PENGARUH EKSTRAK TEH HIJAU (Cammelia sinensis) TERHADAP KERUSAKAN STRUKTUR HISTOPATOLOGI JANTUNG TIKUS PUTIH (Rattus norvegicus) JANTAN GALUR Sprague dawley YANG DI PAPAR UAP ROKOK ELEKTRIK

Oleh

INA RENDAYU



FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS LAMPUNG BANDAR LAMPUNG 2019

PENGARUH EKSTRAK TEH HIJAU (Cammelia sinensis) TERHADAP KERUSAKAN STRUKTUR HISTOPATOLOGI JANTUNG TIKUS PUTIH (Rattus norvegicus) JANTAN GALUR Sprague dawley YANG DI PAPAR UAP ROKOK ELEKTRIK

Oleh

Ina Rendayu

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar SARJANA KEDOKTERAN

Pada

Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019

ABSTRACT

THE EFFECT OF GREEN TEA EXTRACTS (Cammelia sinensis) ON DAMAGE OF MYOCARDIUM HISTOPATHOLOGY STRUCTURE IN MALE SPRAGUE DAWLEY RATS EXPOSED BY ELECTRIC CIGARETTE VAPOR

$\mathbf{B}\mathbf{v}$

INA RENDAYU

Introduction: Smoking habit is associated with high mortality rates. Indonesia is ranked as the fifth highest total cigarette consumption worldwide. Currently a method of smoking cessation is Nicotine Replacement Therapy (NRT) using electric cigarettes. Substances contained in electric cigarettes still have detrimental effects on body organs (including heart) through free radicals formation. Green tea is one of plants that has an antioxidant effect.

Objective: This study aimed to determine the effect of green tea extract on damage of myocardium histopathology structure in male Sprague dawley rats exposed to electric cigarette vapor.

Method: This research was an experimental study with a real experimental design method approach. Thirty rats were divided into six groups (negative control with aquadest (K1), positive control with electric cigarette vapor (K2) and conventional cigarette vapor (K3), and three treatment groups with green tea extract dosage of 50 mg / kg BB (P1), 100 mg / kg BB (P2) and 200 mg / kg BB (P3)).

Results: The results showed that myocardial structure damage due to exposure to electric vapor was almost the same as conventional cigarettes. Administration of green tea extract did not affect myocardium histopathology structure in white rats exposed electric cigarette vapor.

Conclusion: There was no effect of green tea extract on damage of myocardium histopathology structure in male Sprague Dawley rats exposed to electric cigarette vapor.

Key word: Antioxidant, electric cigarette, green tea, histopathology, myocardium.

ABSTRAK

PENGARUH EKSTRAK TEH HIJAU (Cammelia sinensis) TERHADAP KERUSAKAN STRUKTUR HISTOPATOLOGI JANTUNG TIKUS PUTIH (Rattus norvegicus) JANTAN GALUR Sprague dawley YANG DI PAPAR UAP ROKOK ELEKTRIK

Oleh

INA RENDAYU

Latar Belakang: Kebiasaan merokok berhubungan dengan tingkat kematian yang tinggi. Indonesia menempati peringkat lima total konsumsi rokok tertinggi di dunia. Saat ini salah satu metode menghentikan kebiasaan merokok adalah *Nicotine Replacement Therapy* (NRT) menggunakan rokok elektrik. Zat yang terkandung dalam rokok elektrik tetap memiliki efek merugikan bagi organ tubuh (termasuk jantung) melalui pembentukan radikal bebas. Salah satu tanaman yang memiliki efek antioksidan adalah teh hijau.

Tujuan: Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang di papar uap rokok elektrik.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan metode rancangan eksperimen sungguhan. Tiga puluh ekor tikus dibagi dalam enam kelompok (kontrol negatif dengan pemberian akuades (K1), kontrol positif dengan pemberian uap rokok elektrik (K2) dan uap rokok konvensional (K3), dan tiga kelompok perlakuan dengan dosis ekstrak teh hijau 50 mg/kg BB (P1), 100 mg/kg BB (P2) dan 200 mg/kg BB (P3)).

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan kerusakan struktur miokardium tikus putih akibat paparan uap rokok elektrik hampir sama dengan rokok konvensional. Pemberian ekstrak teh hijau tidak berpengaruh terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih yang diberikan paparan uap rokok elektrik.

Kesimpulan: Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diberikan paparan uap rokok elektrik.

Kata kunci: Antioksidan, histopatologi, miokardium, rokok elektrik, teh hijau.

Judul Skripsi

PENGARUH EKSTRAK TEH HIJAU (Cammelia sinensis) TERHADAP KERUSAKAN STRUKTUR -HISTOPATOLOGI _JANTUNG TIKUS PUTIH (Rattus norvegicus) JANTAN GALUR Sprague dawley YANG DI PAPAR UAP ROKOK ELEKTRIK

Vama AS

: Ina Rendayu

NOMOL POKOK Manasis

: 1418011106

Program Studi

: Pendidikan Dokter

Fakultas

: Kedokteran

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc NIP 19780805200501 2 003 dr. Rani Himayani, S.Ked., Sp.M NIP 19831225200912 2 004

Dekan Falkultas Kedokteran

Dyah Wulan S.R.W., SKM., M.Ke

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

: dr. Rani Himayani, S.Ked., Sp.M

Penguji

Bukan Pembimbing: dr. Waluyo Rudiyanto, S.Ked., M.Kes

Fakultas Kedokteran

ulan S.R.W., SKM., M.Kes

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

- 1. Skripsi dengan judul "PENGARUH EKSTRAK TEH HIJAU (Cammelia sinensis) TERHADAP KERUSAKAN STRUKTUR HISTOPATOLOGI JANTUNG TIKUS PUTIH (Rattus norvegicus) JANTAN GALUR Sprague dawley YANG DI PAPAR UAP ROKOK ELEKTRIK" adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis orang lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarism.
- Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

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

Bandarlampung, 15 Juli 2019

Pembuat pernyataan

TERAI

A2A43AFF931349913412

EVAM RIBURUPIAH

INA RENDAYU

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Tanjung Pandan pada 21 Juli 1995, sebagai anak kedua dari empat bersaudara, dari Bapak H. Harahab, SH dan Ibu Hj. Rita, SE.

Pendidikan Taman Kanak (TK) diselesaikan di TK Baitul A'la Lubuklinggau pada tahun 2001. Pendidikan Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SDi Baitul A'la Lubuklinggau pada tahun 2007, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMPN 2 Lubuklinggau diselesaikan pada tahun 2010, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 1 Lubuklinggau diselesaikan pada tahun 2013.

Pada tahun 2014, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung (FK Unila) melalui jalur masuk Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negri (SBMPTN).

Jadisah orang yang bermanfaat.

Jika tidak bisa, jadilah orang yang menyenangkan,

Jika tidak bisa juga,

minimal jadilah orang yang tidak merugikan

Saat hari tersulitmu hadir

Ingatlah bahwa..

Dulu hari seperti itu juga pernah datang

Dan Allah selalu membantumu

Melewati segalanya

SANWACANA

Alhamdulillahi robbil'alamiin segala puji dan syukur kepada Allah SWT, berkat rahmat, petunjuk, nikmat, sehat dan limpahan kasih sayangnya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada baginda besar Nabi Muhammad SAW yang dinantikan safaatnya di akhirat kelak.

Skripsi penulis dengan judul "Pengaruh Ekstrak Teh Hijau (*Cammelia Sinensis*) Terhadap Kerusakan Struktur Histopatologi Jantung Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jantan Galur *Sprague Dawley* Yang Di Papar Uap Rokok Elektrik" ini, merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini, izinkan penulis mengucapkan terimakasih kepada :

- 1. Untuk yang teristimewa dan tercinta Mama (Hj. Rita, SE) dan Papa (H. Harahab, SH) yang selalu mendoakan setiap waktu, menguatkan, dan memberi motivasi yang luar biasa. Terimakasih untuk kesabaran, keikhlasannya, kasih sayang, dan segala sesuatu yang telah diberikan kepada kakak hingga saat ini. Semoga Allah SWT selalu memberikan rahmat-Nya dunia dan akhirat bagi Mama dan Pama dan keluarga penulis.
- 2. Abang (M. Ganda Mauri, SE) yang telah memberikan dukungan dan kasih sayangnya dalam menyelesaikan studi dan skripsi penulis.

- Adik-adik kesayangan kakak, Muhammad Hafizhan dan Khansa Sabiha Azzahra, semoga dengan ini kakak bisa memberikan contoh yang baik untuk kalian tiru. Semangat untuk membanggakan papa dan mama semoga kalian selalu sukses.
- 4. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung.
- 5. Dr. Dyah Wulan S.R.W., SKM., M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- 6. Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc., selaku Pembimbing Utama skripsi saya atas kesediaannya dalam meluangkan waktu disela-sela kesibukannya untuk memberikan bimbingan, ilmu, kritik, saran, nasehat, motivasi, dan bantuannya bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
- 7. dr. Rani Himayani, S.Ked., Sp.M., selaku Pembimbing Pendamping skripsi saya atas kesediaannya dalam meluangkan waktu disela-sela kesibukannya untuk memberikan bimbingan, ilmu, kritik, saran, nasehat, motivasi, dan bantuannya bagi penulis untuk menyelesaikan proposal skripsi ini.
- 8. dr. Waluyo Rudiyanto, M.Kes., selaku dosen penguji skripsi yang juga telah banyak memberikan masukan dan saran selama penulisan skripsi ini.
- 9. dr. Fitria Saftarina, S.Ked., M.Sc., selaku pembimbing akademik penulis.
- 10. Keluarga besar penulis yang selalu memberikan dukungan dan motivasi.
- 11. Sahabat terbaik dan tersayang, Ardi Riyansa, S.Ab., yang selalu memberikan semangat, nasihat, doa, bantuan, selalu sabar dan selalu mendengar keluh kesahku dalam menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih telah mau berbagi suka dan duka bersama. Semoga semua harapan kita dipermudah oleh Allah SWT.

12. Sahabat-sahabatku, Adinda Ayu Lintang Suri, Andria Novita Sari, Putu Arya

Laksmi Amrita Kirana yang selalu memberikan semangat dan motivasi serta

canda tawa selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran ini.

13. Teman-teman penelitianku, Ni Putu Sari W dan Ahmad Syah Putra yang telah

banyak membantu dalam melakukan penelitian.

14. Teruntuk Mustopa, Surya, Oka dan teman-teman "KONAY" lainnya yang

telah banyak membantu dalam penelitian serta Alrie Mahendra, S.T., yang

telah membantu memberikan motivasi, biaya dan pikirannya dalam

menyelesaikan skripsi ini.

15. Teman-teman sejawatku, Kurnia Ningrum, Sari, Arba, Elma, Ica, Ani, Dea,

Dimas "macan" dan teman-teman "Kantin Uye" yang telah membantu dan

memberikan canda tawa selama masa perkuliahan.

16. Seluruh jajaran staf, dosen dan karyawan FK Unila.

17. Teman sejawat FK Unila angkatan 2014 (CRAN14L).

18. Semua pihak yang terlibat dalam pembuatan skripsi ini, yang tidak dapat

disebutkan satu persatu.

Bandar Lampung, 15 Juli 2019

Penulis

Ina Rendayu

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Manfaat Penelitian	
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Rokok	6
2.1.1 Definisi Rokok	
2.1.2 Kandungan Rokok	
2.1.3 Rokok Elektrik	
2.2 Dampak Rokok Terhadap Jantung	
2.3 The Hijau	
2.4 Radikal Bebas dan Antioksidan	
2.4.1 Radikal Bebas	
2.4.2 Antioksidan	
2.5 Interaksi Antioksidan dalam The hijau dengan Asap Rokok	
2.6 Histologi Jantung	
2.7 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) galur <i>Sprague dawley</i>	
2.8 Kerangka Teori	
2.9 Kerangka Konsep	
2.10 Hipotesis	
BAB III METODE PENELITIAN	
	20
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	
3.3 Populasi dan Sampel	
3.3.1 Kriteria Inklusi	
3.3.2 Kriteria Eksklusi	
3.4 Bahan dan Alat Penelitian	22

	3.4.1 Bahan Penelitian	22
	3.4.2 Alat Penelitian	23
3.5	Prosedur Penelitian	23
	3.5.1 Prosedur Perlakuan	23
	3.5.2 <i>Fixation</i>	26
	3.5.3 <i>Trimming</i>	
	3.5.4 Clearing	
	3.5.5 <i>Impregnasi</i>	
	3.5.6 <i>Embedding</i>	
	3.5.7 <i>Cutting</i>	
	3.5.8 Pewarnaan dengan <i>Harris Hematoxylin Eosin</i>	
	3.5.9 <i>Mounting</i>	
	3.5.10 Baca slide dengan mikroskop	
3.6	Diagram Alur Penelitian	
3.7	Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional	31
	3.7.1 Identifikasi Variabel	
	3.7.2 Definisi Operasional	
3.8	Analisis Data	
3.9	Etika Penelitian	33
RAR IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	
	Hasil Penelitian	34
	4.1.1 Gambaran Histopatologi Jantung Tikus	
	4.1.2 Analisis Data	
4.2	Pembahasan	
	Keterbatasan Penelitian	
DAD W	KESIMPULAN DAN SARAN	
	Kesimpulan	17
	Saran	
3.2	Saran	4/
DAFTA	AR PUSTAKA	

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Ta	bel	Halaman
1.	Definisi Operasional	32
2.	Hasil Rerata Kerusakan Struktur Histopatologis Miokardium Tiap Kelompok	39
3.	Hasil Uji Mann-Whitney antar Kelompok Perlakuan	40

DAFTAR GAMBAR

Ga	mbar Halam	ıan
1.	Struktur Dasar Rokok Elektrik (Electronic Cigarette Association, 2009)	7
2.	Sistem Kardiovaskular (Junqueira dan Carneiro, 2011).	15
3.	Tikus Rattus norvegicus galur Sprague dawley (Estina, 2010)	16
4.	Kerangka Teori Pengaruh Ekstrak Teh Hijau Terhadap Sruktur Histologis Jantung Tikus Yang di papar Uap Rokok Elektrik.	18
5.	Kerangka Konsep	19
6.	Diagram Alur Penelitian Pengaruh ekstrak teh hijau terhadap struktur histopatologi jantung tikus yang di papar uap rokok elektrik	30
7.	Gambaran histopatologis miokardium tikus kelompok K1 (potongan melintang dengan perbesaran 400x). Keterangan panah hitam inti sel, panah kuning sel myocardium normal.	35
8.	Gambaran histopatologis miokardium tikus kelompok K2 (potongan melintang dengan perbesaran 400x). Keterangan panah hitam sebukan sel radang.	36
9.	Gambaran histopatologis miokardium tikus kelompok K3 (potongan melintang dengan perbesaran 400x). Keterangan panah hitam sebukan sel radang.	36
10.	Gambaran histopatologis miokardium tikus kelompok P1 (potongan melintang dengan perbesaran 400x). Keterangan panah hitam sebukan sel radang.	37
11.	Gambaran histopatologis miokardium tikus kelompok P2 (potongan melintang dengan perbesaran 400x). Keterangan panah hitam sebukan sel radang.	37
12.	Gambaran histopatologis miokardium tikus kelompok P3 (potongan melintang dengan perbesaran 400x). Keterangan panah hitam sebukan sel radang	38

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Rokok menjadi fenomena yang menarik karena selain dampaknya sebagai salah satu masalah kesehatan dengan tingkat kematian yang cukup tinggi, hampir enam juta orang per tahun dengan komposisi lebih dari lima juta kematian merupakan hasil dari penggunaan rokok langsung. Sedangkan lebih dari enam ratus ribu kematian sisanya adalah hasil dari non perokok yang terpapar perokok (tidak langsung) (WHO, 2015).

Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO), total konsumsi rokok di dunia sebesar 2,680 miliar batang per tahun. Indonesia menempati posisi ke lima tertinggi di dunia setelah Cina, Amerika Serikat, Jepang, dan Rusia dengan total mencapai 260 miliar batang rokok pada tahun 2009 (WHO, 2015). Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar tahun 2013, perilaku merokok penduduk 15 tahun keatas masih belum terjadi penurunan dari 2007 ke 2013, cenderung meningkat dari 34,2% pada tahun 2007 menjadi 36,3% pada tahun 2013, yaitu 64,9% laki-laki dan 2,1% perempuan. Rata-rata jumlah batang rokok yang dihisap adalah sekitar 12,3 batang rokok per hari. Proporsi terbanyak perokok aktif setiap hari pada umur 30 - 34 tahun sebesar 33,4% (Kemenkes RI, 2013).

Menurut WHO, pada akhir abad ini rokok akan membunuh lebih dari satu miliar orang jika tidak ada usaha untuk menanggulanginya. Oleh karena itu, WHO membentuk WHO *Framework Convention on Tobacco Control* (WHO-FCTC) menyediakan solusi untuk masalah epidemi tembakau yang telah mendunia. Hingga saat ini, WHO terus mendorong masyarakat agar berhenti merokok untuk mengurangi bahaya tembakau dengan berbagai metode, salah satunya adalah menggunakan *Nicotine Replacement Therapy* (NRT) atau terapi pengganti nikotin (William dkk., 2010).

Media untuk memberikan nikotin yang diperlukan oleh perokok tanpa pembakaran tembakau yang merugikan merupakan metode dari NRT. Walaupun NRT hanya ditujukan untuk menghilangkan pembakaran tembakau dan sebagai sarana alternatif pemberian nikotin tetapi pada prakteknya sering dipakai sebagai alat bantu dalam program berhenti merokok (*smoking cessation program*) untuk mencegah *withdrawal effect nicotine* dengan cara menurunkan dosis nikotin secara bertahap. Terdapat beberapa macam NRT, salah satunya yaitu rokok elektrik. Rokok elektrik merupakan salah satu NRT yang menggunakan listrik dari tenaga baterai untuk memberikan nikotin dalam bentuk uap dan oleh WHO disebut sebagai *electronic nicotine delivery system* (ENDS) (WHO, 2014).

German Cancer Research Center pada tahun 2014, menemukan zat-zat beracun lainnya yang terkandung dalam cairan ENDS antara lain, zat beracun terhadap sel tubuh dengan kadar menengah hingga tinggi dari zat pemberi rasa, nitrosamin, logam beracun seperti kadmium, nikel dan timbal, karbonils

(formaldehida, asetaldehid dan akrolein) yang juga bersifat karsinogenik. Walaupun ENDS tidak mengeluarkan asap bukan berarti produk ini tidak berbahaya untuk orang lain, efek terhadap orang lain (second hand smoke) tetap ada mengingat penggunaan ENDS menghasilkan emisi partikel halus nikotin dan zat-zat berbahaya lain ke udara di ruang tertutup (American Industrial Hygiene Association (AIHA), 2014).

Radikal bebas yang dihasilkan uap rokok elektrik berdifusi ke dalam pembuluh darah melalui alveoli. Radikal bebas yang telah berdifusi kemudian berikatan dengan hemoglobin (Hb) dan siap diangkut ke seluruh tubuh, salah satunya organ jantung melalui arteri koronaria. Arteri koronaria berperan sebagai penyuplai nutrisi bagi organ jantung. Namun, pada keadaan stres oksidatif, radikal bebas akan masuk bersama komponen darah ke dalam organ jantung dan berakumulasi di dalam jaringan jantung (Palyoga dkk, 2014).

Berdasarkan fakta-fakta di atas, mulai menimbulkan kesadaran banyak orang akan bahaya yang ditimbulkan oleh asap rokok. Telah banyak dilakukan penelitian tentang tanaman herbal yang mampu menangkal oksidan yang dihasilkan asap rokok. Teh hijau menjadi salah satu penelitian mengenai tanaman herbal yang berkhasiat mengurangi bahaya asap rokok. Kebiasaan minum teh bagi penduduk dunia merupakan tradisi turun temurun yang berkhasiat bagi kesehatan. Teh hijau diperoleh dari daun teh yang tidak difermentasikan sehingga kandungan polifenolnya lebih banyak daripada teh hitam (Tuminah, 2004).

Penelitian kedokteran modern saat ini menegaskan khasiat teh terutama teh hijau sebagai anti inflamasi, anti karsinogenesis, dan anti proliferasi. Hal ini disebabkan dalam teh hijau mengandung unsur aktif antioksidan katekin yang memiliki spektrum luas. Kemampuan katekin teh hijau dalam menangkap radikal bebas 100 kali lebih efektif daripada vitamin C dan 25 kali lebih efektif daripada vitamin E (Vega dkk, 2007). Pada penelitian yang dilakukan oleh Kirana (2009) menyatakan bahwa *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) adalah polifenol terbanyak dalam teh hijau yang dapat mengurangi terjadinya stres oksidatif dan mencegah kerusakan struktur histologis alveolus paru mencit yang disebabkan oleh paparan asap rokok.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh teh hijau terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih yang terpapar uap rokok elektrik dengan cara membandingkan struktur jantung tikus putih yang terpapar uap rokok elektrik yang diberi perlindungan ekstrak teh hijau dan yang tidak diberi perlindungan ekstrak teh hijau.

1.2. Rumusan Masalah

- 1. Apakah terdapat pengaruh pemberian uap rokok elektrik terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih?
- 2. Apakah terdapat pengaruh pemberian asap rokok konvensional terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih?
- 3. Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang di papar uap rokok elektrik?

1.3. Tujuan Penelitian

- Mengetahui pengaruh pemberian uap rokok elektrik terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih.
- 2. Mengetahui pengaruh pemberian asap rokok konvensional terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih.
- 3. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang di papar uap rokok elektrik.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai tata cara penulisan karya ilmiah yang baik serta mengetahui pengaruh pemberian teh hijau sebagai antioksidan terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang terpapar uap rokok elektrik.
- 2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa informasi mengenai pengaruh ekstrak teh hijau sebagai anti oksidan yang berfungsi untuk menangkal radikal bebas yang terdapat dalam uap rokok elektrik.
- 3. Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat bagi peneliti lain sebagai gambaran dalam melakukan penelitian yang lebih lanjut dan mendalam lagi mengenai manfaat dari ekstrak teh hijau sebagai anti oksidan yang mempunyai efek proteksi terhadap kerusakan struktur histopatologi jantung.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rokok

2.1.1 Definisi Rokok

Rokok adalah hasil olahan tembakau yang terbungkus, dihasilkan dari tanaman *Nicotiana Tabacum, Nicotiana Rustica* dan spesies lainnya atau sintetisnya yang mengandung nikotin dan tar dengan atau tanpa bahan tambahan (Heryani, 2014).

2.1.2 Kandungan Rokok

Menurut Muhibah (2011) racun rokok yang paling utama adalah:

1. Nikotin

Nikotin dapat meningkatkan adrenalin yang membuat jantung berdebar lebih cepat dan bekerja lebih keras. Frekuensi dan kontraksi jantung meningkat sehingga menimbulkan tekanan darah meningkat (Tawbariah dkk, 2014).

2. Tar

Tar adalah substansi hidrokarbon yang bersifat lengket dan menempel pada paru-paru, mengandung bahan-bahan karsinogen (Mardjun, 2012).

3. Karbon monoksida (CO)

Merupakan gas berbahaya yang terkandung dalam asap rokok. CO menggantikan 15% oksigen yang seharusnya dibawa oleh sel-sel darah merah. CO juga dapat merusak lapisan dalam pembuluh darah dan meninggikan endapan lemak pada dinding pembuluh darah menyebabkan pembuluh darah tersumbat (Muhibah, 2011).

2.1.3 Rokok Elektrik

Rokok elektrik atau rokok elektrik diciptakan oleh salah satu perusahaan di Cina pada tahun 2003 dan dengan cepat menyebar ke seluruh dunia dengan berbagai nama dagang seperti *NJOY*, *Epuffer*, *blu cig*, *green smoke*, *smoking everywhere*, dan lain-lain. Secara umum sebuah rokok elektrik terdiri dari 3 bagian yaitu *battery* (bagian yang berisi baterai), *atomizer* (bagian yang memanaskan dan menguapkan larutan nikotin) dan *catridge* (berisi larutan nikotin) (*Electronic Cigarette Association*, 2009).



Gambar 1. Struktur Dasar Rokok Elektrik (*Electronic Cigarette Association*, 2009).

Terdapat lebih dari 460 nama dagang produk ENDS dengan lebih dari 7.700 rasa (Zhu dkk, 2014). Produk yang dapat diisi ulang dan dibuang merupakan generasi pertama *electronic cigarette*, sedangkan sistem tangki dan personal vaporizer merupakan generasi kedua dan ketiga *electronic cigarette* (Zhu dkk, 2014). Rokok elektrik juga pernah digunakan sebagai alat bantu program berhenti merokok dengan cara mengurangi kadar nikotin secara bertahap namun praktek tersebut kini sudah tidak dianjurkan oleh *electronic cigarette association* (ECA) dan *food and drug association* (FDA) (Cobb dkk., 2010).

Telah banyak pengguna rokok elektrik dimasyarakat tanpa tersedianya data obyektif yang cukup membuat FDA di Amerika memprakarsai sebuah penelitian pada tahun 2009 tentang rokok elektrik. Penelitian tersebut menyatakan bahwa rokok elektrik mengandung *Tobacco Spesifik Nitrosamin* (TSNA) yang bersifat toksik dan *Diethylene Glycol* (DEG) yang dikenal sebagai karsinogen. Hal tersebut membuat FDA mengeluarkan peringatan kepada masyarakat tentang bahaya zat toksik dan karsinogen yang terkandung dalam rokok elektrik sehingga mengakibatkan pembatasan distribusi dan penjualan rokok elektrik di Amerika dan beberapa negara lain (Etter, 2010).

2.2 Dampak Rokok Terhadap Jantung

Dalam sistem kardiovaskular, merokok menjadi faktor utama penyebab penyakit pembuluh darah jantung. Bukan hanya menyebabkan penyakit jantung koroner, merokok juga mempunyai akibat buruk bagi pembuluh darah otak dan perifer. Rokok mengandung nikotin, tar, dan karbon monoksida (CO) yang mengganggu kestabilan oksidan dan antioksidan di dalam tubuh (Palyoga dkk, 2014). Menurut Oktavianis (2011), nikotin akan merangsang hormon adrenalin sehingga menyebabkan naiknya kerja jantung, tar menyebabkan peningkatan terjadinya resiko kanker, sedangkan karbon monoksida menyebabkan kurangnya *supply* oksigen bagi tubuh. Karbon monoksida (CO) merupakan sekelompok senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan atau disebut sebagai radikal bebas. Merokok dapat meningkatkan pelepasan asam lemak bebas dari jaringan adiposa sekitar 77% (Benowitz dkk, 2012). Asam lemak bebas ini umumnya akan diambil oleh hati dan diekspektasikan dalam sirkulasi dengan meningkatkan sintesis VLDL. Peningkatan kadar VLDL akan meningkatkan sintesis IDL dan LDL. Partikel LDL lebih kecil dari lipoprotein lain (Adam, 2007).

LDL melalui lapisan sel endotel selanjutnya akan menembus dinding pembuluh darah yang lebih dalam yaitu tunika intima. LDL yang masuk ke dalam tunika intima akan mengalami oksidasi. LDL teroksidasi akan memicu pelepasan sitokin inflamasi yang mengubah monosit menjadi makrofag menembus lapisan endotel dan masuk ke dalam intima. LDL tersebut ditangkap oleh reseptor *scavenger A* (SRA) di makrofag sehingga terbentuk sel busa (*foam cell*), menumpuk di bawah dinding pembuluh darah dan membentuk *fatty streak* (bentuk paling dini plak aterosklerotik). Karena itu, tahap paling awal pada pembentukan plak ditandai oleh akumulasi endapan kaya kolesterol dibawah endotel (Adam, 2007).

Penyakit berkembang sewaktu sel-sel otot polos di dalam dinding pembuluh darah bermigrasi dari tunica media ke tunica intima dan menutupi akumulasi lemak tersebut. Migrasi dipicu oleh bahan-bahan kimia yang dibebaskan di tempat peradangan. Di lokasinya yang baru, sel-sel otot polos membelah diri dan membesar membentuk ateroma. Inti sel dan otot polos yang menutupinya bersama-sama membentuk plak matang yang secara progresif menonjol ke dalam lumen pembuluh yang akan mengakibatkan tersumbatnya lumen (Tao dan Kendall, 2013; Sherwood, 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh Palyoga dkk. (2014) membuktikan bahwa pemaparan asap rokok setiap pagi berturut-turut selama 14 hari menimbulkan peradangan pada jantung tikus akibat stres oksidatif. Dibuktikan dengan peningkatan ekspresi *Tumor Necrosis Factor Alpha* TNF-α yang meningkat sebesar 1201% dibandingkan tikus kontrol.

2.3 Teh Hijau

Teh merupakan bahan baku minuman penyegar yang dipercaya mencegah, mengobati dan menghilangkan gejala penyakit dan telah digunakan selama beribu-ribu tahun. Penelitian tentang manfaat menyehatkan dari teh telah banyak dilakukan. Golongan kimia dalam teh yang paling besar peranannya dalam membentuk cita rasa dan khasiat istimewa adalah polifenol (Rohdiana, 2009). Komponen polifenol dalam teh terdiri atas flavanol, flavonol glikosida, flavonone, asam-asam. Flavanol merupakan komponen yang mendominasi (sekitar 75%) dari total polifenol dari teh hijau. Kandungan polifenol pada pucuk teh sekitar 13%–35% dari padatan keringnya (Ningrat, 2006).

Polifenol mempunyai aktivitas sebagai antioksidan yang sangat kuat. Kemampuannya menangkap radikal bebas 100 kali lebih efektif dari vitamin C dan 25 kali lebih efektif daripada vitamin E (Yi-fan dan Jia-shun, 2014). Ilmu kedokteran modern bahkan sudah mengakui kegunaan polifenol dalam melawan penyakit-penyakit seperti penyempitan pembuluh darah, kelebihan kolesterol darah, tumor, sel kanker, obesitas dan diabetes, karies gigi, dan sebagainya (Yang dan Hong, 2014; Li dan Tu, 2014; Hara, 2008).

Menurut penelitian Yusmiati, dkk (2012) menyebutkan bahwa ekstrak teh merah atau teh hijau baik pada dosis 150 mg maupun 300 mg dapat memperbaiki keadaan stress oksidatif, meningkatkan fungsi endotel serta menurunkan risiko aterosklerosis pada jaringan endotel tikus yang mendapat diet aterogenik. Risiko aterosklerosis juga ditemukan lebih rendah pada individu yang mengkonsumsi teh hijau antara 2 sampai 3 cangkir setiap hari (10 mg/KgBB yaitu sekitar 800 mg) dan konsumsi dosis tertinggi dari teh hijau adalah 100 mg/KgBB yaitu sekitar 8 g per orang (Baraas, 2006). Penelitian yang dilakukan Sundari, dkk (2009) menyebutkan bahwa uji gelagat pada mencit dengan dosis coba ekstrak daun teh hijau 2,7 mg per 100 g berat badan memperlihatkan sifat merangsang susunan saraf pusat (SSP). Indikasi adanya sifat merangsang SSP ini terlihat dari hasil pengamatan, yaitu:

- a) Naiknya reaktifitas atau gerakan spontan
- b) Adanya reaksi rasa sakit atau pain respon terlihat pada respon nyeri
- c) Adanya straub dimana ekor terlihat tegang dan kaku
- d) Terjadinya tremor atau tubuh terlihat gemetar dan konvulsi
- e) Kejang spastik

- f) Terlihat cara berjalan terhuyung-huyung atau sempoyongan dan menunjukkan adanya inkoordinasi dari otot daging skelet
- g) Terjadinya midriasis atau pupil melebar

Penelitian Shekarforoush dkk (2013) tentang pemberian ekstrak teh hijau pada tikus wistar yang mengalami hepatotoksik akibat thioacetamid menggunakan ekstrak teh hijau dalam dosis rendah yaitu 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB didapatkan hasil bahwa teh hijau memiliki efek protektif pada hepatosit yang diinduksi thioacetamid.

Ekstraksi teh hijau menggunakan pelarut organik memberikan keuntungan terutama pelarut yang selektif terhadap senyawa polifenol. Untuk memperoleh ekstrak teh hijau yang mempunyai kandungan polifenol tinggi diperlukan bahan baku berupa teh hijau yang tinggi polifenolnya, proses dan penggunaan pelarut yang selektif terhadap polifenol. Oleh karena itu diperlukan penentuan proses optimal untuk mendapatkan ekstrak polifenol yang tinggi dari teh hijau menggunakan pelarut organik (Rohdiana, 2009).

2.4 Radikal Bebas dan Antioksidan

2.4.1 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah sekelompok bahan kimia baik berupa atom maupun molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya atau kehilangan elektron, sehingga apabila dua radikal bebas bertemu bisa memakai bersama elektron tidak berpasangan membentuk ikatan kovalen. Molekul biologi pada dasarnya tidak ada yang bersifat radikal. Apabila molekul non radikal bertemu radikal

bebas, maka akan terbentuk suatu molekul radikal yang baru. Dapat dikatakan, radikal bebas bersifat tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul di sekitarnya, sehingga radikal bebas bersifat toksik terhadap molekul sel. Radikal bebas mengganggu produksi DNA, lapisan lipid dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, produksi prostaglandin, dan protein lain seperti enzim yang terdapat dalam tubuh (Rohdiana, 2009).

2.4.2 Antioksidan

Antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen, yaitu enzim-enzim yang bersifat antioksidan, seperti: *Superoksida Dismutase* (SOD), katalase (Cat), dan *glutathione peroksidase* (Gpx); serta antioksidan eksogen, yaitu yang didapat dari luar tubuh/makanan. Berbagai bahan alam asli Indonesia banyak mengandung antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya, antara lain vitamin C, E, pro vitamin A, organosulfur, α-tocopherol, flavonoid, thymoquinone, statin, niasin, phycocyanin, dan lain-lain. Berbagai bahan alam, baik yang sudah lama digunakan sebagai makanan sehari-hari atau baru dikembangkan sebagai suplemen makanan, mengandung berbagai antioksidan tersebut (Yi-fan dan Jiashun, 2014).

Antioksidan diperlukan untuk mencegah stress oksidatif. Stres oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas yang ada dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan

dalam orbitalnya, sehingga bersifat sangat reaktif dan mampu mengoksidasi molekul di sekitarnya (lipid, protein, DNA, dan karbohidrat). Antioksidan bersifat sangat mudah dioksidasi, sehingga radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan melindungi molekul lain dalam sel dari kerusakan akibat oksidasi oleh radikal bebas atau oksigen reaktif (Kirana, 2009).

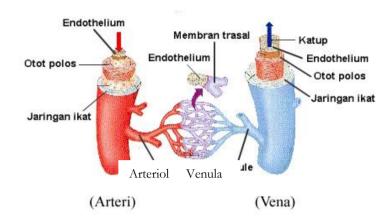
2.5 Interaksi Antioksidan dalam Teh hijau dengan Asap Rokok

Aktivitas antioksidan teh hijau diketahui berhubungan dengan kandungan polifenolnya. Aktivitas antioksidan ini bekerja pada membran sel yang mempunyai fungsi menghambat atau mencegah kemunduran atau kehancuran sel akibat reaksi oksidasi (Yang dan Hong, 2014). Polifenol teh hijau secara luas digunakan sebagai antioksidan alami seperti katekin yang membantu menyingkirkan radikal bebas sehingga tak memiliki kesempatan mengoksidasi Low Density Lipoprotein (LDL) yang dapat membentuk plak pada dinding arteri yang menjadi penyebab aterosklerosis. Antioksidan pada teh dapat memperlancar arteri mengirim darah yang penuh gizi ke jantung dan ke seluruh tubuh (Pambudi, 2000).

2.6 Histologi Jantung

Jantung adalah organ yang berfungsi untuk memompa darah. Ventrikel kanan dan kiri memompa darah, masing-masing ke paru-paru dan bagian tubuh lain. Atrium kanan dan kiri manerima darah, masing-masing dari tubuh dan vena pulmonalis. Dinding keempat bilik jantung terdiri dari tiga tunika:

endokardium di dalam, miokardium di tengah, dan epikardium di luar (Mescher, 2011).



Gambar 2. Sistem Kardiovaskular (Junqueira dan Carneiro, 2011).

Endokardium terdiri dari selapis sel endotel gepeng, yang berada di atas selapis tipis subendotel jaringan ikat longgar yang mengandung serat elastin dan kolagen selain sel otot polos. Miokardium terdiri dari sel-sel otot jantung yang tersusun belapis-lapis dan merupakan tunika yang paling tebal di jantung, susunan sel-sel otot sangat bervariasi pada potongan jaringan. Epikardium dapat disetarakan dengan lapisan visceral perikardium yaitu membran serosa tempat jantung berada. Epikardium dilapisi oleh epitel selapis gepeng (mesotel) yang ditopang oleh selapis tipis jaringan ikat dan merupakan permukaan eksternal jantung yang terdiri dari tunika serosa dan tela subserosa. Pada manusia, tela subserosa mengandung banyak jaringan lemak putih dan terdapat pembuluh darah koronaria serta saraf (Junqueira dan Carneiro, 2011; Paulsen dan Waschke, 2013).

2.7 Tikus Putih (Rattus norvegicus) galur Sprague dawley

Hewan coba adalah hewan yang dikembang biakkan yang digunakan sebagai hewan uji coba. Berbagai jenis hewan yang umum digunakan sebagai hewan percobaan yaitu mencit, tikus, marmut, kelinci, hamster, unggas, kambing, domba, sapi, kerbau, kuda dan simpanse. Tikus digunakan untuk berbagai macam penelitian medis selama bertahun-tahun dikarenakan tikus mempunyai organ yang menyerupai manusia, mudah berkembang biak, lebih tahan terhadap perlakuan, murah serta mudah untuk mendapatkannya (Adiyati, 2011). Klasifikasi tikus putih menurut Akhtar (2012) sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum: Chordata

Kelas: Mamalia

Ordo: Rodentia

Subordo: Odontoceti

Familia: Muridae

Genus: Rattus

Spesies: Rattus norvegicus

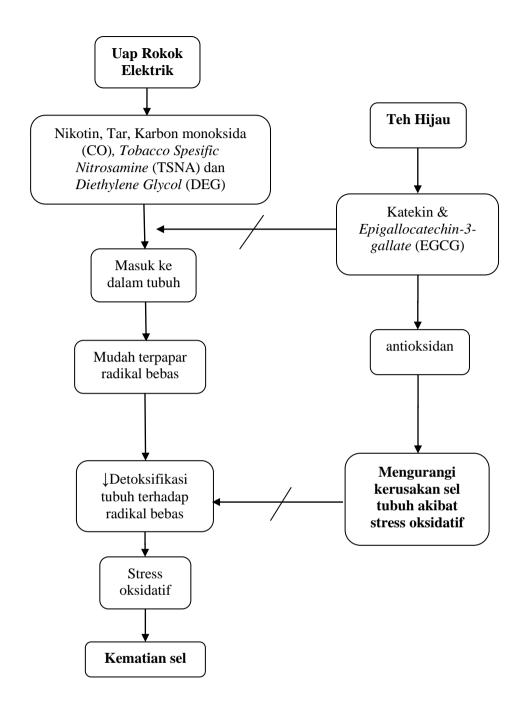


Gambar 3. Tikus *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* (Estina, 2010).

2.8 Kerangka Teori

Tubuh manusia mudah terpapar radikal bebas. Kandungan nikotin, tar, karbon monoksida, *Tobacco Spesific Nitrosamine* (TSNA) dan *Diethylene Glycol* (DEG) yang terdapat pada uap rokok elektrik dapat mengganggu kestabilan oksidan dan antioksidan di dalam tubuh. Dampak lanjutan dari hal tersebut adalah tubuh mengalami penurunan dalam fungsi detoksifikasi terhadap radikal bebas sehingga radikal bebas yang terus masuk ke dalam tubuh akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif, yaitu suatu keadaan di mana jumlah radikal bebas di dalam tubuh berlebihan dan mengakibatkan kematian sel.

Katekin dan *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) adalah polifenol terbanyak dalam teh hijau yang dapat mengurangi terjadinya stress oksidatif karena mempunyai aktivitas sebagai antioksidan yang sangat kuat dan dapat mencegah terjadinya penurunan detoksifikasi terhadap radikal bebas pada tubuh, Hal ini akan membuat tubuh kembali memiliki kemampuan untuk melakukan proses detoksifikasi terhadap radikal bebas secara normal, sehingga mencegah terjadinya kerusakan sel bahkan kematian sel akibat stress oksidatif.



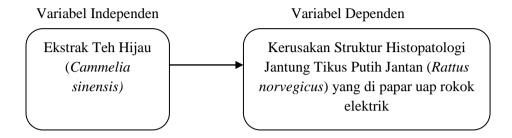
Keterangan:

: Mengakibatkan : Penghambat

Gambar 4. Kerangka Teori Pengaruh Ekstrak Teh Hijau Terhadap Sruktur Histologis Jantung Tikus Yang di papar Uap Rokok Elektrik.

2.9 Kerangka Konsep

Kerangka konsep pada penelitian kali ini tersaji pada gambar 5.



Gambar 5. Kerangka Konsep

2.10 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dipaparkan sebelumnya, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah:

- Terdapat pengaruh pemberian uap rokok elektrik terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague dawley.
- Terdapat pengaruh pemberian asap rokok konvensional terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.
- 3. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak teh hijau (*Cammelia sinensis*) terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang di papar uap rokok elektrik.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini mempunyai sifat berupa uji eksperimental yang menggunakan metode rancangan eksperimen sungguhan. Penelitian ini berguna untuk mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol. Subjek penelitian yang akan digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria jantan galur *Sprague dawley*, sehat, umur 3-4 bulan dengan berat badan 200-300 gram.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama 2 bulan. Pemeliharaan tikus dan pemberian intervensi dilakukan di *Pet House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembedahan, pembuatan preparat dan pengamatannya akan dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dengan kriteria umur 3–4 bulan, berat sekitar 200-300 gram. Penentuan jumlah sampel untuk uji eksperimental ini ditentukan menurut rumus Frederer, yaitu:

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

Dimana t adalah jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah pengulangan atau jumlah sampel setiap kelompok. Pada penelitian ini digunakan 6 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel menjadi:

$$6 (n-1) > 15$$

$$6n-6 > 15$$

Berdasarkan dari perhitungan didapatkan jumlah sampel yang akan digunakan tiap kelompok percobaan sebanyak 4 ekor (n > 3,5) dan jumlah kelompok yang digunakan adalah 6 kelompok, sehingga penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus dari populasi yang ada. Adapun untuk mengantisipasi hilangnya eksperimen maka dilakukan koreksi dengan rumus sebagai berikut:

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

Dimana N adalah besar sampel koreksi, n adalah besar sampel awal, dan f adalah perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10% sehingga,

$$N = 4 / (1-10 \%)$$

$$N = 4 / 0.9$$

$$N = 4.4$$

Maka total sampel yang akan digunakan pada tiap kelompok percobaan sebanyak 5 ekor (N=4,4 dibulatkan). Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus yang masing-masing dibagi dalam 6 kelompok.

3.3.1 Kriteria Inklusi

- 1. Jantan
- 2. Berat Badan (BB) 200-300 gram
- 3. Usia kurang lebih 3–4 bulan
- 4. Sehat (rambut tidak kusam, rontok, botak, dan aktif)

3.3.2 Kriteria Eksklusi

- 1. Tikus mati selama waktu penelitian dilakukan
- Adanya penurunan Berat Badan (BB) lebih dari 10% selama masa adaptasi di laboratorium.

3.4 Bahan dan Alat Penelitian

3.4.1 Bahan Penelitian

Bahan untuk membuat preparat histologis dengan metode paraffin berupa larutan formalin 10% berguna untuk fiksasi, alkohol 70%, alkohol 96%, alkohol absolut, *etanol*, *xylol*, entelan, *eosin*, dan pewarna *hematoksisilin*. Bahan untuk membuat ekstrak teh hijau adalah teh hijau dan etanol 80%. Pengekstrakan dilakukan di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

3.4.2 Alat Penelitian

- 1. Alat yang akan digunakan dalam melakukan penelitian ini berupa kandang tikus yang terbuat dari bahan plastik berukuran 40x20x20 cm³ dengan tutup kawat, neraca analitik *Metler Toledo* dengan tingkat ketelitian 0,01 g untuk menimbang berat tikus, Sonde lambung, spuit oral 1 cc, minor set berfungsi untuk membedah tikus (*Laparatomi*), *Handscoon* (sarung tangan), kandang tikus, botol minum tikus, dan kamera digital.
- 2. Alat yang digunakan untuk pembuatan Preparat Histopatologi adalah object glass, deck glass, tissue cassette, rotary microtome, oven, waterbath, platening table, autotechnicome processor, staining jar, staining rack, kertas saring, histoplast, dan paraffin dispenser. Alat yang digunakan untuk membuat ekstrak teh hijau adalah maserator dan rotary evaporator.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Prosedur Perlakuan

Prosedur perlakuan pembuatan dan pembacaan preparat adalah sebagai berikut:

1. Dalam satu minggu tiap tikus diaklimatisasi sebelum diberi perlakuan. Tikus sebanyak 30 ekor dikelompokkan dalam 6 kelompok. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol normal, dimana hanya diberi akuades per oral. Kelompok 2 sebagai kelompok perlakuan coba, dimana hanya diberikan paparan uap rokok elektrik. Kelompok 3 sebagai kelompok perlakuan coba, dimana diberikan paparan uap rokok elektrik dan diikuti pemberian ekstrak teh hijau 50 mg/kgBB injeksi intra peritoneal (IP). Kelompok 4 sebagai kelompok perlakuan coba dengan pemberian paparan uap rokok elektrik dan diikuti pemberian ekstrak teh hijau 100 mg/kgBB IP, kelompok 5 sebagai kelompok perlakuan coba diberikan paparan uap rokok elektrik dan diikuti pemberian ekstrak teh hijau 200 mg/kgBB IP. Kelompok 6 hanya diberikan paparan asap rokok.

- 2. Injeksi intra peritoneal dilakukan dengan cara memposisikan tikus dengan bagian abdomen berada di atas, bagian kranial di bawah. Secara lembut gerakkan tikus 2-3 kali sehingga membuat bagian rongga abdomen bawah terasa lebih kosong. Usapkan etanol 70% pada tempat injeksi. Jarum diposisikan dalam sudut 15-20 derajat saat masuk ke rongga abdomen. Penetrasikan melewati dinding abdomen (sekitar 4 4 mm). Aspirasi dilakukan untuk memastikan organ berongga abdomen tidak tertusuk. Ujung jarum di penetrasikan ke dinding abdomen kuadran kiri bawah. Lalu injeksikan perlahan.
- Pada saat pemaparan asap, smoking box ditutup rapat dengan plastik putih transparan. Paparan asap diberikan dengan dosis 20 kali hisapan setiap hari berturut-turut selama dua minggu.
- 4. Pengukuran Berat Badan (BB) tikus sebelum perlakuan dimulai dengan neraca analitik *Metler Toledo*.

- 5. Tikus yang terpapar uap *vape* dan diberikan ekstrak teh hijau diberi pakan standar secara *ad libitum*.
- 6. Lima tikus dari tiap kelompok dianastesi dengan *Ketamine-xylazine* 75-100 mg/kg secara inhalasi lalu tikus di-*euthanasia* berdasarkan *Institutional Animal Care and Use Committee* (IACUC) menggunakan metode *cervical dislocation* dengan cara ibu jari dan jari telunjuk ditempatkan dikedua sisi leher di dasar kranium atau batang ditekan ke dasar kranium. Sementara tangan lain memegang pada pangkal ekor atau kaki belakang dan dengan cepat ditarik sehingga menyebabkan pemisahan antara tulang leher dan tengkorak.
- 7. Setelah tikus mati, dilakukan prosedur pengambilan arteri koronaria tikus untuk sediaan mikroskopis. Dalam pembuatan sediaan mikroskopis digunakan metode *paraffin* dengan pewarnaan HE.
- 8. Sampel arteri koronaria difiksasi menggunakan formalin 10%.
- 9. Teknik pembuatan ekstrak teh hijau sebagai berikut:

Serbuk teh hijau sebanyak 250 gram dimasukkan ke dalam maserator, etanol 80% ditambahkan sebagai pelarut dengan perbandingan 1:10 kali simplisia yaitu 2000 ml kemudian, dilakukan pengadukan sampai homogen. Campuran dibiarkan termaserasi selama 24 jam dalam maserator tertutup dengan pengadukan terus menerus. Maserat di saring dari ampasnya dengan kertas saring, lalu diuapkan menggunakan *rotary*

evaporator pada suhu 70° dan tekanan 80 mBar sampai didapatkan ekstrak kental.

 Teknik pembuatan preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.5.2 Fixation

Fiksasi spesimen berupa potongan organ jantung segera dengan larutan pengawet formalin 10% lalu cuci dibawah air yang mengalir.

3.5.3 Trimming

Organ dipotong kecil berukuran kurang lebih 3 mm. Organ jantung dimasukkan ke *embedding cassette*.

3.5.4 Dehydration

Air dikeringkan dengan menggunakan kertas tisu pada *embedding cassette*. Perendaman organ jantung dimulai berturut-turut dengan alcohol 80%, 95%, 95%, alkohol absolut I, II, dan III masing-masing selama 1 jam.

3.5.5 Clearing

Alkohol dibersihkan dengan menggunakan *xylol* I, II, dan III masingmasing selama 1 jam.

3.5.6 Impregnasi

Paraffin I, II, dan III yang digunakan masing-masing selama 2 jam dalam inkubator dengan suhu 65,1 °C.

3.5.7 Embedding

Paraffin dituangkan ke dalam pan, lalu pindahkan satu per satu *embedding cassette* ke dasar pan. Lepaskan paraffin yang berisi jantung dari pan dengan cara memasukkan ke dalam suhu 4-6 °C selama beberapa saat. Potonglah paraffin sesuai dengan letak jaringan dengan menggunakan skalpel/pisau hangat. Letakkan pada balok kayu, dan ratakan pinggirnya lalu buat ujungnya sedikit meruncing. Blok paraffin siap dipotong dengan mikrotom.

3.5.8 *Cutting*

Sebelum memotong balok terlebih dahulu di dinginkan. Lakukan potongan kasar dan lanjutkan potongan halus sebesar 3 mikron. Memilih lembaran potongan yang paling baik, apungkan pada air dan hilangkan kerutannya dengan cara menekan salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi yang lain ditarik menggunakan kuas runcing. Pindahkan lembaran jaringan ke dalam water bath selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.

Dengan gerakan menyendok, ambil lembaran jaringan tersebut dengan slide bersih dan tempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah, cegah jangan sampai ada gelembung udara di bawah jaringan. Keringkan slide, jika slide sudah kering, panaskan untuk meratakan jaringan dan sisa paraffin mencair sebelum pewarnaan.

3.5.9 Pewarnaan dengan Harris Hematoxylin Eosin

Setelah jaringan melekat sempurna pada slide, pilih slide yang terbaik, secara berurutan masukkan ke dalam zat kimia di bawah ini dengan waktu sebagai berikut: Untuk pewarnaan, zat kimia pertama yang digunakan adalah *xylol* I, II, dan III selama 5 menit. Kedua, zat kimia yang digunakan adalah alkohol absolut I, II, dan III masing-masing selama 5 menit. Zat kimia yang ketiga adalah akuades selama 1 menit. Keempat, potongan organ dimasukkan ke dalam zat warna *Harris Hematoxylin Eosin* selama 20 menit.

Kemudian memasukkan potongan organ *jantung* dalam akuades selama 1 menit dengan sedikit menggoyang-goyangkan organ. Keenam, mencelupkan organ dalam asam alkohol 2-3 celupan. Ketujuh, dibersihkan dalam akuades bertingkat masing-masing 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 *xylol* IV dan V masing - masing selama 5 menit.

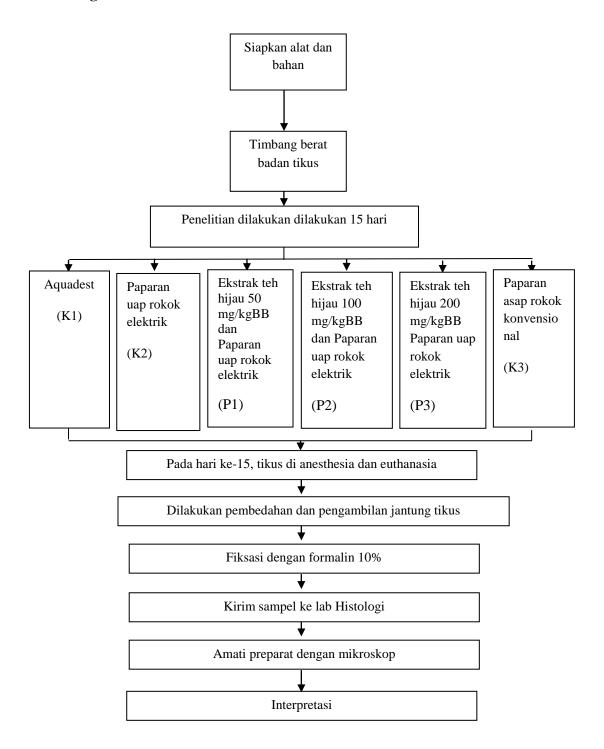
3.5.10 *Mounting*

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

3.5.11 Baca slide dengan mikroskop

Slide dibaca dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dan 5 lapang pandang. Metode yang digunakan dalam melihat preparat adalah prosedur *double blinded*.

3.6 Diagram Alur Penelitian



Gambar 6. Diagram Alur Penelitian Pengaruh ekstrak teh hijau terhadap struktur histopatologi jantung tikus yang di papar uap rokok elektrik.

3.7 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

3.7.1 Identifikasi Variabel

1. Variabel Bebas

Pada penelitian ini yang termasuk dalam variabel bebas adalah ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*).

2. Variabel Terikat

Pada penelitian ini yang termasuk ke dalam variabel terikat adalah kerusakan struktur histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang di papar uap rokok elektrik.

3.7.2 Definisi Operasional

Definisi operasional adalah mendefinisikan variabel-variabel secara operasional dan berlandaskan karakteristik yang di amati. Definisi operasional yang terkait dalam penelitian ini :

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara ukur	Hasil ukur	Skala
Ekstrak teh hijau	Ekstrak teh hijau diberikan melalui injeksi intra peritoneal (Shekarforoush dkk., 2013)	Perhitungan manual	Dosis dalam penelitian: 50 mg/kgBB, 100mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB	Numerik rasio
Paparan uap rokok elektrik	Paparan uap rokok elektrik yang diberikan setiap hari berturut-turut dengan dosis 20 kali hisapan selama dua minggu	Stopwatch dan spuit 1cc	K= Kontrol K2, P1, P2, P3=20x hisapan K3=1 batang rokok konvensional	Ordinal
Kerusakan struktur histolopatologi jantung tikus	Gambaran kerusakan histopatologi jantung tiap lapang pandang yang dijumlah dan dirata-rata	Mikroskop cahaya	Kerusakan histopatologi miokardium dengan menggunakan kriteria Dallas, yaitu: Skor 0 = tidak ada infiltrasi sel radang dan nekrosis Skor 1 = terdapat infiltrasi sel radang Skor 2 = terdapat infiltrasi sel radang dan nekrosis (Baughman, 2006). Masing-masing lapang pandang akan diamati dan ditentukan skornya serta dijumlahkan.	Ordinal

3.8 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini akan diproses dengan aplikasi pengolahan data, dengan tingkat signifikansi p=0,05. Hasil penelitian pertama dideskripsikan secara univariat, kemudian dianalisis secara statistik dengan uji normalitas data *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel<50. Setelah itu, dilakukan uji homogenitas dengan uji *Levene*.

Jika didapatkan data berdistribusi normal serta variasi data homogen maka uji statistik dilanjutkan dengan metode *One Way ANOVA*. Jika varian data tidak

berdistribusi normal, maka metode yang dipilih adalah uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Hipotesis akan dianggap bermakna bila p<0.05. Jika pada uji *one way ANOVA* didapatkan nilai p<0,05 maka uji statistik dilanjutkan dengan analisis *post hoc test*. Sedangkan pada uji *Kruskal-Wallis*, jika didapatkan nilai p<0,05, uji statistik dilanjutkan dengan analisis *post hoc Mann-Whitney*.

3.9 Etika Penelitian

Ethical clearance penelitian ini didapatkan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor surat persetujuan etik yaitu 560/UN26.18/PP.05.02.00/2019 Izin etik penelitian (Ethical Cleareance) untuk penelitian ini diajukan ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung karena dalam penelitian ini menggunakan hewan percobaan. Dalam penelitian kesehatan yang memanfaatkan hewan coba, harus diterapkan prinsip 3R data protokol penelitian, yaitu replecement, reduction, refinement. Replecement adalah keperluan memanfaatkan hewan percobaan sudah diperhitungkan secara seksama, baik dari pengalaman terdahulu maupun literaratur untuk menjawb pertanyaan penelitian dan tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan . Reduction adalah pemanfaatan hewan dalam penelitian sedikit mungkin, tetapi tetap mendapatkan hasil yang optimal. Refinement adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi, dengan prinsip dasar membebaskan hewan coba dalam beberapa kondisi yaitu bebas dari rasa lapar haus, bebas dari ketidaknyamanan dan bebas dari nyeri.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat dibuat kesimpulan sebagai berikut:

- Terdapat pengaruh pemberian uap rokok elektrik terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih.
- 2. Terdapat pengaruh pemberian asap rokok konvensional terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih.
- 3. Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap struktur histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diberikan paparan uap rokok elektrik.

5.2 Saran

1. Bagi peneliti selanjutnya

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak teh hijau terhadap kerusakan sel otot jantung akibat paparan asap rokok dengan menggunakan rute pemberian lain (per oral, intravena), rentang dosis yang lebih luas dan waktu paparan yang lebih lama.

2. Bagi masyarakat

- Menghindari penggunaan rokok elektrik dan rokok konvensional karena paparan uap rokok elektrik menyebabkan kerusakan sel yang hampir sama dengan rokok konvensional.
- Tidak merokok di tempat umum, terutama di sekolah karena dapat memberikan contoh yang tidak baik bagi anak dan remaja.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam JMF. 2007. *Dislipidemia*. Dalam: Setiati S, dkk. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Edisi ke-6. Jakarta: Intera Publishing. Hal. 1926–8.
- Adiyati PN. 2011. Ragam jenis ektoparasit pada hewan coba tikus putih. (Rattus norvegicus) galur Sprague dawley. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Akhtar A. 2012. Animal in public health. Amerika Serikat: Palgrave Macmilan.
- Al-Awaida W, Akash M, Aburubaiha Z, Talib WH, Shehadeh H. 2014. *Chinese green tea consumption reduces oxidative stress, inflammation and tissues damage in smoke exposed rats.* Iran J Basic Med Sci.17(10):740–6.
- American Industrial Hygiene Association (AIHA). 2014. *Electronic Cigarettes in the Indoor Environment*. White Paper. [Internet]. [diunduh tanggal 29 April 2018]. Tersedia dari: https://www.aiha.org/government-affairs/PositionStatements/Electronic%20Cigarettes%20in%20the%20Indoor%20Environment%20White%20Paper_V2.pdf
- Anderson C, Majeste A, Hanus J, Wang S. 2016. E-Cigarette Aerosol Exposure Induces Reactive Oxygen Species, DNA Damage, and Cell Death in Vascular Endothelial Cells. Toxicological Sciences, 154(2): 332–40.
- Antoniewicz L, Bosson JA, Kuhl J, Abdel-Halim SM, Kiessling A, Mobarrez F, Lundb€ack M. *Electronic cigarettes increase endothelial progenitor cells in the blood of healthy volunteers*. Atherosclerosis. 2016; 255:179–185.
- Baraas F. 2006. *Kardiovaskuler Molekuler*. Jakarta: Yayasan Kardia Iqratama. Hal. 194-8.
- Baughman KL. 2006. *Diagnosis of myocarditis death of dallas criteria*. American Heart Association. 113: 593-5.
- Begum MS, Saradamma B, Reddy VD, Padmavathi P, Maturu P, Ellutla NB, dkk. 2017. *Influence of green tea consumption on cigarette smoking-induced biochemical changes in plasma and blood*. Clinical Nutrition Experimental 16: 1-12.

- Benowitz NL, Dains KM, Hall SM, Syewart S, Wilson M, Dempsey D, dkk. 2012. Smoking behavior and exposure to tobacco toxicants during 6 month of smoking progressively reducednicotine content cigarrates. N. Engl J Med. 21:761-9.
- Cobb NK, Byron MJ, Abrams DB, Shields PG. 2010. *Novel Nicotine Delivery System and Public Health: The Rise of "E-cigarette"*. Am J Public Health. 12:2340-2.
- Electronic Cigarette Association. 2009. The facts about Electronic Cigarette. Washington.
- Estina, 2010. *Jenis dan ciri-ciri tikus laboratorium disertai gambar* [Internet]. [diunduh tanggal 29 April 2018]. Tersedia dari: https://dokterternak.wordpress.com/2010/11/05/jenis-dan-ciri-ciri-tikus-labolatorium-disertai-gambar/
- Etter JF. 2010. *Electronic Cigarette: A Survey of Users*. BMC J Public Health. 10: 231.
- Farsalinos KE, Tsiapras D, Kyrzopoulos S, Savvopoulou M, Voudris V. 2014. Acute effects of using an electronic nicotine-delivery device (electronic cigarette) on myocardial function: comparison with the effects of regular cigarettes. BMC Cardiovascular Disorders. 14:78.
- Forester SC, Lambert JD. 2011. The role of antioxidant versus pro-oxidant effects of green tea polyphenols in cancer prevention. Mol Nutr Food Res. 55(6):844–54.
- Hara Y. 2008. *Development of tea catechin into pharmaceuticals*. Proceeding of the 3rd International conference on OCHA (Tea) Culture and Science, Japan: Shizuoka.
- Heryani R. 2014. Kumpulan Undang Undang dan Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Khusus Kesehatan. Jakarta: CV. Trans Info Media.
- Himawan R. 2008. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*) terhadap kadar SGPT Tikus Putih (*Rattus novergicus*) yang diinduksi Isoniazid. [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Hom S, Chen L, Wang T, Ghebrehiwet B, Yin W, Rubenstein DA. 2016. Platelet activation, adhesion, inflammation, and aggregation potential are altered in the presence of electronic cigarette extracts of variable nicotine concentrations. Platelets. 27:694–702.

- Ibrahim M, Bakhaat GA, Tammam HG, Mohamed RM, El-Naggar SA. 2019. Cardioprotective effect of green tea extract and vitamin E on Cisplatin-induced cardiotoxicity in mice: Toxicological, histological and immunohistochemical studies. Biomedicine & Pharmacotherapy. 113:1-9.
- Junqueira LC, Carneiro J. 2011. *Histologi Dasar*. Edisi 10. Jakarta : EGC.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Riset Kesehatan Dasar* (*RISKESDAS*) Laporan Nasional 2013. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kirana R. 2009. Pengaruh Pemberian Teh Hijau (Cammelia sinensis) terhadap Kerusakan Struktur Histologis Alveolus Paru Mencit yang Dipapar Asap Rokok. [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Li W, Tu Y. 2014. *Tea Polyphenols Affect Cancer Cells on MAPK Pathways*. Proceedings of The International Tea Symposium 2014. November 10-13, 2014. China: Hangzhou.
- Mardjun Y. 2012. Perbandingan Keadaan Tulang Alveolar Antara Perokok dan Bukan Perokok. [Skripsi]. Makasar: Universitas Hasannudin.
- Mescher AL. 2011. *Histologi Dasar Junqueira, Teks dan Atlas, Edisi 12*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Muhibah FAB. 2011. Tingkat Pengetahuan Pelajar Sekolah Menengah Sains Hulu Selangor Mengenai Efek Rokok Terhadap Kesehatan. (KTI). Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Nacera H, Gregory T, Sihem B, Salah A, Souhila AB. 2017. Green Tea Beverage And Epigallocatechin Gallate Attenuate Nicotine Cardiocytotoxicity In Rat. Acta Poloniae Pharmaceutica. 74(1): 277-87.
- Ningrat SD. 2006. *Komposisi Kimia Daun Teh. Tek. Pengolahan Teh Hitam.* Bandung: Penerbit ITB. Hal. 33 43.
- Ohmori R, Kondo K, Momiyama Y. 2014. *Antioxidant Beverages: Green Tea Intake and Coronary Artery Disease*. Clinical Medicine Insights: Cardiology. 8(S3) 7–11.
- Oktavianis. 2011. Efek Pemberian Asap Rokok Terhadap Kehamilan Tikus Putih (Rattus norvegicus). Padang: Universitas Andalas.
- Palyoga H, Aulanni'am, Wuragil DK. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Anggur (Vitis Vinifera) Terhadap Ekspresi Tumor Nekrosis Faktor Alfa (Tnf-A) Dan Gambaran Histopatologi Jantung Pada Hewan Model Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Yang Diberi Paparan Asap Rokok. Student Journal. 3 (4):1-9.

- Pambudi J. 2000. Potensi teh sebagai sumber zat gizi dan perannya dalam kesehatan. Pros. Seminar Sehari Teh untuk Kesehatan. Bandung: Puslit Teh dan Kina. Hal. 21-8.
- Paulsen F, Waschke J. 2013. *Atlas Anatomi Sobott*a. Jilid 3. Edisi ke-23. Jakarta: EGC.
- Prasanth MI, Sivamaruthi BS, Chaiyasut C, Tencomnao T. 2019. A Review of the Role of Green Tea (Camellia sinensis) in Antiphotoaging, Stress Resistance, Neuroprotection, and Autophagy. Nutrients. 11, 474-97.
- Putra AS. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Teh Hijau (Cammelia sinensis) Terhadap Gambaran Histopatologi Silia Pada Trakea Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley Yang Dipapar Uap Rokok Elektronik. [Skripsi]. Lampung: Universitas Lampung.
- Qasim H, Karim ZA, Rivera JO, dkk. 2017. *Impact of Electronic Cigarettes on the Cardiovascular System*. J Am Heart Assoc. 6:e006353
- Reddy MA, Kumar BK, Boobalan G, Reddy MK, Kumar SVS, Reddy G, dkk. 2017. Hepatoprotective Potential of Green Tea Extract against Experimental Hepatotoxicity in Rats. Indian J Pharm Sci. 79(1): 58-64.
- Rohdiana, D. 2009. *Teknologi terkini proses pengolahan teh untuk mendukung industri hilir*. Prosiding Pertemuan Teknis Teh Nasional di Solo 14-15 Oktober 2009. Bandung: Pusat Penelitian Teh dan Kina.
- Rohdiana D. 2009. Teh Ini Menyehatkan. Bandung: Penerbit Alfabeta.
- Schroeder MJ, Hoffman AC. 2014. *Electronic cigarettes and nicotine clinical pharmacology*. Tob Control. 23:ii30–5.
- Shekarforoush S, Aghababa H, Azizi M, Changizi-Ashtiyani S, Zarei A, Rezaei A, dkk. 2013. A Comparative Study on the Effects of Glutathione and Green Tea Extract (Camellia sinensis L.) on Thioacetamide-induced Hepatotoxicity in Male Adult Wistar Rats. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 16(7): 21–5.
- Sherwood L. 2014. Fisiologi manusia: dari sel ke sistem. Edisi 8. Jakarta: EGC.
- Sundari D, Nuratmi B, Winarno MW. 2009. *Toksisitas Akut (LD₅₀₎ dan Uji Gelagat Ekstrak Daun Teh Hijau (Cammelia sinensi (LINN.) KUNZE) pada Mencit*. Media Peneliti dan Pengembang Kesehatan. 19(4):198-203.
- Tao L, Kendall K. 2013. *Sinopsis organ sistem kardiovaskular*. Tangerang Selatan: Karisma Publishing Group.

- Tawbariah L, Apriliana E, Wintoko R, Sukohar A, 2014. The Corelation of Consuming Cigarette with Blood Pressure of The Society in Pasaran Island Kota Karang Village East Teluk Betung Sub-District Bandar Lampung. Majority. 3(6):91-8.
- Triana N, Ilyas S, Hutahean. 2013. *Gambaran Histologis Pulmo Mencit Jantan (Mus musculus L.) Setelah Dipapari Asap Rokok Elektrik.* Saintia Biologi. 1 (2): 1-7.
- Tuminah S. 2004. *Teh [Camellia sinensis O.K. var. Assamica (Mast)] sebagai Salah Satu Sumber Antioksidan*. Tinjauan kepustakaan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI No. 144: 52 4.
- Tursinawati Y, Yazid N, Purnawati FW. 2017. Gambaran Histopatologi Ventrikel Kiri Tikus Yang Diberi Paparan Rokok Elektrik (ENDS) dan Konvensional. Qanun Medika.1(2):87-93.
- Vega K, Pina I, Krevsky B. 2007. *Manfaat teh hijau*. Malang: University of Muhammadiyah Malang (UMM).
- William M, Trtchounian A, Talbot P. 2010. Conventional and electronic cigarette (e-cigarette) have different smoking characteristics. Nicotine Tobacco Res. 12:905-12.
- World Health Organization (WHO). 2014. *Electronic nicotine delivery systems*. CTC/COP/6/10 rev.1. Paper for Conference of the Parties to the WHO Framework Convention of Tobacco Control, Sixth Session 13-8.
- World Health Organization (WHO). 2015. Report on the global tobacco epidemic [Internet]. (Diakses tanggal 1 November 2017). Tersedia dari: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/178574/1/9789240694606eng.pdf?ua=1&ua=1.
- Wu Y, Xia ZY, Zhao B, Leng Y, Dou J, Meng QT, dkk. 2017. (-)-Epigallocatechin-3-gallate attenuates myocardial injury induced by ischemia/reperfusion in diabetic rats and in H9c2 cells under hyperglycemic condition. IJMM. 40: 389-9.
- Xu C, Shu WQ, Qiu ZQ, Chen JA, Zaho Q, Cao J. 2007. Protective effects of green tea polyphenols against subacute hepatotoxicity induced by microcystin-LR in mice. Environ Toxicol Pharmacol. 24(2):140-8.

- Yang CS, Hong J. 2014. *Prevention of Chronic Diseases by Tea: Possible Mechanisms and Human Relevance*. Proceedings of The International Tea Symposium 2014. November 10-13, 2014. China: Hangzhou.
- Yi-fan F, Jia-shun G. 2014. *Study on in Vitro Antioxidant Activity of Water Extract and Anthocyanin from Zi-Juan Sun-dried Green Tea*. Proceedings of The International Tea Symposium 2014. November 10-13, 2014. China: Hangzhou.
- Yiannakopoulou EC. 2013. Targeting oxidative stress response by green tea polyphenols: Clinical implications. Free Radic. Res. 47:667–71.
- Yusmiati SNH, Arbai AMB, Tjokroprawiro A, Putra ST. 2012. Potensi Antioksidan dalam Ekstrak Teh Merah (Hibiscus sabdariffa) dan Teh Hijau (Cammelia sinensis) terhadap Proses Aterogenesis pada Tikus dengan Diet Aterogenik. JBP. 14(3):158-71.
- Zhu SH, Yun JY, Bonnevie E, Cummins SE, Gamst A, Yin L. 2014. Four hundredand sixty brands of e-cigarette and counting: implications for product regulation. Tob Control. 23: 33-9.