG, Alarcon-de-la-Lastra C. Anti-inflammatory And Joint Protective Effects of Extra-Virgin Olive-Oil Polyphenol Extract in Experimental Arthritis. *Journal of Nutritional Biochemistry* 25 (2014) 1275–81.
- Snell RS. 2008. *Anatomi Klinis Berdasar Sistem*. Jakarta: EGC.
- Sriwahyuni E, Faradina RQ, Anita YK. 2010. Black Seed (*Nigella Sativa*) Extract Prevent The Thickening of Bronchus and Increase The Circumference Of Bronchial Lumen in Asthma Model Mice. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 26(1) : 37–42.
- Shraideh Z, Badran DH. Al-Awaida W. 2013. Effects of cigarette smoking on histology of trachea and lungs of albino rat. *Res. Opin. Anim. Vet. Sci*. 3(10) : 356-62.

- Solati Z, Baharin BS, Bagheri H. 2014. Antioxidant property, thymoquinone content and chemical characteristics of different extracts from *Nigella sativa* L. seeds. *J Am Oil Chem Soc* . 91(2) : 295-300
- Tan WC & Tze P.2008. COPD in Asia : Where East Meets West. *CHEST*. The American College of Chest Physicians, 133(2) : 517–27.
- Tanuwihardja RK dan Susanto AD. 2012. Rokok Elektronik (Electronic Cigarette). *Jurnal Respirasi Indonesia*. 32(1) : 53–61.
- Talhout R, Schulz T, Flore E, Benthem JV, Wester P, Opperhuizen . 2011. Hazardous Compounds in Tobacco Smoke. *Int J Environ Res Public Health*. 8(2) : 613–28
- Tirtosastro S dan Murdiyati AS . 2010. Kandungan Kimia Tembakau dan Rokok. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*. 2(1) : 33–43.
- Tortora GJ & Derrickson B. 2012. *Principles of Anatomy and Physiology*. Edisi 5. United States of America: John Wiley & Sons, Inc.
- Umar S, Hedaya O, Singh AK, Ahmed S. 2015. *Thymoquinone* inhibits TNF- $\alpha$ -induced inflammation and cell adhesion in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by ASK1 regulation. *Toxicol Appl Pharmacol*.287(3) : 299–305.
- U.S Departement of Health and Human Services. 2010. *How Tobacco Smoke Causes Disease : The Biology and Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease*. USA.
- Wahyuni, S. 2009. Peluang Budidaya dan Manfaat Jintan Hitam (*Nigella sativa*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*.15 (1) : 23-25.