

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL TEH HIJAU (*Cammelia sinensis*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ALVEOLUS TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) JANTAN GALUR SPRAGUE DAWLEY YANG DIPAPARUAP ROKOK ELEKTRONIK**

**( Skripsi )**

**Oleh  
NI PUTU SARI WIDIYANI**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL TEH HIJAU (*Cammelia sinensis*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ALVEOLUS TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) JANTAN GALUR SPRAGUE DAWLEY YANG DIPAPARUAP ROKOK ELEKTRONIK**

**Oleh**

**Ni Putu Sari Widiyani**

**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 EXTRACT (*Cammelia Sinesis*) ON LUNG HISTOPATHOLOGY OF MALE WHITE *Sparague Dawley* RATS EXPOSED TO ELECTRONIC CIGARETTE

By

NI PUTU SARI WIDIYANI

**Background:** Electronic cigarettes contain contents that are toxic to the body so that they can cause respiratory and lung diseases. Green tea is a rich source of polyphenols which have the role of green tea extract as an antioxidant in preventing oxidative stress. So that in this study aims to look at the histology of lung in white rats exposed to electronic cigarette vapor and given green tea extract in a certain period and dose.

**Method:** The study used a pure experimental design using 30 Sprague Dawley strain white rats which were divided into 6 groups, namely 3 control groups and 3 treatment groups. In the control group, given regular treatment, exposure to electric cigarettes and exposure to conventional cigarettes. In the treatment group, mice were given peritoneal injection of green tea extract each of 50 mg/kg body weight, 100 mg/kg body weight, and 200 mg/kg body weight. After 14 days of treatment, the 15th day of mice was euthanized and preparations were taken.

**Results:** There was a change in histopathological damage in all samples where there were significant differences in all treatment and control groups ( $p=0,000$ ), but not significantly in the treatment group with a value of P1 to K2 with  $p=0.163$ .

**Discussion:** The use of electronic cigarettes increases the incidence of oxidative stress resulting in an inflammatory response in lung tissue. Damage can be reduced by giving green tea which acts as an anti-oxidant.

**Conclusion:** There is a difference between the administration of electronic cigarette vapor exposure to changes in tracheal histological structure of white rats (*Ratus norvegicus*) Sprague Dawley strain, there is a difference between the administration of green tea extract to changes in histologic histological structure of rats exposed to electronic cigarette steam at a dose of 100 mg/kgBB and 200 mg/kgBB.

**Keywords:** electronic cigarette, green tea extract, histopathology, lung, sprague dawley

## ABSTRAK

### PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TEH HIJAU (*Cammelia Sinesis*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PARU-PARU PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR *Sprague Dawley* YANG DI PAPAN UAP ROKOK ELEKTRONIK

Oleh

NI PUTU SARI WIDIYANI

**Latar belakang:** Rokok elektronik memiliki kandungan yang bersifat toksik bagi tubuh sehingga dapat menyebabkan penyakit saluran nafas dan paru-paru. Teh hijau merupakan sumber kaya polifenol yang memiliki peran ekstrak teh hijau sebagai antioksidan dalam mencegah terjadinya stres oksidatif. Sehingga pada penelitian ini bertujuan untuk melihat gambaran histologi paru-paru tikus putih yang dipapar dengan uap rokok elektronik dan diberikan ekstrak teh hijau dalam kurun waktu dan dosis tertentu.

**Metode:** Penelitian menggunakan rancangan eksperimen murni menggunakan 30 tikus putih galur *Sprague Dawley* yang di bagi dalam 6 kelompok yaitu 3 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol, diberikan perlakuan biasa, paparan rokok elektrik dan paparan rokok konvensional. Pada kelompok perlakuan, mencit diberikan injeksi peritoneal ekstrak teh hijau masing-masing sebanyak 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB. Setelah 14 hari perlakuan, hari ke-15 mencit di *euthanasia* dan diambil preparat.

**Hasil:** Terdapat perubahan kerusakan histopatologi pada seluruh sampel dimana terjadi perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok perlakuan dan kontrol ( $p=0,000$ ), tetapi tidak signifikan pada kelompok perlakuan dengan nilai P1 terhadap K2 dengan  $p=0,163$ .

**Diskusi:** Penggunaan rokok elektronik meningkatkan kejadian stress oksidatif sehingga terjadi respon inflamasi pada jaringan paru-paru. Kerusakan dapat dikurangi dengan pemberian teh hijau yang berperan sebagai anti oksidan.

**Simpulan:** Terdapat perbedaan antara pemberian paparan uap rokok elektronik terhadap perubahan struktur histologis trakea tikus putih (*Ratus norvegicus*) galur *Sprague dawley*, terdapat perbedaan antara pemberian ekstrak teh hijau terhadap perubahan struktur histologis trakea tikus yang dipapar uap rokok elektronik pada dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB.

Kata kunci: ekstrak teh hijau, histopatologi, paru-paru, rokok elektronik, *sprague dawley*

**Judul Skripsi** : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL TEH HIJAU (*Cammelia sinensis*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ALVEOLUS TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) JANTAN GALUR SPRAGUE DAWLEY YANG DIPAPAR UAP ROKOK ELEKTRONIK**

**Nama Mahasiswa** : **NI PUTU SARI WIDIYANI**

**No. Pokok Mahasiswa** : **1418011150**

**Program Studi** : **Pendidikan Dokter**

**Fakultas** : **Kedokteran**

**MENYETUJUI**

**1. Komisi Pembimbing**

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

  
**dr. Putu Ristyaning AS, M.Kes., Sp.PK**

**2. Dekan Fakultas Kedokteran**

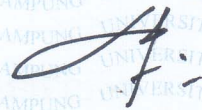
  
**Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, SKM., M.Kes**  
**NIP. 197206281997022001**



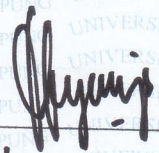
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

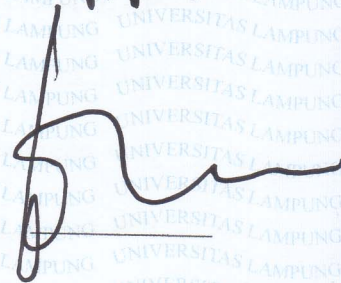
**Ketua : Dr. dr. Susianti, M.Sc**



**Sekretaris : dr. Putu Ristyning Ayu S, M.Kes., Sp.PK**



**Penguji  
Bukan Pembimbing : Dr. dr. Asep Sukohar, M.Kes**



**2. Dekan Fakultas Kedokteran**



**Dr. Dyah Wulan Sunekar RW, SKM., M.Kes  
NIP. 19720628 199702 2 001**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 10 Juli 2019**



## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi dengan judul “**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL TEH HIJAU (*Cammelia sinensis*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ALVEOLUS TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) JANTAN GALUR SPRAGUE DAWLEY YANG DIPAPAR UAP ROKOK ELEKTRONIK**” adalah benar hasil karya penulis, bukan menjiplak hasil karya orang lain. Jika dikemudian hari ternyata ada hal yang melanggar dari ketentuan akademik universitas, maka saya akan bersedia bertanggung jawab dan diberi sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Atas perhatiannya saya mengucapkan terima kasih.

Bandar Lampung, 22 Juli 2019

Pembuat Pernyataan



Ni Putu Sari Widiyani

NPM. 1418011150

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis di lahirkan di Kotagajah 22 agustus 1996 sebagai anak pertama dari tiga bersaudara. Dari Bapak I Nyoman Gedeyasa, S.E dan Ibu Ni Nyoman Eka Nilawati, S.E.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan di TK Dharma Wanita Seputih Raman, Lampung Tengah pada tahun 2001. Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Negeri 2 Rama Gunawan Seputih pada tahun 2008, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Negeri 1 Seputih Raman pada tahun 2011, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Negeri 1 Kotagajah pada tahun 2014.

Tahun 2014, penulis terdaftar sebagai mahasiswi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah aktif pada organisasi Gen-C Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.



*Sebuah persembahan sederhana untuk*

*Bapak, Ibu, Adik, dan Keluarga*

*Besarku tercinta.*

*Terima kasih untuk cinta, kasih sayang,*

*dan dukungan yang telah kalian*

*berikan.*

*“Matahari menyaksikan perbuatan baik maupun buruk setiap makhluk,*

*Niatnya pun terungkap jelas”.*

*(Reg Veda 6.51.2)*

## SANWACANA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan karunia dan nikmat kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Teh Hijau (*Cammelia sinensis*) Terhadap Gambaran Histopatologi Paru-Paru Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Jantan Galur Sprague Dawley Yang Dipapar Uap Rokok Elektronik ”.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapat masukan, bantuan, dorongan, saran, bimbingan, dan kritik dari berbagai pihak. Maka dengan segenap kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Kepada Bapak (I Nyoman Gede Yasa) dan Ibu (Ni Nyoman Eka Nilawati) yang sangat aku sayangi dan cintai atas cinta, kasih sayang, dukungan, pelajaran hidup, pengorbanan, doa, segala jerih payah, serta semangat juang yang di berikan untuk melewati segala rintangan selama ini. Terima kasih atas perjuangan kalian sudah memberikan pendidikan yang terbaik untukku, membentuk diriku menjadi wanita yang kuat, yang selalu memberikan kebahagiaan tak terhingga untukku;

2. Kepada adik - adikku tersayang Ni Made Dewi Pratisthayani, Ni Komang Desi Hitariyani, Gede Agus Andhika, Putu Putri Saraswati, Made Novita Wulandari, Gede Aditya W serta keluarga besar atas doa, dukungan, semangat, cinta, kasih, kesabaran, keikhlasan, motivasi, dan bahkan kritikan yang membangun serta selalu menjadi alasan saya untuk terus berjuang sampai saat ini;
3. Saudara tempat berbagi suka dan duka serta teman mendakiku mengelilingi penjuru alam yang belum pernah kulihat Cifa, Gusti Kadek, Dwi dan Ponco yang selama ini selalu menemani, mendengarkan segala keluh kesah, memberikan dukungan serta segala kebahagiaan dan kenangan yang di ukir bersama;
4. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung;
5. Dr. Dyah Wulan, Sumekar KM., M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
6. Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc., selaku Pembimbing Utama atas kesediaannya untuk meluangkan banyak waktu, memberikan nasihat, bimbingan, saran, dan kritik yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;
7. dr. Putu Ristyaning Ayu Sangging, S.Ked., M.Kes., Sp.PK selaku Pembimbing Kedua atas kesediaannya untuk meluangkan waktu, memberikan nasihat, bimbingan, saran, dan kritik yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini;
8. Dr. dr. Asep Sukohar, S.Ked., M.Kes, selaku Penguji Utama pada ujian skripsi atas kesediannya untuk meluangkan waktu, memberikan nasihat, ilmu, dan saran-saran yang telah diberikan;



9. dr. Oktafany, S.Ked., M.PD. Ked, selaku Pembimbing Akademik saya sejak semester 1 hingga semester 7, terima kasih atas bimbingan dan ilmu yang telah diberikan selama ini;
10. Seluruh staf dosen dan civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu, waktu, dan bimbingan yang telah diberikan dalam proses perkuliahan;
11. Sahabat seperjuangan, Ani, Ayu, Fauzia, Elma, Ina, Ica, Reni, Nova terima kasih untuk cinta, kasih sayang, dukungan, semangat, bantuan, doa, dan ketulusan yang telah kalian berikan;
12. Teman KKN di Bandar Surabaya “Rajawali” Atu Reni, Becca, Aden, Amin, Halvis, Harry, Bang Ebi, Fatma, Rizky, Robet yang sekarang menjadi sahabat dan keluarga. Terima kasih atas semangat, dukungan, bantuan, doa, dan kebahagiaan yang kalian berikan untukku. Kebersamaan 40 hari, kekompakan, suka duka saat KKN yang selalu ada tiap hari tidak akan terlupakan;
13. Teman seperjuangan skripsi Ina, Putra, Mustopa, Surya, dan Oka atas kerja sama, kerja keras, bantuan, semangat, dan doa yang telah diberikan selama melakukan penelitian;
14. Untuk CRANI4L 14 terima kasih atas kebersamaan, suka, duka, dan solidaritas selama 3,5 tahun perkuliahan ini, semoga kelak kita dapat menjadi dokter yang baik dan berguna bagi masyarakat;
15. Adik-adik angkatan 2015, 2016, dan 2017 terima kasih atas dukungan, bantuan, dan doa selama ini;
16. Semua yang terlibat dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu, terima kasih atas doa dan dukungan kalian.

Penulis menyadari skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan baru kepada setiap orang yang membacanya. Terima kasih.

Bandarlampung, 22 Juli 2019

Penulis

**Ni Putu Sari Widiyani**

## DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK .....	i
DAFTAR ISI .....	ii
DAFTAR TABEL .....	iv
DAFTAR GAMBAR .....	v
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	5
1.3. Tujuan Penelitian .....	5
1.4. Manfaat Penelitian .....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Rokok Elektronik .....	7
2.2. Struktur Histologi Paru .....	10
2.3. Pengaruh Rokok Elektronik pada Perubahan Histopatologi Alveolus .....	14
2.4. Teh Hijau .....	17
2.5. Kerangka Teori .....	20
2.6. Kerangka Konsep .....	21
2.7. Hipotesis .....	22



### BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian .....	23
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian .....	23
3.3. Populasi dan Sampel .....	23
3.4. Kriteria Inklusi dan Eksklusi .....	25
3.5. Bahan dan Alat Penelitian .....	25
3.6. Prosedur Penelitian .....	26
3.7. Alur Penelitian .....	32
3.8. Identifikasi Variabel .....	33
3.9. Definisi Operasional .....	34
3.10. Pengolahan Data .....	35
3.11. Analisis Data .....	35
3.12. Aspek Etika .....	36

### BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian .....	38
4.2. Pembahasan .....	43

### BAB V SIMPULAN

5.1. Simpulan .....	48
5.2. Saran .....	48

DAFTAR PUSTAKA .....	51
----------------------	----

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Definisi Operasional .....	34
2. Hasil Skor Rerata Kerusakan Alveolus .....	40
3. Hasil Uji Post Hoc LSD antar Kelompok Uji .....	41

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Komponen Rokok Elektrik .....	8
2. Gambaran Histologis Bronkiolus Terminalis .....	11
3. Gambaran Histologis Alveoli.....	13
4. Mekanisme ROS Menyebabkan Kerusakan Sel .....	15
5. Struktur Kimia Katekin dan Jenis Katekin .....	19
6. Kerangka Teori Pengaruh Ekstrak Teh Hijau Terhadap Struktur Histopatologi Alveolus Tikus Yang Terpapar Uap Rokok Elektronik .....	19
6. Kerangka Konsep Pengaruh Ekstrak Teh Hijau Terhadap Struktur Histopatologi Alveolus Tikus Yang Terpapar Uap Rokok Elektronik .....	20
7. Alur Penelitian Pengaruh Ekstrak Teh Hijau Terhadap Struktur Histopatologi Alveolus Tikus Yang Terpapar Uap Rokok Elektronik .....	32
8. Gambaran Histopatologi pada Kelompok 1 .....	43
9. Gambaran Histopatologi pada Kelompok 2 .....	44
10. Gambaran Histopatologi pada Kelompok 3 .....	44
11. Gambaran Histopatologi pada Kelompok Perlakuan 1 .....	45
12. Gambaran Histopatologi pada Kelompok Perlakuan 2 .....	46
11. Gambaran Histopatologi pada Kelompok Perlakuan 3 .....	46



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang Masalah**

Penggunaan rokok elektronik meningkat dengan cepat. Rokok elektronik merupakan perangkat yang dioperasikan dengan baterai yang digunakan untuk seseorang menghirup aerosol yang biasanya mengandung nikotin, perasa dalam *e-liquid*, dan bahan kimia lainnya. Rokok elektronik diciptakan oleh salah satu perusahaan di Cina pada tahun 2004 dan menyebar ke seluruh dunia hingga saat ini. Pada awalnya rokok elektronik dipromosikan sebagai alat bantu untuk berhenti merokok, dimana penggunaan rokok elektronik diklaim lebih aman di bandingkan rokok konvensional (Shields *et al.*, 2017).

Jumlah perokok di Indonesia menurut laporan *World Health Organization* (WHO) dalam epidemi tembakau tahun 2017 sebanyak 33,6% dari populasi Indonesia dimana 65,4% nya adalah laki-laki. Jumlah yang begitu banyak menempatkan Indonesia di peringkat empat dunia sebagai perokok terbanyak. Data kementerian kesehatan menunjukkan rerata seseorang perokok dimulai dari usia 15 tahun (*World Health Organization*, 2017). Pada tahun 2013 di Amerika Serikat diperkirakan 13,1 juta siswa sekolah menengah pertama dan atas sudah mengenal rokok elektronik. Mudahnya rokok elektronik untuk didapat, iklan, dan berbagai macam rasa dari *e-liquid* serta rasa lebih aman

dibandingkan rokok konvensional membuat perokok mulai mengubah kebiasaannya dalam menggunakan rokok konvensional. Tren ini menyebabkan rokok elektronik semakin populer di kalangan perokok dan non-perokok (Villanti *et al.*, 2017).

Kandungan dalam rokok elektronik bersifat toksik pada tubuh sehingga akan berdampak pada saluran pernafasan yang menyebabkan penyakit saluran nafas dan paru-paru. Cairan dan uap rokok elektronik mengandung glikol, nikotin, partikel, metal (timbal, kromium, silver, nikel, aluminium, kadmium dan merkuri) serta *tobacco-specific nitrosamine* (TSNAs) yang bersifat karsinogenik (Pisinger, 2014).

Pada studi eksperimental manusia, terdapat efek dari paparan uap rokok elektronik yang di observasi. Efek teringan yaitu kepala terasa pusing, iritasi tenggorokan dan batuk. Efek lainnya berupa peningkatan kejadian keracunan akibat tingginya kadar metabolit uap rokok elektronik. Gangguan yang dapat terjadi di tubuh berupa gangguan sistem pernapasan (peningkatan resistansi paru, penurunan fungsi dan kapasitas paru, tingginya risiko terjadi penyakit paru obstruksi kronik dan asma), sistem kardiovaskular (seperti peningkatan tekanan darah) atau temuan lainnya (Pisinger, 2014). Pada Husari *et al* (2016), paparan uap rokok elektronik terhadap sel alveolar menunjukkan terjadinya inflamasi pada sel alveolus yang ditandai terdapatnya infiltrasi makrofag dan limfosit yang berada di bronkiolus dan parenkim paru alveolus,

penebalan dinding alveolus, kongesti kapiler minimal dan edema paru minimal.

Paparan uap rokok elektronik menyebabkan tingginya konsentrasi nikotin dan partikel serta menyebabkan peningkatan kadar plasma kotinin. Hal ini akan menyebabkan terjadinya inflamasi, stres oksidatif dan kematian sel-sel di alveolar. Pada penelitian Carnevale dkk (2016), penggunaan rokok elektronik akan meningkatkan kadar terlarut derivat NOX-2 dan *8-iso-prostaglandin F2-alfa* dan penurunan bioavailabilitas nitrit oksida, kadar vitamin E dan *flow mediated dilation* (FMD) dimana semuanya sebagai penanda terjadinya stres oksidatif. Penelitian lainnya, pada Lerner *et al* (2014) menunjukkan paparan uap rokok elektronik akan meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi dan menurunkan kadar glutathion sebagai anti oksidan dalam keseimbangan redok selular.

Paparan uap rokok elektronik menyebabkan terjadinya stres oksidatif dan respon inflamasi pada sel dan jaringan alveolus yang akan menyebabkan konsekuensi kesehatan (Carnevale *et al.*, 2016; Lerner *et al.*, 2015). Hal ini akan menyebabkan hipersekreksi mukus pada bronkus, fibrosis dan proteolisis jaringan alveolus. Selain itu, adanya *Reactive Oxygen Species* meningkatkan terjadinya kerusakan kanal ion natrium di dinding sel alveolus akan meningkatkan risiko terjadinya akumulasi cairan di alveolus (Paola Rosanna & Salvatore, 2012).

Teh hijau merupakan salah satu sumber kaya polifenol, yang merupakan antioksidan yang terdapat di alam diantara beberapa jenis teh lainnya. Teh hijau terdiri dari monomer avanol atau disebut juga sebagai katekin. Katekin memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas yang lebih efektif dibandingkan vitamin C dan vitamin E. Antioksidan seperti polifenol dari teh hijau menarik perhatian akan fungsinya sebagai pencegah terjadinya penyakit akibat stres oksidatif termasuk kanker, penyakit kardiovaskular dan penyakit degeneratif. Pada studi terhadap hewan, konsumsi teh hijau memberikan manfaat menurunkan risiko terjadinya inflamasi. Pada studi *in vitro* menunjukkan, polifenol dalam teh hijau akan menurunkan pemecahan *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) sehingga kerusakan DNA menjadi minimal yang diinduksi paparan asap rokok pada sel bronkial yang di kultur (Azza, *et al.*, 2012). Teh hijau memberikan keuntungan akan sifatnya sebagai antioksidan pada hampir seluruh organ di tubuh berfungsi juga berfungsi sebagai antikarsinogenik, antimikroba, kesehatan gigi dan mulut, mengurangi terjadinya inflamasi, stress oksidatif, agregasi trombosit dan metabolisme lipid yang akan mengurangi risiko terjadi penyakit pulmo-kardiovaskular (Reygaert, 2017).

Pada penelitian Shekarforoush *et al* 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. Penelitian Kirana (2009) diketahui

bahwa pemberian dosis teh hijau sebanyak 0,06 gram dalam 5 ml aquadest dapat mencegah kerusakan struktur histopatologi paru-paru mencit yang di beri paparan asap rokok.

Melihat tingginya angka penggunaan rokok elektronik dan kandungannya yang bersifat toksik, peneliti ingin mengetahui apakah terdapat dampak perubahan gambaran histopatologi pada paru-paru dibandingkan paru-paru kelompok kontrol dan kelompok yang diberikan rokok konvensional. Penelitian ini juga dilakukan untuk melihat kemungkinan peran ekstrak teh hijau sebagai antioksidan dalam mencegah terjadinya stres oksidatif yang dapat dilihat pada gambaran histologi paru-paru tikus putih yang dipapar dengan uap rokok elektronik dan diberikan ekstrak teh hijau dalam kurun waktu dan dosis tertentu.

## **1.2. Rumusan Masalah**

1. Apakah terdapat pengaruh pemberian paparan uap rokok elektronik terhadap gambaran histopatologis paru-paru tikus putih?
2. Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol teh hijau terhadap gambaran histopatologis paru-paru tikus putih yang dipapar uap rokok elektronik?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui pengaruh pemberian uap rokok elektronik terhadap gambaran histopatologis paru-paru tikus putih

2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap gambaran histopatologis paru-paru tikus putih yang dipapar uap rokok elektronik..

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

##### **1. Bagi Ilmu Pengetahuan**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efek protektif ekstrak teh hijau terhadap gambaran histologis alveolus mencit yang terpapar uap rokok elektronik.

##### **2. Bagi Institusi**

Sebagai bahan kepustakaan dan meningkatkan penelitian di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

##### **3. Bagi Peneliti**

Diharapkan penelitian ini akan menambah wawasan peneliti dibidang Kedokteran dan bermanfaat dalam pengaplikasian disiplin ilmu yang telah dipelajari selama perkuliahan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

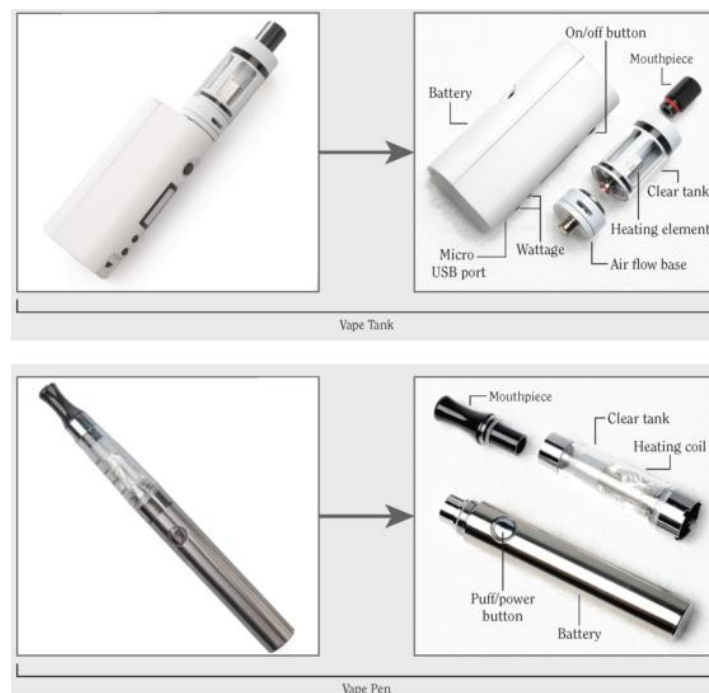
#### **2.1. Rokok Elektronik**

Indonesia menduduki peringkat ketiga dari 10 negara dengan tingkat perokok tertinggi di dunia setelah Cina dan India serta berada diatas Rusia dan Amerika. Jumlah perokok di Indonesia menurut laporan WHO dalam epidemi tembakau tahun 2017 sebanyak 33,6% dari populasi Indonesia. Rokok diperkirakan turut menyebabkan kemarian lebih dari 5 juta orang setiap tahun di seluruh dunia dan umumnya terjadi di negara dengan pendapatan perkapita rendah hingga sedang. Laporan WHO tersebut juga menyebutkan bahwa sebenarnya tidak ada batas ambang aman bagi perokok pasif ataupun aktif. Oleh karena itu, sebagai upaya menekan jumlah perokok dan menurunkan morbiditas serta mortalitasnya, WHO membentuk *WHO Framework Convention on Tobacco Control*, dimana salah satu upayanya yaitu terapi pengganti nikotin (*World Health Organization, 2017*).

Rokok elektronik merupakan salah satu bentuk terapi pengganti nikotin yang dirancang untuk memberikan nikotin tanpa pembakaran tembakau. Rokok elektronik atau yang disebut juga *e-cigarettes, e-vaporizers* merupakan perangkat yang menggunakan baterai untuk menghantarkan nikotin secara



elektronik dalam bentuk aerosol, yang mengandung nikotin, perisa, dan bahan kimia lain. Kebanyakan dari rokok elektronik terdiri atas empat komponen yaitu *reservoir* tempat penampung cairan, elemen pemanas (*atomizer*), baterai dan *mouthpiece*. Uap dari rokok elektronik dihasilkan dari pemanasan cairan yang berada di *reservoir* (U.S. Department of Health and Human Services, 2016).



**Gambar 1.** Komponen rokok elektronik (U.S. Department of Health and Human Services, 2016)

Cairan pada rokok elektronik atau disebut juga *e-liquid* serta uap dari rokok elektronik mengandung glikol, nikotin, partikel, metal (timbal, kromium, silver, nikel, aluminium, kadmium, dan merkuri), *tobacco-specific nitrosamines* (TSNAs) yang bersifat karsinogenik. Selain itu, juga terdapat karbonil (formaldehida, asetaldehida, dan akrolein), komponen volatile organik seperti *benzene*, *toluene* dan 2,5-dimetilfuran, serta hidrokarbon dan polisiklik aromatik hidrokarbon (PHA) (Pisinger, 2014).

*E-cigarette liquid* mengandung gliserol dan / atau propilen glikol, perasa, nikotin (0-24 mg / mL), dan aditif lainnya. Kotinin adalah produk yang terbentuk setelah nikotin memasuki tubuh. Pengiriman nikotin melalui asap (rokok) diserap dalam waktu 10 hingga 20 detik dalam konsentrasi tinggi melalui paru-paru ke dalam aliran darah, mencapai otak dalam konsentrasi tinggi yang sama dalam 10 detik. Dalam 10 menit merokok, nikotin plasma mencapai puncaknya pada 15 hingga 30 ng/mL. Pada manusia, sekitar 70% hingga 80% nikotin yang terserap dimetabolisme menjadi. Waktu paruh eliminasi kotinin jauh lebih lama daripada nikotin, dan variasi diurnal dalam kotinin lebih kecil daripada nikotin pada perokok kotinin (Marsot & Simon, 2016).

Berdasarkan fakta yang disebutkan sebelumnya, kotinin plasma telah digunakan sebagai penanda paparan asap rokok, termasuk status merokok perorangan. Selanjutnya, dengan konsentrasi nikotin yang cukup kuat dalam cairan "*e-juice*" dimuat ke dalam rokok elektronik, nikotin plasma mencapai tingkat yang lebih rendah tetapi masih sebanding dengan yang dihasilkan dari merokok rokok konvensional (Mendizábal, Jones, Jahn, Bies, & Brown, 2016).

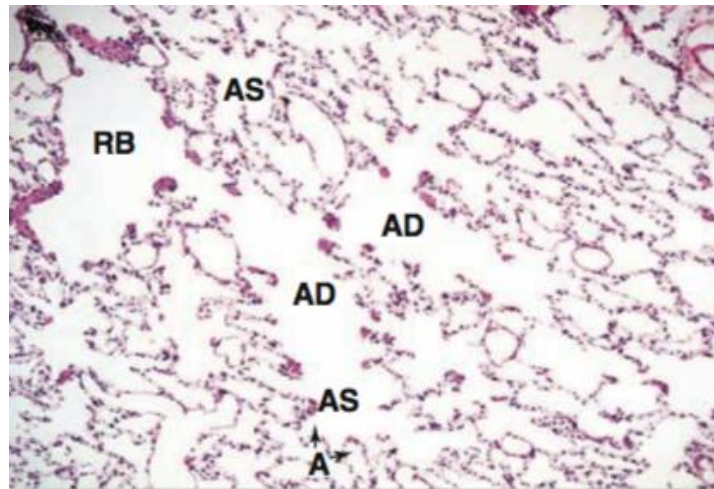
Komponen yang terdapat dalam cairan dan uap rokok elektronik bersifat toksik dan karsinogenik pada tubuh. Pada studi observasi eksperimental, hal yang dapat terjadi yaitu sitotoksik, stres oksidatif dan inflamasi serta

kerusakan DNA dan ekspresi gen dari sel yang terpapar uap rokok yang nantinya akan menimbulkan gangguan pada sistem pernafasan, kardiovaskular maupun sistem lainnya (Callahan-Lyon, 2014).

## **2.2. Struktur Histologis Paru**

Sistem pernapasan berfungsi menyelenggarakan pengambilan oksigen dan pembuangan karbon dioksida oleh darah. Pada sistem pernapasan terdapat dua bagian yaitu bagian konduksi yang menghantarkan udara pernafasan, menyalurkan, memberi kelembaban dan menyesuaikan suhu yaitu pada organ hidung, laring, trakea, bronkus dan bronkiolus. Pada bagian respirasi berfungsi melakukan pertukaran udara dalam pernapasan yaitu pada organ duktus alveoli, sakus alveoli dan alveoli (Anthony, 2014).

Pertukaran gas antara udara dan darah terjadi saat udara dan darah berada berdekatan. Kondisi ini terjadi pertama kali di bronkiolus terminal, yang merupakan transisi dari fungsi konduksi menjadi fungsi respirasi di paru. Dinding dari bronkiolus terdiri atas jaringan ikat kolagen dengan dikelilingi otot polos dan fiber elastis. Bronkiolus respiratori yang besar dilapisi oleh epitel kuboid selapis dengan beberapa sel yang bersilia dan sel goblet (Anthony, 2014).



**Gambar 2.** Gambaran histologis bronkiolus terminalis  
 Keterangan: RB bronkiolus respiratori, AS sakus  
 alveolus, AD duktus alveolus,  
 A alveolus individual  
 (Anthony, 2014)

Alveoli bud dari dinding bronkiolus respiratori menunjukkan porsi respirasi pada jalan nafas. Bronkiolus respiratori berakhir membentuk cabang-cabang duktus alveolus. Bagian pernapasan terdiri dari bronkiolus pernapasan, duktus alveolar, kantung alveolar, dan alveoli. Pada dasarnya sistem pernapasan terdiri dari seperangkat ruang udara bercabang, yang dekat dengan kapiler paru. Ruang udara ditukar sekitar 10 hingga 15 kali per menit. Ruang udara berada dalam 0,2 $\mu$ m darah, yang merupakan penghalang yang sangat tipis untuk difusi. Pengaturan ini berarti ada transfer oksigen dan karbon dioksida yang cepat dan efisien antara darah dan udara, fungsi utama dari bagian pernapasan (Anthony, 2014).

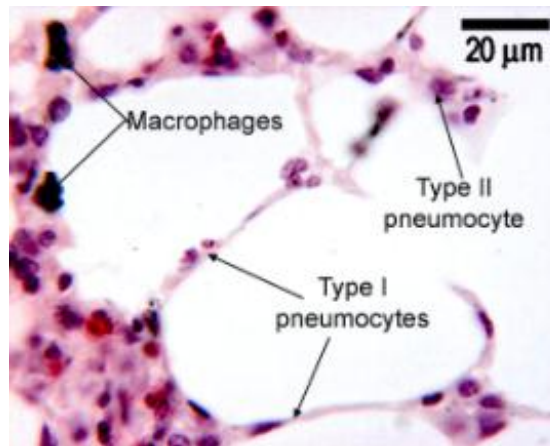
Duktus alveolus merupakan dinding tipis yang terdiri dari beberapa alveoli. Alveoli merupakan dinding tipis berstruktur polyhedral yang memiliki berbagai macam ukuran yang akan membuka saat udara mengisi rongga

alveoli. Jumlah dari alveoli yaitu 300-800 juta (kedua paru) dan memberikan luas permukaan sebesar 70-95 meter persegi untuk pertukaran udara. Setiap alveolus dipisahkan oleh septum intraalveolar yang kaya akan kapiler darah yang berada di dinding septumnya. Fiber reticular dan elastis membentuk septa. Peregangan pada alveoli akan meregangkan dinding septa sehingga alveoli berdiameter 1-10 mikrometer, hal ini memungkinkan komunikasi dan equalisasi tekanan udara diantara alveoli. Pada setiap sisi dinding alveolus dilapisi oleh epitel yang berada diatas membran basal. Pada beberapa area, lamina epitel basal berjarak 15-20 nanometer ke kapiler darah (Krause, 2005).

Pada alveoli terdapat dua jenis sel yaitu sel pneumosit tipe I dan tipe II. Sel pneumosit tipe I memiliki sel pipih besar dimana 95% dari total luas alveolar yang menghadirkan penghalang difusi yang sangat tipis untuk gas. semua sel epitel tipe I memiliki taut kedap yang berfungsi mencegah perembesan cairan jaringan ke dalam ruang udara alveolus (Krause, 2005).

Pneumosit tipe II menyusun 5% dari total luas alveolar, tetapi 60% dari total jumlah sel). Sel-sel ini mensekresi 'surfaktan' yang menurunkan tegangan permukaan antara dinding alveolar yang tipis, dan menghentikan alveoli kolaps ketika menghembuskan napas. sel-sel ini terhubung ke epitel dan sel-sel penyusun lainnya oleh *tight junction* Pada sediaan histologi, sel sel tipe II menampilkan ciri sitoplasma, bervesikel yang khas dan berbusa. Vesikel ini disebabkan adanya badan lamella yang tetap terpelihara mengandung lamella. Konsentris atau parallel yang dibatasi suatu membrane unit. Badan berlamel

menghasilkan materi yang menyebar di atas permukaan alveolus berupa surfaktan paru, membentuk lapisan ekstrasel yang menurunkan tegangan permukaan (Anthony, 2014).



**Gambar 3.** Gambaran histologi alveoli (Anthony, 2014)

Pada septa juga terdapat makrofag *dust cell*, yang penting untuk mengingesti bakteri dan partikel, makrofag berasal dari monosit, yang telah lolos dari kapiler darah. Alveoli adalah cabang terminal paru-paru di mana mayoritas pertukaran gas terjadi. Karena itu hanya ada sejumlah kecil sel kekebalan yang hampir seluruhnya terdiri dari makrofag alveolar. Makrofag ini mensekresikan sejumlah besar anti-mikroba termasuk metabolit oksigen, lisozim, peptida antimikroba dan protease. Mereka juga fagositosis dan membunuh mikroba. Makrofag alveolar penting untuk perekrutan sel-sel kekebalan lain ketika ancaman besar oleh sekresi sitokin (faktor interleukin-1, -6, dan *tumor necrosis*) dan kemokin (termasuk interleukin-8, yang merekrut neutrofil). Mereka juga dapat memproses dan menyajikan antigen ke sel T helper dan sitotoksik (Krause, 2005).

### 2.3. Pengaruh Rokok Elektronik Pada Perubahan Histopatologi Paru-Paru

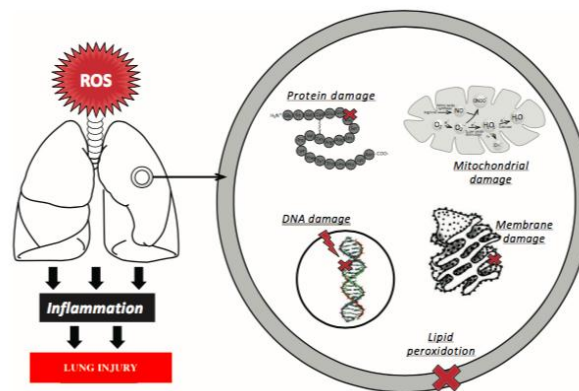
Rokok elektronik secara cepat populer di dunia. Uap rokok elektronik dihasilkan dari pemanasan cairan sehingga tidak terjadi pembakaran tembakau untuk menghasilkan aerosol yang mengandung nikotin dan komponen lainnya. Dengan cara kerja yang seperti ini nampak terlihat rokok elektronik dapat mengurangi paparan toksik yang dihasilkan rokok konvensional (*U.S. Department of Health and Human Services, 2016*).

Komponen dari rokok elektronik terbanyak yaitu glikol. Glikol digunakan dalam industri teater dan penerbangan yang diketahui sebagai iritan jalan nafas atas. Glikol dapat membuat membran mukosa menjadi lebih kering. Bahan selanjutnya yaitu nikotin, yang dapat masuk ke dalam tubuh melalui jalan nafas, kulit, membran mukosa dan traktus gastrointestinal. Pada rokok elektronik, dapat terjadi peningkatan risiko toksisitas terhadap nikotin akibat availabilitas yang tinggi pada reservoir cairan rokok elektronik. Kadar paparan nikotin bergantung pada aerosolisasi, produk dan penggunaannya. Nikotin yang terdapat dalam aerosol dapat menetap pada permukaan dalam waktu mingguan hingga bulanan sehingga dapat bereaksi dengan asam nitrat untuk memproduksi TSNA yang dapat terhirup, teringesti atau kontak pada kulit yang menyebabkan karsinogen (*Callahan-Lyon, 2014*).

Terdapat  $10^{15}$  radikal bebas yang dilepaskan dalam setiap hisap rokok konvensional dimana terdapat kandungan nanopartikel logam berat yang juga



terdapat pada uap rokok elektronik yang sama kadarnya setiap hisapan. Logam berat ini berpotensi mengganggu keseimbangan redoks dan status oksidasi dan berpotensi memproduksi *oxidants/reactive oxygen species* (OX/ROS). OX/ROS yang terdapat pada uap rokok elektronik memiliki dampak berupa munculnya stres oksidatif pada sel, ketidakseimbangan redoks, dan inflamasi pada paru-paru. *Reactive oxygen species* (ROS) dari asap rokok atau dari sel-sel inflamasi diperantarai oleh *hidroxyl radical* ( $\text{OH}^-$ ), *peroxynitrite* ( $\text{ONOO}^-$ ), *superoxide anion* ( $\text{O}_2^-$ ) dan *hydrogen peroxide* ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (Domej, *et al.*, 2014; Lerner *et al.*, 2015).



**Gambar 4.** Mekanisme ROS menyebabkan kerusakan sel (Domej, *et al.*, 2014).

*Reactive Oxygen Species* (ROS) membanjiri pertahanan antioksidan dengan menyebabkan kerusakan protein, pembentukan peroksidase lipid dan kerusakan DNA yang akan menghasilkan konsekuensi patologis. Paparan rokok elektronik akan mengaktivasi makrofag alveolar dan sel epitel jalan nafas untuk memproduksi sitokin pro-inflamasi yang menyebabkan rekrutmen infiltrasi sel inflamasi dari darah ke paru-paru. Pada saat yang bersamaan, mekanisme protektif tetap berjalan, dimana fibroblast

memperbaiki jaringan yang terinflamasi sehingga aktivitas pro-inflamasi dan anti-inflamasi berjalan bersamaan (Domej, *et al.*, 2014).

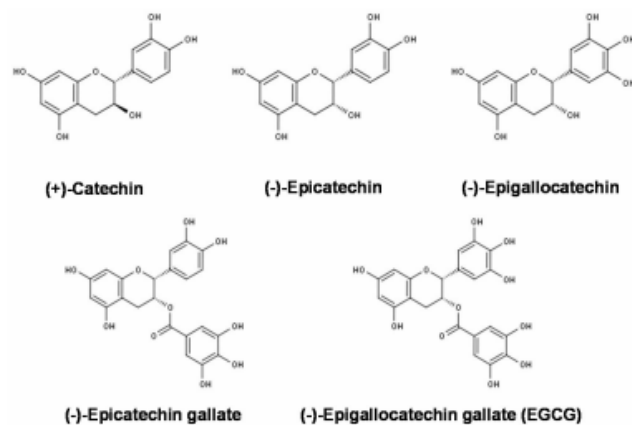
Sitokin inflamasi seperti TNF-alfa, interleukin (IL) dan interferon serta mediator sitotoksik lain seperti ROS, metalloproteinase dan mediator terlarut menginduksi terjadinya inflamasi yang kronik. Hal ini menyebabkan proliferasi sel yang tidak terregulasi, invasi sel dan angiogenesis serta instabilitas genomik. Inflamasi kronik menyebabkan pembesaran kelenjar mukus dan *remodeling* dinding bronkus sehingga menyebabkan hipersekresi mukus, fibrosis dan proteolisis jaringan paru. Selain itu terjadi overekspresi pada saluran ion natrium mengakibatkan reabsorpsi berlebihan natrium dan cairan yang menyebabkan akumulasi cairan di jaringan paru yang dapat menyebabkan edem paru. Selain itu, akibat stres oksidatif yang menghasilkan ROS, akan menginaktivasi protein surfaktan sehingga paru akan kehilangan kemampuan untuk menjaga tegangan alveolus saat bernafas. Kerusakan sel epitel jalan nafas terjadi akibat peningkatan kerusakan DNA oksidatif yang berkaitan dengan jumlah logam terlarut dan komponen dari uap rokok elektronik (Paola Rosanna & Salvatore, 2012).

Merokok menyebabkan onkogenesis melalui inflamasi yang diinduksi oleh aktivasi NF-kappaB dan *Single Transducer and Activator of Transcription 3* (STAT3), dan menstimulasi kemampuan bertahan sel paru. Sitokin inflamasi yang ditemui pada perokok (seperti IL-6, IL8, IL10, IL33) memiliki asosiasi

dengan risiko kanker paru ataupun penyakit paru lainnya (Domej, *et al.*, 2014).

#### 2.4. Teh Hijau

Teh adalah salah satu minuman yang paling banyak dikonsumsi di seluruh dunia di mana teh hijau (*Camellia sinensis*) menyumbang sekitar 20% dari total konsumsi teh. Teh, produk yang diperoleh dari daun dan tunas tanaman *Camellia sinensis*, adalah salah satu dari minuman paling populer di dunia. Teh hijau ditemukan di Cina pada 3000 SM atau lebih awal, dan telah diakui memiliki efek obat. Beberapa komponen teh memiliki manfaat kesehatan tertentu. Katekin, yang merupakan senyawa polifenol, terkait dengan efek anti-kanker, anti-obesitas, anti-aterosklerotik, anti-diabetes, anti-bakteri, anti-virus, dan anti-gigi dari teh. Teh hijau berisi empat jenis katekin yaitu *epicatechin* (EC), *epigallocatechin* (EGC), *epicatechin-3-gallate* (ECG), dan *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) (Suzuki, *et al.*, 2016).



**Gambar 5.** Struktur kimia katekin dan jenis katekin lain (Suzuki, *et al.*, 2016).

Teh hijau adalah sumber kaya polifenol, yang merupakan antioksidan di alam. Anti-oksidan alami, seperti polifenol dari ekstrak teh hijau, baru-baru ini menarik perhatian besar untuk mencegah penyakit yang terkait dengan stres oksidatif termasuk kanker, penyakit kardiovaskular dan penyakit degeneratif. Penelitian model-hewan telah dikaitkan dengan konsumsi teh hijau dengan manfaat kesehatan, termasuk penurunan risiko inflamasi (Suzuki, *et al.*, 2016).

Studi *in vitro* menunjukkan bahwa polifenol teh hijau dapat mengurangi kerusakan untai DNA yang disebabkan oleh asap rokok pada sel bronkus manusia. Hasilnya menunjukkan bahwa teh hijau dapat secara signifikan mengurangi kerusakan DNA. Polifenol teh menunjukkan peran perlindungan terhadap kerusakan hati pada banyak model hewan dari penyakit hati, fibrosis hati, dan kerusakan iskemia-reperfusi hati. Sifat antioksidan, ROS *scavenging*, dan modulasi fungsi sel flavonoid. Teh hijau adalah minuman populer yang dikonsumsi di seluruh dunia, dan juga memiliki efek kemopreventif dalam berbagai organ target dalam model karsinogenesis hewan pengerat (Azza, *et al.*, 2012).

Polifenol dalam teh, terutama flavonoid, terkenal karena sifat antioksidan mereka. Aktivitas antioksidan polifenol teh hijau terutama dikaitkan dengan kombinasi cincin aromatik dan gugus hidroksil yang menyusun struktur kimianya dan akibatnya mengikat dan menetralkan radikal bebas lipid oleh gugus hidroksil ini. Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa polifenol

dan katekin teh adalah donor elektron yang luar biasa dan pemulung efektif dari reactive oxygen species fisiologis yang relevan secara in vitro, termasuk radikal peroksida superoksida anion, dan oksigen tunggal. Katekin juga menunjukkan Katekin teh hijau juga menunjukkan aktivitas antioksidan melalui menghambat enzim pro-oksidan dan mendorong enzim antioksidan (Habiburohman & Sukohar, 2018).

Studi spesifik tentang peradangan secara kasar dapat dikategorikan menjadi: penghambatan interaksi neutrofil-endotelium, modulasi fungsi neutrofil dan apoptosis, dan regulasi faktor inflamasi. Migrasi dan fungsi neutrofil adalah bagian integral dari respon inflamasi, jadi mengendalikan neutrofil sangat penting dalam mengurangi inflamasi. Penelitian telah menunjukkan, katekin pada teh hijau menyebabkan pengurangan jumlah molekul adhesi sel-sel leukosit-endotel (CAM) yang diekspresikan pada permukaan sel endotel. Penelitian lain telah menunjukkan bahwa faktor-faktor yang diketahui mengatur fungsi neutrofil, seperti IL-1 $\beta$ , IL-2, TNF- $\alpha$ , dan *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF), ditekan oleh konsumsi teh hijau atau EGCG, menghasilkan penghambatan peradangan. Studi tentang penghambatan faktor pro-inflamasi telah menunjukkan bahwa katekin teh hijau menurunkan regulasi banyak chemokin inflamasi, sitokin, dan penanda inflamasi seperti: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, Interferon gamma (INF- $\gamma$ ), dan protein C-reaktif (CRP) (Reygaert, 2017).

*Reactive Oxygen Species* (ROS) pada stres oksidatif mampu menyebabkan peradangan kronis melalui induksi sitokin inflamasi dan kemokin, dan pro-inflamasi, faktor transkripsi. Secara umum, katekin teh hijau telah ditemukan memiliki aktivitas antioksidan, dengan menghambat faktor transkripsi redoks sensitif dan pro-oksidan enzim, pembilasan ROS dan menginduksi enzim anti-oksidan. Hasil dari penelitian terbaru menunjukkan bahwa katekin teh hijau dapat mempengaruhi tingkat ROS, meningkatkan kadar antioksidan, menurunkan kadar zat peradangan, dan meningkat TAC (TAS) (Reygaert, 2017).

Pada penelitian ini, teh hijau akan diberikan dalam bentuk ekstrak. Ekstrak teh hijau akan diberikan melalui jalur parenteral yaitu melalui intraperitoneal. Faktor kunci dalam menentukan rute *intake* ekstrak teh hijau yang dipilih adalah agen diberikan untuk efek sistemik (baik enteral melalui saluran pencernaan atau parenteral di luar saluran pencernaan). Metode pemberian parenteral biasanya menghasilkan bioavailabilitas zat tertinggi karena metode ini menghindari efek aliran pertama metabolisme hati, yang terjadi secara umum dengan bahan kimia yang diberikan secara oral dan terapeutik (Turner *et al*, 2011).

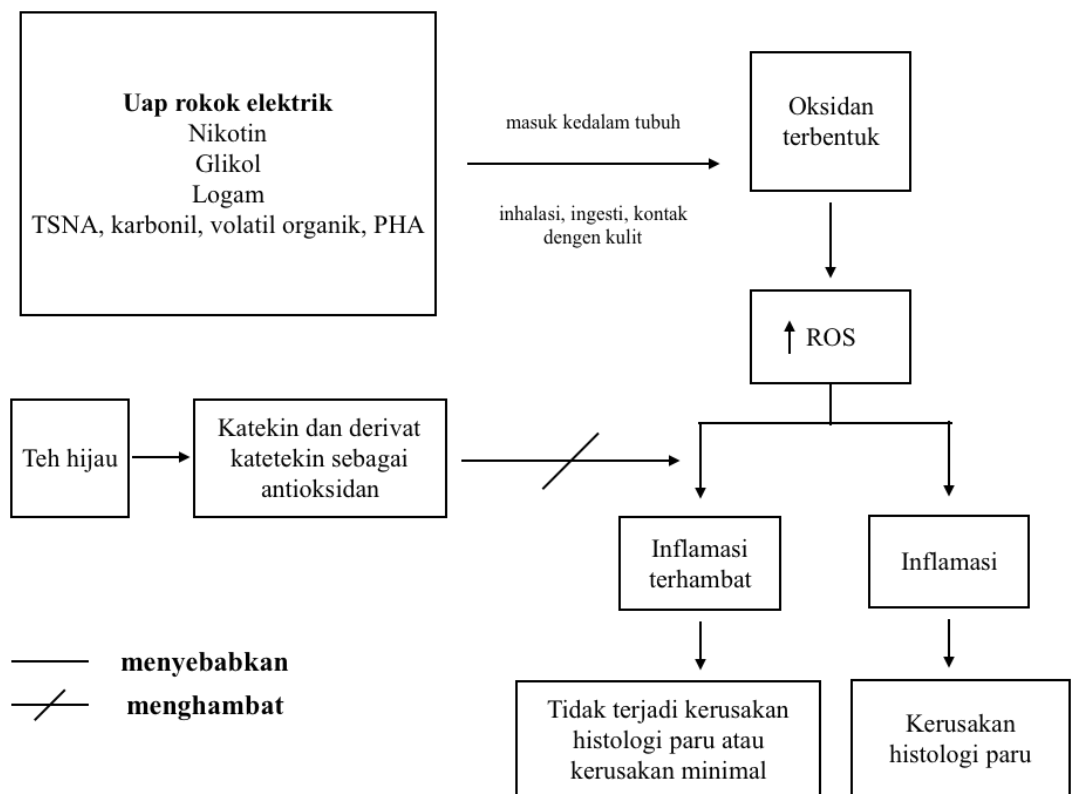
Injeksi zat ke dalam rongga peritoneum adalah teknik umum pada tikus tetapi jarang digunakan pada mamalia dan manusia yang lebih besar. Injeksi intraperitoneal digunakan untuk spesies kecil yang akses intravenanya sulit dan dapat digunakan untuk mengadministrasi volume besar cairan dengan

aman atau sebagai situs repositori untuk implantasi bedah minipump osmotik yang telah dimuat. Penyerapan bahan yang diberikan secara intraperitoneal biasanya jauh lebih lambat daripada untuk injeksi intravena. Meskipun pemberian secara intraperitoneal dianggap sebagai rute administrasi parenteral, farmakokinetik zat yang diberikan secara intraperitoneal lebih mirip dengan yang terlihat setelah pemberian oral, karena rute utama penyerapan adalah ke pembuluh mesenterika, yang mengalir ke vena portal dan melewati hepar (Turner *et al*, 2011).

## **2.5. Kerangka Teori**

Uap elektronik yang terdiri dari nikotin, glikol, logam dan kandungan lainnya seperti TSNA, karbonil, volatil, organik dan polisiklik aromatik hidrokarbon (PHA). Paparan uap rokok elektronik dapat masuk ke dalam tubuh melalui inhalasi, ingesti atau dapat secara langsung berkontak dengan kulit. Kandungan dari asap rokok berupa oksidan dapat meningkatkan terjadinya stres oksidatif di dalam tubuh yang ditandai dengan peningkatan aktivitas ROS. Hal ini menyebabkan inflamasi pada jaringan tubuh. Inflamasi yang berjalan secara kronik akan memicu terjadinya kerusakan jaringan histopatologi pada alveolus paru.



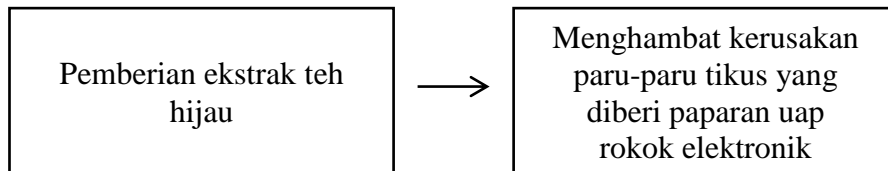


**Gambar 4.** Kerangka Teori Pengaruh Ekstrak Teh Hijau terhadap Struktur Histopatologi Paru-paru Tikus yang Terpapar Uap Rokok Elektronik

Teh hijau merupakan salah satu jenis antioksidan yang dikenal secara luas. Teh hijau mengandung katekin dan derivat katekin lainnya. Sebagai antioksidan, teh hijau memiliki peran dalam penghambatan interaksi neutrofil-endotelium, modulasi fungsi neutrofil dan apoptosis, dan regulasi faktor inflamasi, sehingga teh hijau dapat bermanfaat dalam mencegah kerusakan histopatologi alveolus.

## 2.6. Kerangka Konsep

Untuk mengetahui hubungan antara variabel yang diteliti maka perlu dibuat kerangka konsep, agar tujuan penelitian dapat dicapai dengan baik. Kerangka konsep pada penelitian ini dapat dilihat



**Gambar 7.** Kerangka Konsep Pengaruh Ekstrak Teh Hijau terhadap Struktur Histopatologi Paru-paru Tikus yang Terpapar Uap Rokok Elektronik

## 2.7. Hipotesis

1. Terdapat pengaruh pemberian paparan uap rokok elektronik terhadap perubahan struktur histopatologi Paru-paru tikus putih (*Ratus novergicus*) galur *Sprague dawley*.
2. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap perubahan struktur histopatologi Paru-paru tikus putih (*Ratus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipapar uap rokok elektronik.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan metode rancangan eksperimen. Penelitian ini mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol. Subjek penelitian yang akan digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa galur *Sprague dawley*.

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

Penelitian ini dilakukan selama 1 bulan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Tikus akan di pelihara di *pet house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

#### **3.3 Populasi dan Sampel**

##### **3.3.1 Populasi Penelitian**

Populasi yang akan digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* berumur 3-4 bulan dengan berat sekitar 200-300 gram.

### 3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel adalah objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi. Adapun untuk uji eksperimental, penentuan jumlah sampel ditentukan menurut rumus Frederer, yaitu :

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

Dimana t merupakan jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah pengulangan atau jumlah sampel setiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 6 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel menjadi :

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

$$6n-6 > 15$$

$$6n > 21$$

$$n > 3,5$$

Jadi, berdasarkan 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 :

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

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

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

$$N = 4 / 0,9$$

$$N = 4,4$$

Jadi total sampel yang digunakan tiap kelompok percobaan adalah sebanyak 5 ekor ( $N = 4,4$  dibulatkan). Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus yang dibagi kedalam 6 kelompok.

### **3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi**

#### **3.3.3 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)

#### **3.3.4 Kriteria Eksklusi**

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

### **3.5 Bahan dan Alat Penelitian**

#### **3.5.1 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan untuk membuat preparat histologis dengan metode paraffin meliputi: larutan formalin 10% untuk fiksasi, alkohol 70%, alkohol 96%, alkohol absolut, etanol, *xylol*, pewarna Hematoksisilin dan Eosin, dan entelan. Sedangkan bahan untuk membuat ekstrak teh hijau adalah teh hijau dan etanol 80%.

### 3.5.2 Alat Penelitian

1. Alat yang digunakan selama perlakuan dalam penelitian adalah kandang tikus terbuat dari bahan plastik berukuran 40x20x20 cm<sup>3</sup> dengan tutup kawat, neraca analitik *metler toledo* dengan tingkat ketelitian 0,01 g untuk menimbang berat tikus, spuit 1cc, minor set untuk membedah tikus (laparatomi), *handschoen*, kandang tikus, botol minum tikus, dan kamera digital.
2. Alat yang digunakan dalam 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*.

## 3.6 Prosedur Penelitian

### 3.6.1 Prosedur Perlakuan

Prosedur perlakuan, pembuatan dan pembacaan preparat dijelaskan sebagai berikut:

1. 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 elektronik. Kelompok 3 sebagai kelompok perlakuan coba, dimana diberikan paparan uap rokok elektronik dan diikuti pemberian ekstrak teh

hijau 50 mg/kgBB injeksi intra peritoneal (IP). Kelompok 4 sebagai kelompok perlakuan coba dengan pemberian paparan uap rokok elektronik dan diikuti pemberian ekstrak teh hijau 100 mg/kgBB IP, kelompok 5 sebagai kelompok perlakuan coba diberikan paparan uap rokok elektronik dan diikuti pemberian ekstrak teh hijau 200mg/kgBB IP. Kelompok 6 hanya diberikan paparan asap rokok .

2. Pada saat pemaparan asap, *smoking box* ditutup rapat dengan plastik putih transparan. Paparan uap yang diberikan setiap hari berturut-turut dengan dosis 20 kali hisapan selama dua minggu.
3. Injeksi *intra peritoneal* dilakukan dengan cara memposisikan tikus dengan bagian abdomen berada di atas, bagian kranial di bawah. Secara lembut tikus digoyang-goyangkan 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 3-4 mm). Aspirasi dilakukan untuk memastikan organ berongga abdomen tidak tertusuk. Ujung jarum di penetrasikan ke dinding abdomen kuadran kiri bawah. Lalu injeksikan perlahan.
4. Pengukuran Berat Badan (BB) tikus sebelum perlakuan dimulai dengan neraca analitik *Metler Toledo*.
5. Tikus yang diberi paparan uap rokok elektronik dan diberikan ekstrak teh hijau. Tikus diberikan pakan standar secara *ad libitum*.

6. Setelah itu, 5 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 Kerusakan Paru-paru dinilai dari adanya destruksi septum alveolar, oedema paru, dan infiltrasi sel radang berdasarkan kriteria Hansel dan Barnes (2004).
8. Difiksasi menggunakan formalin 10%.
9. Teknik pembuatan preparat histopatologi.

**b. Fixation**

Fiksasi spesimen yang berupa potongan organ paru-paru segera dengan larutan pengawet formalin 10%. Cuci dibawah air mengalir.

**c. Trimming**

Organ dibuat kecil kurang lebih 3 mm. Selanjutnya organ paru-paru dimasukkan ke *embedding cassette*.

**d. Dehydration.**

Air dikeringkan dengan menggunakan kertas tisu pada



*embedding cassette*. Perendaman organ paru-paru dimulai berturut-turut dengan alkohol 80%, 95%, 95%, alkohol absolut I, II, III masing-masing selama satu jam.

**e. Clearing**

Alkohol dibersihkan dengan menggunakan *xylol* I, II, III masing-masing selama 1 jam.

**f. Impregnasi**

Paraffin I, II, III digunakan masing-masing selama 2 jam dalam inkubator dengan suhu 65,1 derajat selsius.

**g. Embedding**

Tuang paraffin dalam pan, pindahkan satu per satu *embedding cassette* ke dasar pan. Lepaskan paraffin yang berisi paru-paru dari pan dengan memasukkan ke dalam suhu 4-6 derajat selsius selama beberapa saat. Potong paraffin sesuai dengan letak jaringan dengan menggunakan scalpel/pisau hangat. Letakkan pada balok kayu, ratakan pinggirnya dan buat ujungnya sedikit meruncing. Blok paraffin siap dipotong dengan mikrotom.

**h. Cutting**

Sebelum memotong, dinginkan blok terlebih dahulu. Lakukan potongan kasar lanjutkan potongan halus sebesar 3 mikron. Pilih 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.

***i. 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, III selama 5 menit. Kedua, zat kimia yang digunakan adalah alkohol absolut I, II, 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 paru-paru dalam akuades selama 1 menit dengan sedikit menggoyang-goyangkan organ. Keenam, mencelupkan organ dalam asam alkohol 2-3 celupan. Ketujuh, dibersihkan dalam aqudest 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%, alcohol absolut III dan IV masing-masing selama 3 menit. Terakhir, memasukkan kedalam *xylol* IV dan V masing-masing selama 5 menit.

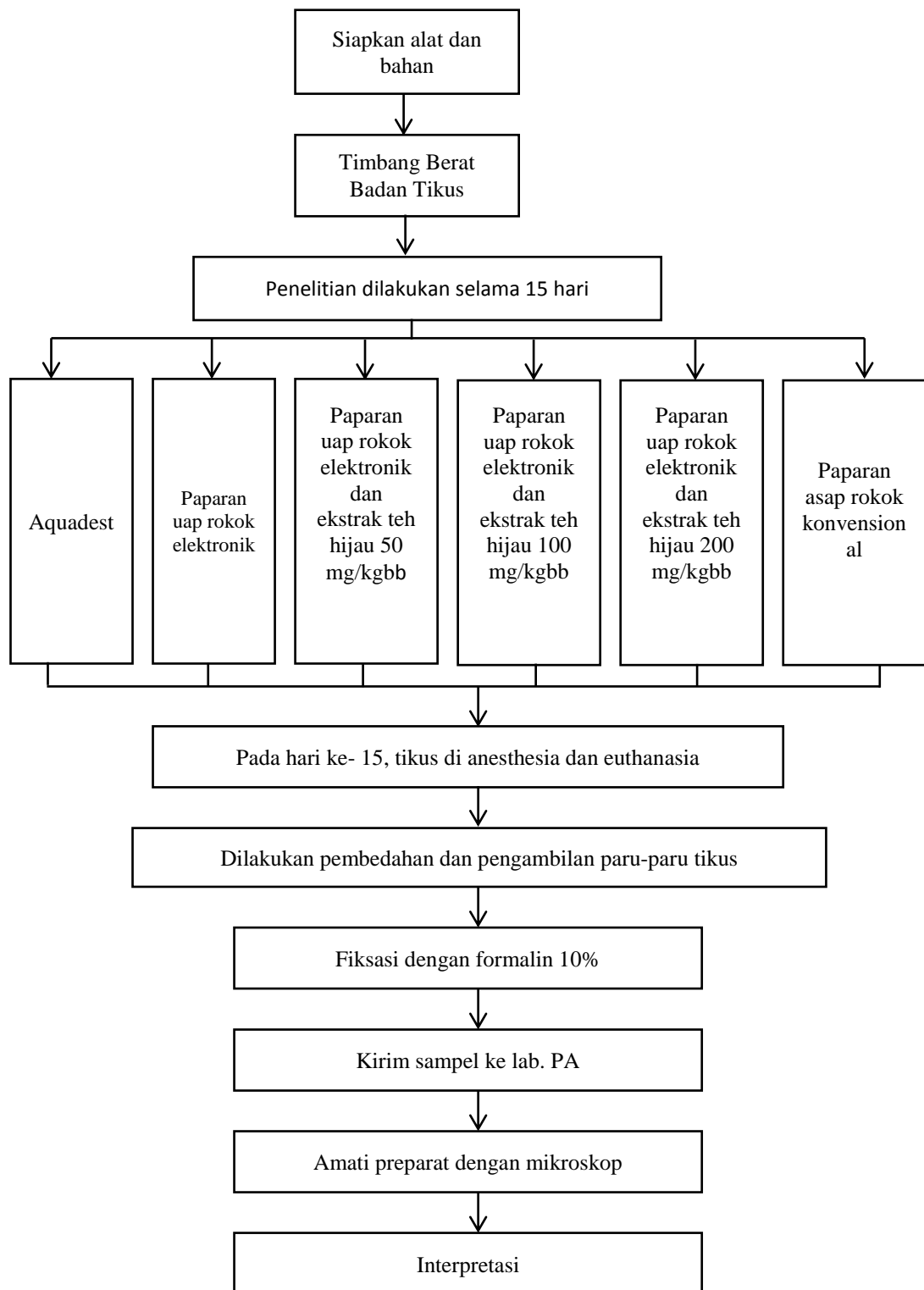
***j. Mounting***

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

***k. Pembacaan***

Slide dilakukan pemeriksaan di Laboratorium Histologis Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.

### 3.7. Alur Penelitian



**Gambar 7.** Alur Penelitian Pengaruh Ekstrak Teh Hijau Terhadap Struktur Paru-paru Tikus Yang Terpapar Uap Rokok Elektronik

### **3.8. Identifikasi Variabel**

#### 3.8.1 Variabel Bebas

Pada penelitian ini yang termasuk dalam variabel bebas adalah ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dan paparan uap rokok elektronik yang diberikan kepada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

#### 3.8.2 Variabel Terikat

Pada penelitian ini yang termasuk ke dalam variabel terikat adalah gambaran histopatologis paru-paru yang diberi paparan uap rokok elektronik.

### 3.9. Definisi Operasional

**Tabel 1.** Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara ukur	Hasil ukur	Skala Ukur
Ekstrak etanol teh hijau	Ekstrak teh hijau diberikan intraperitoneal (Shekarforoush <i>et al.</i> , 2013)	Perhitungan manual	Dosis dalam penelitian : 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB	Ordinal
Paparan uap rokok elektronik	Paparan asap yang diberikan setiap hari berturut-turut dengan dosis 20 kali hisapan selama dua minggu.	Stopwatch dan sput	K1= Kontrol K2, P1, P2, P3=20x hisapan K3=1 batang rokok	Ordinal
Histologi Paru-paru	Pemeriksaan gambaran histopatologi paru-paru menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400 kali dengan melihat kerusakan jaringan. Hasil pemeriksaan setiap lapang pandang di jumlah kemudian di rata-rata (Hansel & Barnes, 2006 dalam Kirana, 2009).	Mikroskop cahaya	Gambaran histopatologi pemeriksaan dilihat dari 3 parameter yaitu oedema paru, destruksi septum alveolar, dan infiltrasi sel radang. Skoring dari masing – masing parameter tersebut pada setiap sampel dijumlahkan.	Numerik

### 3.10. Pengolahan Data

Kerusakan paru-paru dinilai dari adanya destruksi septum alveolar, edema paru, dan infiltrasi sel radang berdasarkan kriteria Hansel dan Barnes (2004).

a. Oedema Paru, dengan skoring :

0 : tidak terjadi perubahan struktur histologis

1 : oedema pada kurang dari sepertiga dari seluruh lapang

pandang

1 : oedema pada kurang dari sepertiga dari seluruh lapang pandang

2 : oedema pada sepertiga hingga dua pertiga dari seluruh lapang pandang

3 : oedema pada lebih dari dua pertiga dari seluruh lapang pandang

b. Destruksi Septum Alveolar, dengan skoring :

0 : tidak terjadi perubahan struktur histologis

1 : destruksi septum alveolar pada kurang dari sepertiga dari seluruh lapang pandang

2 : destruksi septum alveolar pada sepertiga hingga dua pertiga dari seluruh lapang pandang

3 : destruksi septum alveolar pada lebih dari dua pertiga dari seluruh lapang pandang

c. Infiltrasi Sel Radang, dengan skoring :

0 : tidak terjadi perubahan struktur histologis

1 : infiltrasi sel radang pada kurang dari sepertiga dari seluruh lapang pandang

2 : infiltrasi sel radang pada sepertiga hingga dua pertiga dari seluruh lapang pandang

3 : infiltrasi sel radang pada lebih dari dua pertiga dari seluruh lapang pandang.

### 3.11. 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 ANNOVA*. 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 ANNOVA* 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. Aspek Etika

*Ethical clearance* penelitian ini didapatkan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor surat persetujuan etik yaitu 255/UN26.18/PP.05.02.00/2019. 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 literatur untuk menjawab 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 IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1. Hasil Penelitian**

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih galur sprague dawley yang berumur sekitar 12 minggu dan dibagi menjadi enam kelompok, disetiap kelompok masing-masing terdapat lima ekor tikus. Selama 7 hari masa adaptasi, tidak ada tikus yang mati atau mengalami penurunan berat badan.

Kelompok 1 (K1) sebagai kelompok kontrol normal, dimana hanya diberi akuades per intraperitoneal. Kelompok 2 (K2) sebagai kelompok perlakuan, dimana hanya diberikan paparan uap rokok elektronik. Kelompok 3 (P1) sebagai kelompok perlakuan, dimana diberikan paparan uap rokok elektronik dan diikuti pemberian ekstrak teh hijau 50 mg/kgBB injeksi intra peritoneal (IP). Kelompok 4 (P2) sebagai kelompok perlakuan dengan pemberian paparan uap rokok elektronik dan diikuti pemberian ekstrak teh hijau 100 mg/kgBB IP, kelompok 5 (P3) sebagai kelompok perlakuan diberikan paparan uap rokok elektronik dan diikuti pemberian ekstrak teh hijau 200 mg/kgBB IP. Kelompok 6 (K3) hanya diberikan paparan asap rokok konvensional.

Setelah dilakukan perlakuan selama 14 hari kemudian pada hari ke 15 dilakukan terminasi, yang diawali dengan pembiusan dengan kloroform dan selanjutnya organ paru-paru diambil dan dijadikan preparat yang dilakukan di Laboratorium Anatomi, Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Preparat paru-paru kemudian dianalisis di mikroskop dengan pembesaran 400X dan didapatkan gambaran paru-paru yang diinterpretasikan kedalam bentuk skoring yang diamati dalam 5 lapang pandang.

Kerusakan paru-paru dinilai dari adanya destruksi septum alveolar, edema paru, dan infiltrasi sel radang berdasarkan kriteria Hansel dan Barnes (2004). Skor derajat kerusakan paru-paru dibagi menjadi 4 bagian. Skor 0 jika tidak ditemukan kerusakan pada trakea, skor 1 untuk preparat yang ditemukan kerusakan paru-paru sebesar <30%, skor 2 untuk preparat yang ditemukan kerusakan paru-paru sebesar 30-60%, dan skor 3 untuk preparat yang ditemukan kerusakan paru-paru >60%.

**Tabel 2.** Hasil skor rerata kerusakan paru-paru masing-masing kelompok

Kelompok Uji	Rerata Kerusakan Paru - Paru
K1	1,77
K2	62,66
K3	68,85
P1	60,00
P2	46,67
P3	33,33

Setelah dilakukan pemeriksaan mikroskopis pada gambaran histopatologi paru-paru tikus, didapatkan hasil rata-rata kerusakan paru-paru dari 5 lapang pandang pada kelompok 1 kontrol negatif yang hanya diberikan diet normal yaitu sebesar 1,77% dengan gambaran paru-paru tampak normal, tidak ditemukan adanya edema dan infiltrasi sel radang, serta tidak terdapat destruksi septum maupun kongesti paru-paru. Kelompok 2 untuk kelompok yang diberi paparan uap rokok elektronik saja memiliki rata-rata sebesar 62,66%. Gambaran mikroskopis pada kelompok K2 terdapat infiltrasi sel radang dan destruksi pada septum alveolar yang masif, sedangkan edem paru hanya tampak pada sebagian kecil lapang pandang. Kelompok kontrol 3 yaitu kelompok yang diberi paparan rokok konvensional memiliki rata-rata kerusakan terbesar yaitu 68,85% dimana tampak adanya infiltrasi sel radang dan destruksi septum alveolar yang masif, terdapat edema pada beberapa lapang pandang.

Kelompok perlakuan 1 yaitu kelompok yang diberi paparan uap rokok elektronik dan ekstrak teh hijau 50 mg/kgBB injeksi intra peritoneal (IP) per hari mengalami kerusakan rata-rata sebesar 60%, sehingga masih tampak adanya peradangan dan destruksi septum yang masif. Kelompok perlakuan 2 yaitu kelompok yang diberi paparan uap rokok elektronik dan ekstrak teh hijau 100 mg/kgBB injeksi intra peritoneal (IP) per hari memiliki rata-rata sebesar 46,67% ditemukan masih terdapat peradangan dan destruksi septum sudah berkurang, namun terdapat kongesti masif. Kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok yang diberi paparan uap rokok elektronik dan ekstrak teh hijau 200 mg/kgBB injeksi intra peritoneal (IP) per hari memiliki rata-rata sebesar 33,33%, dimana peradangan dan destruksi septum tampak lebih sedikit daripada kelompok P2 namun masih terdapat kongesti paru.

#### 4.1.1. Tingkat Kerusakan Paru-Paru

**Tabel 3.** Hasil Uji *Post Hoc LSD* antar Kelompok Uji

Kelompok	K1	K2	P1	P2	P3	K3
K1		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K2	0,000*		0,163	0,000*	0,000*	0,000*
P1	0,000*	0,163		0,000*	0,000*	0,000*
P2	0,000*	0,000*	0,000*		0,000*	0,000*
P3	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*		0,000*
K3	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	

\*Hasil uji bermakna jika  $p < 0,05$

Setelah dilakukan pemeriksaan mikroskopis pada gambaran histopatologi paru-paru tikus yaitu dinilai dari adanya destruksi septum alveolar, edema paru, dan infiltrasi sel radang. Setelah mendapatkan hasil rata-rata kerusakan paru-paru kemudian dianalisis kenormalan distribusi data menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk* karena sampel yang digunakan terlalu sedikit yaitu kurang dari 50. Hasil yang didapatkan adalah  $p > 0,05$  pada seluruh kelompok dimana data terdistribusi secara normal. Setelah itu dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Levene* dan didapatkan nilai 0,172 ( $p > 0,05$ ), yang menunjukkan bahwa data homogen dan memenuhi syarat uji parametrik *Anova*. Analisis dilanjutkan dengan uji *post hoc LSD* untuk menilai perbandingan antara kelompok dan hasil dapat dilihat pada tabel 3.

Berdasarkan tabel 3 yang diuji oleh analisis *post hoc LSD* didapatkan nilai  $p < 0,05$  yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna dari kerusakan paru-paru antara kelompok K1 dengan kelompok K2, kelompok P1, kelompok P2, kelompok P3, dan kelompok K3 terdapat perbedaan bermakna. Tetapi antara kelompok K2 dengan kelompok P1, tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

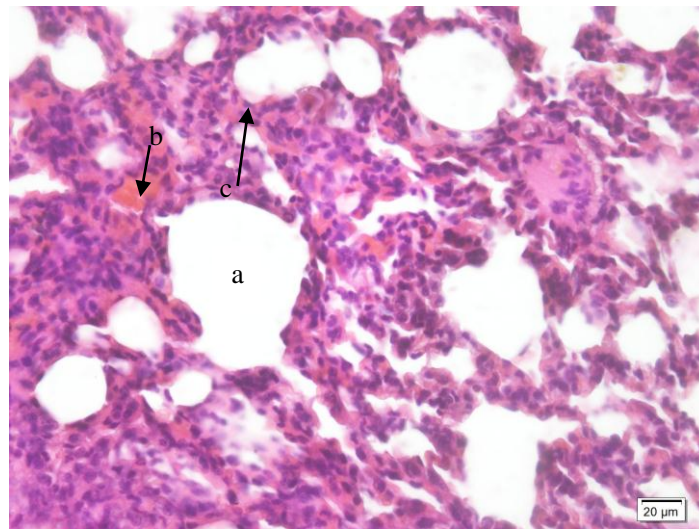
#### **4.1.2. Gambaran Histopatologi**

Setelah dilakukan peran, organ target dibuat menjadi preparat di Laboratorium Anatomi, Histologi dan Patologi Anatomi FK Unila dan

dinilai oleh dr. Rizki Hanriko, Sp.PA. Preparat di baca dalam perbesaran 400x dalam masing-masing lima lapang pandang.

a. Kelompok 1 (K1)

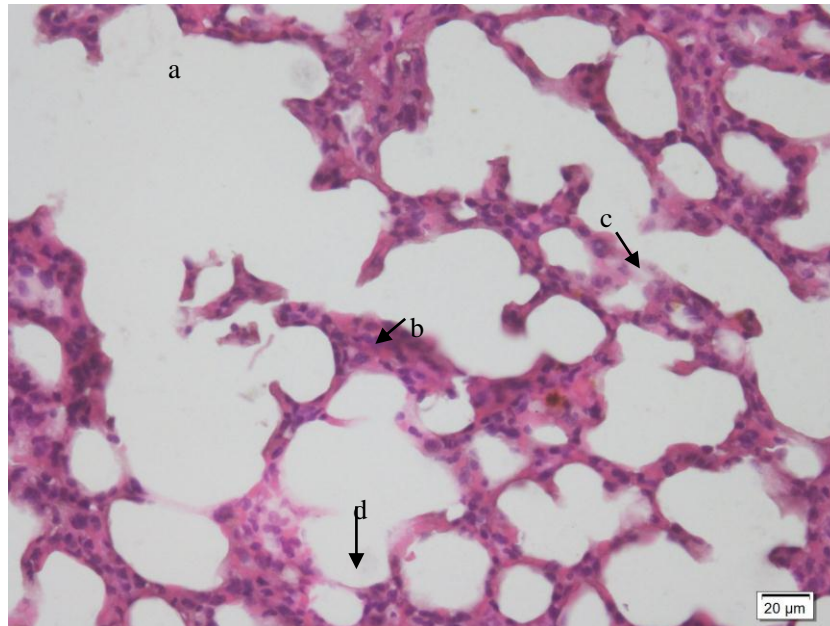
Kelompok 1 (K1) sebagai kelompok kontrol normal, dimana hanya diberi akuades per intraperitoneal. Berikut gambaran histopatologi terdapat pada gambar 8.



**Gambar 8.** Gambaran histopatologi pada kelompok 1 (K1). Keterangan (a). Alveoli (b). Kapiler (c). Septum interalveolar

b. Kelompok 2 (K2)

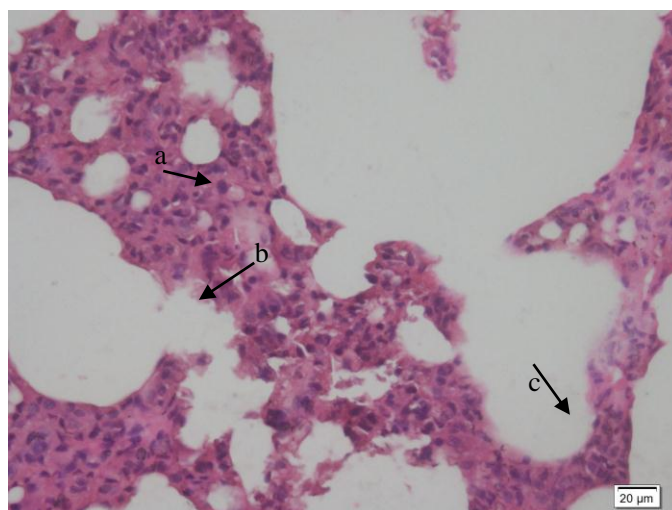
Kelompok 2 (K2) sebagai kelompok kontrol, dimana hanya diberikan paparan uap rokok elektronik tanpa diberikan ekstrak teh hijau. Berikut gambaran histopatologi terdapat pada gambar 9. Pada gambaran ini sudah mulai tampak sel epitel yang kehilangan silia.



**Gambar 9.** Gambaran histopatologi pada kelompok 2 (K2).  
Keterangan (a). Alveoli (b). Infiltrasi sel peradangan sebagai tanda proses inflamasi (c) Destruksi septum alveolar (d) oedema

c. Kelompok Kontrol 3 (K3)

Kelompok kontrol 3 (K3) merupakan kelompok perlakuan , dimana diberikan paparan uap rokok konvensional.

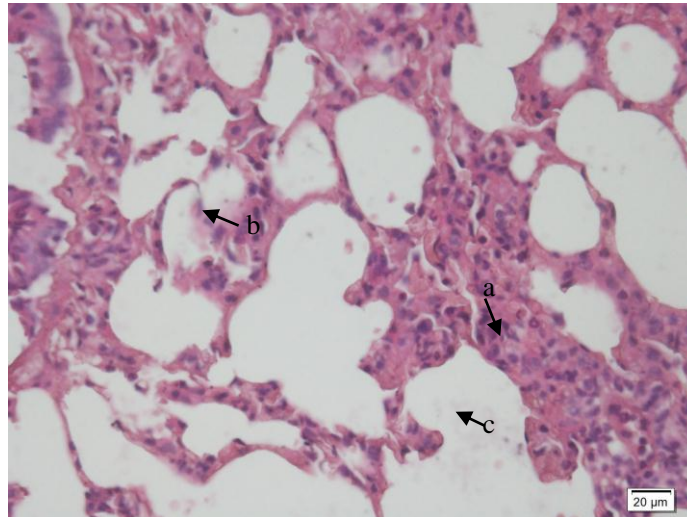


**Gambar 10.** Gambaran histopatologi pada kelompok 3 (K3).  
Keterangan (a) Infiltrasi sel radang (b) Destruksi septum alveolar masif (c) Oedema paru minimal



d. Kelompok Perlakuan 1 (P1)

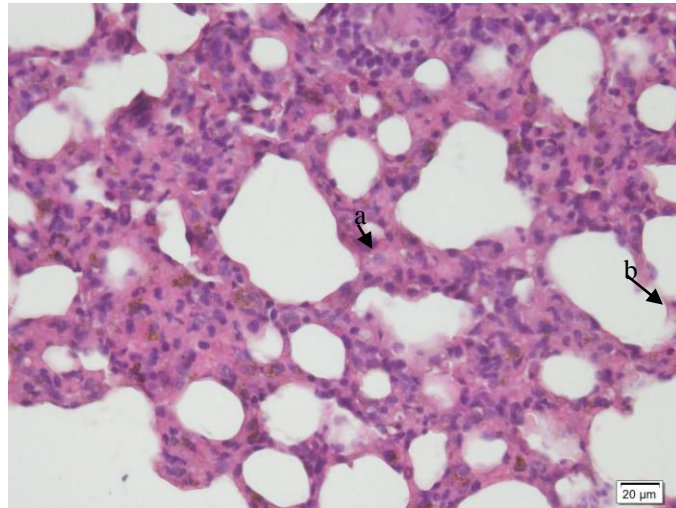
Kelompok perlakuan 1 (P1) merupakan kelompok perlakuan , dimana diberikan paparan uap rokok elektronik dan diikuti pemberian ekstrak teh hijau 50 mg/kgBB injeksi intra peritoneal (IP).



**Gambar 11.** Gambaran histopatologi pada kelompok perlakuan 1 (P1). Keterangan (a) Infiltrasi sel radang (b) Destruksi septum alveolar masif (c) Oedema paru minimal

e. Kelompok Perlakuan 2 (P2)

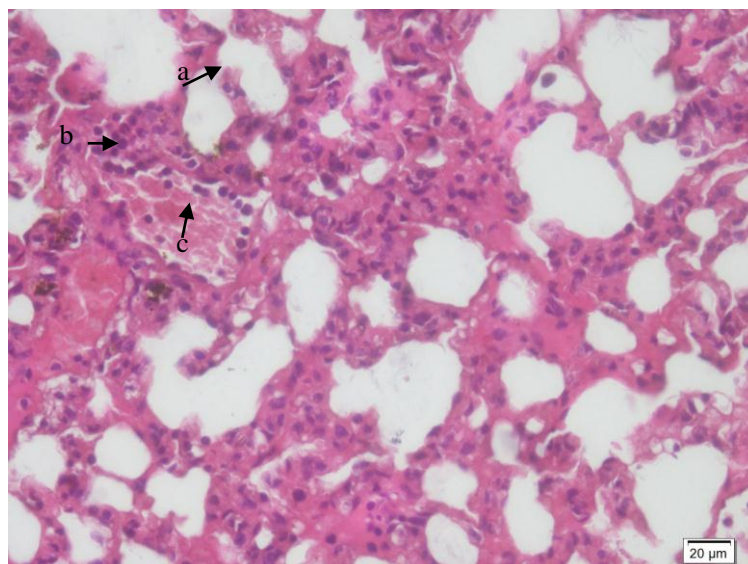
Kelompok perlakuan 2 (P2) merupakan kelompok perlakuan , dimana diberikan paparan uap rokok elektronik dan diikuti pemberian ekstrak teh hijau 100 mg/kgBB injeksi intra peritoneal (IP).



**Gambar 12.** Gambaran histopatologi pada kelompok perlakuan 2 (P2).  
Keterangan (a). Kongesti (b). Destruksi septum sudah berkurang

f. Kelompok Perlakuan 3 (P3)

Kelompok perlakuan 3 (P3) merupakan kelompok perlakuan ,  
dimana diberikan paparan uap rokok elektronik dan diikuti  
pemberian ekstrak teh hijau 200 mg/kgBB injeksi intra peritoneal  
(IP).



**Gambar 13.** Gambaran histopatologi pada kelompok perlakuan 3 (P3).  
Keterangan (a). Destruksi septum alveolar minimal dibandingkan P2 (b) Infiltrasi sel  
radang minimal (c) Kongesti

#### 4.2. Pembahasan

Setelah dilakukan pemeriksaan mikroskopis pada 30 sampel gambaran histopatologi paru-paru tikus dari 6 kelompok yang berbeda pada perbesaran 400x, dilakukan uji *ANOVA* dan didapatkan nilai  $p=0,000$ . Hal ini diinterpretasikan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok uji.

Hipotesis 1 dan 2 dapat diterima, karena terdapat perbedaan antara pemberian paparan uap rokok elektronik terhadap perubahan struktur histologis paru-paru tikus putih (*Ratus norvegicus*) galur *Sprague dawley* serta terdapat pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap perubahan struktur histopatologi paru-paru tikus putih (*Ratus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang dipapar uap rokok elektronik. Hal ini ditunjukkan pada uji *post hoc LSD* pada kelompok K1 dengan K2 dengan  $p=0,000$  dan K2 terhadap P2 dan P3 dengan  $p=0,000$ . Sedangkan tidak terdapat pengaruh pada P1 terhadap K2 dimana  $p=0,163$ .

Pada perokok dan bukan perokok tanpa penyakit kardiovaskular, baik tembakau dan rokok elektronik dikaitkan dengan peningkatan stres oksidatif dan disfungsi endotel dan dengan penurunan kadar vitamin E. Pada Carnevale *et al* (2016) juga menunjukkan bahwa konsumsi rokok elektronik mengarah ke peningkatan penanda sirkulasi stres oksidatif yang cepat dan akut dalam aktivitas *NADPH oksidase 2* (NOX2). Nikotin adalah senyawa pro-oksidan yang dapat berkontribusi terhadap perubahan struktur paru-paru. Bahan aditif lainnya dan perasa pada rokok elektronik juga dapat menimbulkan efek

berbahaya berupa meningkatkan respon inflamasi. Akhirnya, uap rokok elektronik dapat menginduksi peningkatan spesies oksigen reaktif seluler yang cukup untuk menginduksi reaksi peroksidasi lipid yang pada gilirannya akan meningkatkan penanda inflamasi yang bersirkulasi (Carnevale, 2016).

Rata-rata, jumlah makrofag lebih tinggi pada tikus yang terpajan rokok elektronik, tetapi tidak berbeda secara statistik dibandingkan dengan kelompok kontrol. Jumlah sel total dalam cairan paru-paru 24 jam setelah paparan terakhir menunjukkan jumlah rata-rata sel yang lebih tinggi, namun tidak signifikan dibandingkan dengan kontrol kelompok udara. MCP-1, sebuah sitokin kemotaktik makrofag yang kuat secara signifikan meningkat pada tikus yang terpajan rokok elektronik dibandingkan dengan kelompok kontrol. Tingkat IL-6 yang memodulasi sejumlah jalur imun-inflamasi pada leukosit target juga meningkat secara signifikan dalam cairan paru-paru dari tikus yang terpajan rokok elektronik dibandingkan dengan kelompok kontrol udara (Lerner, 2015).

Paparan tikus terhadap rokok elektronik dilakukan dengan mesin paparan uap rokok elektronik menunjukkan respons inflamasi yang ditunjukkan oleh peningkatan mediator inflamasi. IL-6, yang merupakan mediator ampuh respon inflamasi fase akut. Peningkatan kecil dalam rata-rata makrofag dan tingkat sel total setelah paparan rokok elektronik, meskipun tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok udara sekitar, sejalan dengan peningkatan kadar berbagai sitokin yang kami ukur yang memiliki peran modulasi dalam

imunitas dan inflamasi (Lerner, 2015). Hal ini menjelaskan, perubahan yang terjadi pada paru-paru yang diberikan paparan uap rokok elektronik. Hasil yang sama pada Husari (2015) ditemukan pada pewarnaan hematoxylin dan eosin pada bagian paru-paru menunjukkan adanya infiltrasi sel-sel inflamasi (makrofag dan limfosit) di sekitar bronkiolus dan masuk ke parenkim paru, dinding alveolar edematosa dan menebal (Husari, 2015).

Keadaan yang sama di dapatkan pada penelitian paru-paru mencit yang dipapar dengan uap rokok elektronik secara kontinyu selama 2 minggu. Pada mencit yang dipapar dengan uap rokok secara kontinyu, terlihat terjadinya kerusakan pada struktur mikroanatomi paru-parunya. Hal ini disebabkan telah terjadi perusakan sel-sel epitelium dan endotelium pada alveolus oleh toksik pada asap rokok (Triana *et al*, 2013).

Pada gambaran kelompok kontrol 3 dibandingkan kelompok 2, tampak kerusakan yang lebih besar pada jaringan yang terpapar rokok konvensional, dimana paparan asap rokok menginduksi jaringan paru-paru dan merusak sistem pertahanan antioksidan. Kerusakan ini akibat konstituen rokok konvensional pada enzim antioksidan. Toksik pada rokok konvensional memiliki komponen berat molekular yang lebih kecil dibanding rokok elektronik sehingga kerusakan dapat secara langsung berpengaruh pada sel imun. Aktivasi sel imun meningkatkan kejadian inflamasi (Al-Awaida *et al*, 2014).

Pada penelitian ini dilakukan injeksi intraperitoneal pada subjek penelitian untuk mempercepat proses metabolisme teh hijau. Katekin terutama dimetabolisme oleh fase 2 proses konjugasi melalui metilasi, sulfasi, dan glukuronidasi di usus dan hati. Glukuronidasi dan sulfasi terutama terjadi di usus, sedangkan glukuronidasi, sulfasi, dan metilasi terjadi di hati. Beberapa konjugat selanjutnya dimetilasi. Glukuronidasi dan sulfasi dapat meningkatkan polaritas katekin untuk meningkatkan kelarutan dan memfasilitasi eliminasi mereka melalui urin. EGCG, EGC dan EC *glucuronide* dan sulfat banyak ditemukan dalam plasma. Sebagian besar studi distribusi dilakukan pada tikus, polifenol teh hijau (0,6%) diberikan kepada tikus selama 8 hari. Level EGC dan EC total (terkonjugasi dan bebas) ditemukan di kandung kemih, usus besar, ginjal, paru-paru, dan kerongkongan. Sehingga efek dari teh hijau dapat terjadi di jaringan paru-paru (Chu & Pang, 2018).

Polifenol teh hijau mencari spesies oksigen reaktif (ROS) dengan menghasilkan radikal fenolik yang lebih stabil. Efek perlindungan dikaitkan dengan kapasitas antioksidan, dan kemungkinan karena sumbangan hidrogen oleh polifenol teh hijau. Ekstrak teh hijau juga mencegah kematian sel yang diinduksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Selain meningkatkan aktivitas antioksidan plasma, polifenol teh hijau juga dapat menekan penanda stres oksidatif *in vivo*. Polifenol teh hijau juga menghambat penanda stres oksidatif yang bersifat sekunder terhadap respons peradangan. Polifenol teh hijau menghambat peradangan yang dimediasi neutrofil (Forester & Lambert, 2013).

Perubahan yang terjadi pada histopatologi paru-paru secara signifikan dapat dikurangi dengan pemberian ekstrak teh hijau. Sebagian besar efek menguntungkan dari teh hijau dikaitkan dengan kehadiran polifenol. Polifenol ini terutama terdiri dari katekin dan turunan katekin, termasuk *epigallocatechin-3-gallate* (EGCG), *epicatechin* (EC), *epigallocatechin* (EGC), *epicatechin gallate* (ECG) dan *gallocatechin gallate* (Hsu, 2011). Polifenol teh hijau mempercepat reaksi pro-oksidan. Suntikan intraperitoneal dengan polifenol teh hijau, telah terbukti meningkatkan kadar enzim antioksidan fase II dalam hati tikus termasuk *glutathione peroksidase* dan *reduktase*, *glutathione-S-transferase* (GST), *katalase*, *quinone reduktase*, dan *superoksida dismutase*. Hal ini menyoroiti kompleksitas mekanisme oksidatif *in vivo*, karena enzim antioksidan fase II merespons stres oksidatif yang disebabkan oleh polifenol untuk mengembalikan keseimbangan (Forester & Lambert, 2011; Reddy *et al*, 2017).

Pada Azza *et al* (2012) bagian paru-paru tikus yang diberikan paparan nikotin lalu diberikan ekstrak teh hijau setelah dua minggu perlakuan menunjukkan beberapa perbaikan dalam struktur paru-paru. Ini dimanifestasikan oleh penampilan yang hampir normal dari sebagian besar kantung udara dan septa interalveolar karena penurunan penebalan septa interalveolar dan sebagian besar kantung udara kembali ke bentuk dan ukuran normal. Fokus infiltrasi inflamasi pada septa interalveolar juga masih terdapat. Hal serupa ditemukan pada Chan *et al* (2009) bahwa Chinese green tea (Lung Chen) mungkin menangkap beberapa mekanisme berbahaya dari cedera paru-paru melalui

perlindungan sel dan jaringan dari kerusakan oksidatif dengan mengikat radikal bebas oksigen yang dihasilkan dari paparan, dimana tampak penurunan aktivitas *superoxida dismutase* (SOD) dan *katalase* pada paru-paru mencit yang diberikan paparan rokok. Sama seperti penelitian ini, ekstrak teh hijau dapat memberikan pengaruh perubahan struktur histologi paru-paru pada tikus putih.

Dibandingkan dengan morfologi normal hati, paru-paru, dan ginjal tikus pada kelompok kontrol, pemaparan jangka panjang pada tikus pada uap rokok elektronik, menghasilkan respon inflamasi pada paru-paru. Perubahan ini melibatkan peradangan interstitial yang melibatkan limfosit dan sel plasma di paru-paru. Dibandingkan dengan kelompok kontrol, pemberian teh hijau itu sendiri tidak menginduksi apoptosis di paru-paru tikus. Uap rokok hanya menyebabkan apoptosis di bagian paru-paru. Terdapat inti apoptosis coklat gelap di bagian yang diperiksa. Penelitian Al-Awaida *et al* menunjukkan bahwa suplementasi teh hijau mencegah apoptosis di paru-paru tikus yang diinduksi uap rokok (Al-Awaida *et al*, 2014).

Pada pemeriksaan jaringan paru-paru yang diberikan paparan uap rokok elektronik dan ekstrak teh hijau menunjukkan pada dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB secara signifikan mengurangi kerusakan jaringan paru-paru. Secara lebih spesifik, setiap dosis pun memperlihatkan perbedaan yang. Setelah diberikan perlakuan yaitu pemberian teh hijau dengan dosis 50 mg/kgBB, gambaran histopatologi paru-paru yang



ditemukan adalah masih terdapat infiltrasi sel radang, destruksi septum alveolar masif dan masih ada edema paru meskipun minimal. Pemberian ekstrak teh hijau dengan dosis 100 mg/kgBB menunjukkan infiltrasi sel radang yang sudah berkurang, destruksi septum minimal, meskipun masih ada kongesti tidak terdapat lagi edema paru. Pada dosis 200 mg/kgBB, gambaran histopatologi paru tampak destruksi septum alveolar dan infiltrasi sel radang minimal dibandingkan kelompok P2 dan masih terdapat kongesti. Sehingga pada penelitian ini, tampak injeksi rutin ekstrak teh hijau dengan dosis 200 mg/kgBB menunjukkan efikasi yang lebih tinggi dibandingkan dosis lainnya.

Hal serupa terdapat pada El-Safty *et al* (2014), dilakukan penelitian terhadap tikus putih yang diinjeksikan bleomisin dan di berikan ekstrak teh hijau dengan dosis yang sama yaitu 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB selama 1 bulan memberikan efek protektif pada jaringan paru tikus putih dimana tidak terjadi fibrosis. Dosis teh hijau yang digunakan pada penelitian lain yaitu pada Shekarforoush *et al* (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 yang signifikan dimana teh hijau bersifat protektif, pada dosis 200 mg/kgBB. Ekstrak teh hijau secara signifikan meningkatkan relaksasi otot jantung internal pada dosis 200 mg/kgBB yang injeksikan secara intraperitoneal selama 3 bulan (Wang *et al*, 2016). Hal ini tercermin pada hasil penelitian dimana pada dosis 200

mg/kgBB terdapat perubahan yang signifikan pada perubahan struktur paru-paru yang dipapar uap rokok elektronik.

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. Simpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat dibuat kesimpulan sebagai berikut:

1. Ada pengaruh pemberian paparan uap rokok elektronik terhadap gambaran histopatologis paru-paru tikus putih (*Ratus novergicus*) galur *Sprague dawley*.
2. Ada pengaruh pemberian ekstrak teh hijau pada terhadap perubahan gambaran histopatologis paru-paru tikus putih (*Ratus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipapar uap rokok elektronik.

#### **5.2. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah ekstrak teh hijau masih dapat memperbaiki kerusakan trakea dengan paparan asap rokok elektronik secara kronik dengan waktu dan dosis yang lebih bervariasi.
2. Bagi masyarakat, bahwa penggunaan rokok elektronik patut dipertimbangkan karena pada penggunaan jangka panjang dapat memiliki efek yang sama dengan penggunaan rokok konvensional.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Awaida, W., Akash, M., Aburubaiha, Z., Talib, W. H., & Shehadeh, H. 2014. Chinese green tea consumption reduces oxidative stress, Inflammation and tissues damage in smoke exposed rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 17(10): 740–746.
- Anthony L & Mescher. 2011. *Junquiera's Basic Histology : text & atlas*. Edisi ke-12. Dialih bahasakan oleh Hartanto, huriawati. Jakarta: EGC.
- Azza MG, Aliaa MI, Nahed SB, & Sherin MM. 2012. Role of green tea on nicotine toxicity on liver and lung of mice: Histological and morphometrical studies. *African Journal of Biotechnology*. 11(8): 2013–25.
- Callahan-Lyon, P. 2014. Electronic cigarettes: Human health effects. *Tobacco Control*, 23(SUPPL. 2).
- Chan, K. H., Ho, S. P., Yeung, S. C., So, W. H. L., Cho, C. H., Koo, M. W. L., Mak, J. C. W. 2009. Chinese green tea ameliorates lung injury in cigarette smoke-exposed rats. *Respiratory Medicine*. 103(11): 1746–1754.
- Carnevale R, *et al.* 2016. Acute Impact of Tobacco vs Electronic Cigarette Smoking on Oxidative Stress and Vascular Function. *Chest*. 150(3): 606–612.
- Domej W, Oettl K, & Renner W. 2014. Oxidative stress and free radicals in COPD- Implications and relevance for treatment. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 9: 1207–24.
- El-Safti, F. A., Zolfakar, A. S., El-Sherif, N. M., & Alafify, A. S. A. 2014. Effect of Green Tea Extract on Experimentally Induced Lung Fibrosis in Adult Male Albino Rat. *Journal of American Science*. 10(8): 234–247.
- Forester, S. C., & Lambert, J. D. 2013. Antioxidant effects of green tea. *Mol Nutr Food Res*. 55(6): 844–854.
- Habiburrohman, D., & Sukohar, A. 2018. Aktivitas Antioksidan dan Antimikrobia pada Polifenol Teh Hijau Antioxidant and Antimicrobial Activity in Green Tea Polyphenol. *J Agromedicine Unila*. 5(2): 587–591.

- Hansel TT & Barnes PJ. 2004. *An Atlas of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Researchgate.Net*. London: Parthenon Publishing Group.
- Hsu, Y., Tsai, C., Chen, W., Huang, C., & Yen, C. 2011. A subacute toxicity evaluation of green tea ( *Camellia sinensis* ) extract in mice. *Food and Chemical Toxicology*. 49(10): 2624–2630.
- Husari, A., Shihadeh, A., Talih, S., Hashem, Y., El Sabban, M., & Zaatari, G. 2016. Acute Exposure to Electronic and Combustible Cigarette Aerosols: Effects in an Animal Model and in Human Alveolar Cells. *Nicotine and Tobacco Research*. 18(5): 613–619.
- 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.
- Krause WJ. 2005. Special Connective Tissue: Cartilage, Bone, and Joints. *Krause's Essential Human Histology For Medical Students*: 52–64.
- Kristiawan KA, Suarni NMR, Yulihastuti DA. 2017. Struktur Histologi Trakea Tikus Putih (*Rattus Sp.*) Yang Terpapar Asap Rokok Setelah Diberi Ekstrak Buah Juwet (*Syzygium cumini L.*). *Jurnal Simbiosis*. 5(1): 11–15.
- Lerner CA, *et al.* 2015. Vapors produced by electronic cigarettes and E-juices with flavorings induce toxicity, oxidative stress, and inflammatory response in lung epithelial cells and in mouse lung. *PLoS ONE*. 10(2): 1–26.
- Marsot A & Simon N. 2016. Nicotine and Cotinine Levels with Electronic Cigarette. *International Journal of Toxicology*. 35(2): 179–185.
- Mendizábal NV, De Jones DR, Jahn A, Bies RR, & Brown JW. 2016. Nicotine and Cotinine Exposure from Electronic Cigarettes: A Population Approach. *Clin Pharmacokinet*. 54(6): 615–626.
- Paola Rosanna D & Salvatore C. 2012. Reactive Oxygen Species, Inflammation, and Lung Diseases. *Current Pharmaceutical Design*. 18(Xd): 3889–3900.
- Pisinger C. 2014. A systematic review of health effects of electronic cigarettes. *Preventive Medicine*. 69: 248–260.
- Reddy, M. A., Kumar, B. K., Boobalan, G., M. Kasi Reddy, C. S. V., Kumar, S., Reddy, A. G., & Lakshman, M. 2017. Hepatoprotective Potential of Green Tea Extract against Experimental Hepatotoxicity in Rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 79(1): 58–64.
- Reygaert W. 2017. An Update on the Health Benefits of Green Tea. *Beverages*. 3(1): 6.

- Shekarforoush S, Aghababa H, Azizi M, Changizi-Ashtiyani S, Zarei A, *et al.* 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): 21–25.
- Shields PG, *et al.* 2017. A review of pulmonary toxicity of electronic cigarettes in the context of smoking: A focus on inflammation. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. 26(8): 1175–1191.
- Suzuki T, Pervin M, Goto S, Isemura M, & Nakamura Y. 2016. Beneficial effects of tea and the green tea catechin epigallocatechin-3-gallate on obesity. *Molecules*. 21(10): 5–8.
- Triana, N., Ilyas, S., & Hutahean, S. 2013. Gambaran Histopatologi Pulmo Mencit Jantan (*Mus musculus* L.) SETELAH DIPAPARI ASAP ROKOK ELEKTRIK. *Saintia Biologi*. 1(3): 1–7.
- Turner PV, Brabb T, Pekow C, & Vasbinder M. 2011. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 50(5): 600–613.
- U.S. Department of Health and Human Services. 2016. E-Cigarette Use Among Youth and Young Adults. *U.S. Department of Health and Human Services*, 295. Retrieved from [https://www.cdc.gov/tobacco/data\\_statistics/sgr/e-cigarettes/pdfs/2016\\_sgr\\_entire\\_report\\_508.pdf](https://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/sgr/e-cigarettes/pdfs/2016_sgr_entire_report_508.pdf)
- Villanti AC, *et al.* 2017. Flavored Tobacco Product Use in Youth and Adults: Findings From the First Wave of the PATH Study (2013–2014). *American Journal of Preventive Medicine*. 53(2): 139–151.
- Wang, X., Zhang, Z., Wu, G., Nan, C., Shen, W., Hua, Y., & Huang, X. 2016. Green tea extract catechin improves internal cardiac muscle relaxation in RCM mice. *Journal of Biomedical Science*. 23(51): 1–8.
- World Health Organization. 2017. *WHO report on the global tobacco epidemic 2017 Country profile: Indonesia*. Retrieved from [http://who.int/tobacco/surveillance/policy/country\\_profile/jpn.pdf?ua=1](http://who.int/tobacco/surveillance/policy/country_profile/jpn.pdf?ua=1)