

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BATANG BAKAU
MINYAK (*Rhizophora apiculata*) ETANOL 95 % TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH
(*Rattus novergicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG
DIPAPARKAN ASAP ROKOK**

(SKRIPSI)

Oleh:

NICHOLAS ALFA



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BATANG BAKAU
MINYAK (*Rhizophora apiculata*) ETANOL 95 % TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH
(*Rattus novergicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG
DIPAPARKAN ASAP ROKOK**

Oleh:

NICHOLAS ALFA

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Kedokteran

Pada

Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi

**:PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT
BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora
apiculata*) ETANOL 95 % TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI ARTERI
KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus
novergicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley*
YANG DIPAPARKAN ASAP ROKOK**

Nama Mahasiswa : Nicholas Alfa

Nomor Pokok Mahasiswa : 1518011096

Program Studi : Pendidikan dokter

Fakultas : Kedokteran



dr. Syazil Mustofa, M. Biomed

dr. Anggraeni Janar Wulan, M.Sc

NIP. 198807102008121003

NIP. 198201302008122001



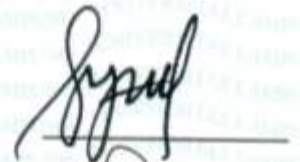
Dr. dr. Muhartono, M.Kes., Sp.PA

NIP. 197012082001121001

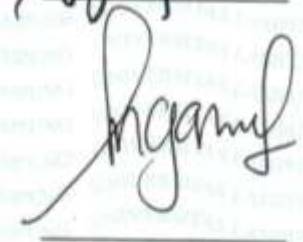
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

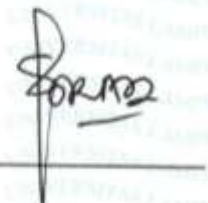
Ketua : dr. Syazili Mustofa, M.Biomed



Sekretaris : dr. Anggraeni Janar, Wulan M.Sc



**Penguji
Bukan Pembimbing : Soraya Rahmanisa, S.Si., M.Sc**



2. Dekan Fakultas Kedokteran




Dr. dr. Muhartono, M.Kes., Sp. PA
NIP. 19701208200112 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 18 Januari 2019

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama Mahasiswa : Nicholas Alfa

No. Induk Mahasiswa : 1518011096

Tempat Tanggal Lahir : Bandung, 17 Januari 1997

Alamat : Jl. Purwakarta no. 370 Bandung Barat

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi dengan judul "PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*) ETANOL 95 % TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIPAPARKAN ASAP ROKOK" adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan hasil karya orang lain.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya pelanggaran, saya bersedia menanggung sanksi sesuai peraturan yang berlaku.

Bandar Lampung, 18 Januari 2019

Pembuat pernyataan



Nicholas Alfa

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandung pada 17 Januari 1997, merupakan anak pertama dari tiga bersaudara, dari pasangan Alex Martinus dan Lenah Juniwati.

Penulis mengikuti pendidikan taman kanak-kanak diselesaikan di TKK SDK BPK PENABUR Cimahi pada tahun 2003, sekolah dasar (SD) diselesaikan di SDK BPK PENABUR Cimahi pada tahun 2009, sekolah menengah pertama (SMP) diselesaikan di SMPK BPK PENABUR Cimahi pada tahun 2012, dan sekolah menengah atas (SMA) diselesaikan di SMAK 3 BPK PENABUR Bandung pada tahun 2015.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah aktif pada organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FK Unila sebagai Kepala Dinas Pengabdian Masyarakat (Pengmas) 2017-2018 dan menjadi Beswan Lampung angkatan 33.

SKRIPSI INI SAYA PERSESMBAHKAN KEPADA
TUHAN YESUS KRISTUS
YANG SENANTIASA MEMBERIKAN HIKMAT, KEKUATAN, DAN
PENGHIBURAN
SERTA KEPADA
KEDUA ORANG TUA SAYA
YANG SELALU MEMBERIKAN DUKUNGAN DAN DOA

ABSTRACT

EFFECT OF GIVING MANGROVE (*Rhizophora apiculata*) BARK EXTRACT 95% ETHANOL ON HISTOPATOLOGY OF CORONARIA ARTERIES WHITE RAT (*Rattus novergicus*) Sprague dawley STRAIN EXPOSED TO CIGARETTE SMOKE

By

Nicholas Alfa

Background: Indonesia won first place as the country with the largest number of smokers in the ASEAN region. This is of course very concerning 2 out of 3 Indonesians are smokers. Coronary heart disease (CHD) is the highest cause of death in Indonesia after a stroke, which is 12.9%. *Rhizophora apiculata* contains tannins, alkaloids, and flavonoids that can fight free radicals. From the description above, the author wants to explore the potential of antioxidants found in mangroves by studying the effect of giving extract mangrove bark (*Rhizophora apiculata*) in protecting rat coronary arteries from exposure to cigarette smoke.

Method: This study is experimental research. The sample used was male white rats (*Rattus novergicus*) Sprague Dawley strain which divided of 5 groups, each group consisting of 5 rats and 1 backup. The dosage of mangrove extract used in P1 was 28.275 mg/kgbb, P2: 56.55 mg/kgbb, P3: 113.1 mg/kgbb. The statistical analysis used *One Way Anova* test with *Bonferroni post hoc*.

Results: The mean coronary artery diameter had no significant results in all treatment group. The mean coronary artery wall thickness had significant results in all treatment groups.

Conclusion: The mangrove bark extract (*Rhizophora apiculata*) is able to protect the coronary arteries of male white rats (*Rattus novergicus*) Sprague Dawley strains exposed to cigarette smoke. The optimal dose of mangrove bark extract (*Rhizophora apiculata*) in preventing thickening of the coronary arteries of male white rats (*Rattus novergicus*) Sprague dawley strains exposed to cigarette smoke is 56.55 mg/kgbb.

Keywords: cigarette smoke, antioxidants, coronary arteries, mangroves

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BATANG BAKAU MINYAK (*Rhizophora apiculata*) ETANOL 95 % TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIPAPARKAN ASAP ROKOK

Oleh

Nicholas Alfa

Latar Belakang: Indonesia menempati peringkat pertama sebagai negara dengan jumlah perokok terbesar di kawasan ASEAN. Hal ini tentunya sangat memprihatinkan 2 dari 3 orang Indonesia merupakan seorang perokok. Penyakit jantung koroner (PJK) merupakan penyebab kematian tertinggi di Indonesia setelah stroke, yakni 12,9%. *Rhizophora apiculata* memiliki kandungan tanin, alkaloid, dan flavonoid yang dapat mencegah radikal bebas. Dari uraian diatas, penulis ingin menggali potensi antioksidan yang terdapat dalam bakau dengan mempelajari pengaruh pemberian ekstrak kulit bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dalam melindungi arteri koroner tikus dari paparan asap rokok.

Metode: Penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Sampel yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang terdiri dari 5 kelompok, masing masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus dan 1 cadangan. Dosis ekstrak bakau yang digunakan pada P1 adalah 28,275 mg/kgbb, P2: 56,55 mg/kgbb, P3: 113,1 mg/kgbb. Analisis statistik yang digunakan yaitu uji *One Way Anova* dengan *post hoc Bonferroni*.

Hasil: Rerata diameter arteri koronaria memiliki hasil tidak bermakna pada semua kelompok perlakuan. Rerata tebal dinding arteri koronaria memiliki hasil bermakna pada semua kelompok perlakuan.

Kesimpulan: Ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) mampu melindungi arteri koronaria tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipaparkan asap rokok. Dosis optimal ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dalam mencegah penebalan arteri koronaria tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipaparkan asap rokok adalah 56,55 mg/kgbb.

Kata kunci: asap rokok, antioksidan, arteri koronaria, bakau minyak.

SANWACANA

Segala puji syukur Penulis ucapkan kepada Tuhan Yesus Kristus karena atas berkatnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*) Etanol 95 % terhadap Gambaran Histopatologi Arteri Koronaria Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Jantan galur *Sprague dawley* yang Dipaparkan Asap Rokok” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran di Universitas Lampung.

Penulis meyakini penelitian skripsi ini tidak akan selesai tanpa dukungan dan bantuan dari banyak kalangan. Maka dengan ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Syazili Mustofa, M.Biomed., selaku Pembimbing Pertama atas waktu dan kesediannya untuk memberikan ilmu, bimbingan, saran, dan kritik yang membangun dalam proses penyelesaian skripsi ini;

4. dr. Anggraeni Janar Wulan, M.Sc., selaku Pembimbing Kedua dan Pembimbing Akademik atas waktu dan kesediannya memberi ilmu, bimbingan, saran, dan kritik yang membangun dalam proses penyelesaian skripsi ini serta memberikan saran akademik hingga akhir semester;
5. Soraya Rahmanisa, S.Si., M.sc., selaku Pembahas yang telah meluangkan waktunya dalam memberikan ilmu, masukan, dan saran dalam skripsi ini;
6. Seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu, waktu, dan bimbingan yang telah diberikan dalam proses perkuliahan;
7. Papa, lelaki nomor satu di hidupku, terimakasih untuk semua doa, dukungan, kasih sayang, pengorbanan yang penulis tidak akan pernah mampu membalasnya;
8. Mama, wanita yang penulis tidak akan lahir di dunia ini tanpanya, terimakasih untuk semua doa yang tidak ada putusnya, dukungan yang selalu diberikan, dan kasih sayang yang penulis tidak akan pernah mampu membalasnya;
9. Teman penelitian penulis yaitu: Brandon, Saras, Veny Fauziah yang telah membantu menjalani penelitian bersama-sama dengan penulis;
10. Sister Brother 33 Beswan Lampung: Dianti, Iton, Mona, Fifki, dan Anggy yang selalu memberikan dukungan dan semangat untuk terus menggapai mimpi;
11. Partner Pengmas Es Milo Mekdi: Dianti, Ulfi, Rika, Josi, Citara, Geta, Geri, Atica, Nadya, Katya, Lazulfa, Indah, Dhea, Vidi, Andes, Rendy,

Gede yang selalu kompak dalam organisasi dan memberikan semangat untuk cepat lulus.

12. Teman-teman Permako Medis yang selalu mendukung dalam latihan Ujian OSCE dan doa;
13. Teman sejawat 2015, ENDOM15IUM yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Terimakasih atas segala suka duka, motivasi, dan kebersamaan selama 3,5 tahun ini;
14. Dan semua pihak yang turut berkontribusi dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu, terimakasih atas segala kebaikan yang telah diberikan kepada penulis.

Penulis menyadari skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan, namun penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan baru kepada setiap orang yang membacanya. Semoga segala perhatian, kebaikan, dan keikhlasan yang diberikan selama ini mendapat balasannya. Terimakasih.

Bandar Lampung, 18 Januari 2019

Penulis

Nicholas Alfa

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Jumlah perokok di Indonesia.....	6
2.2 Masalah Kesehatan Akibat Rokok	6
2.3 Asap Rokok dan Penyakit Jantung.....	7
2.4 Radikal Bebas.....	8
2.5 Bakau Minyak (<i>Rhizophora apiculata</i>).....	9
2.6 Antioksidan	11
2.7 Antioksidan dalam Bakau	12
2.8 Jantung.....	13
2.9 Kerangka Teori.....	15
2.10 Kerangka Konsep	16
2.11 Hipotesis.....	17
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	18
3.1 Desain Penelitian	18
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	18
3.3 Subjek Penelitian.....	19
3.3.1 Populasi Penelitian.....	19

3.3.2	Sampel Penelitian.....	19
3.3.3	Kriterian Inklusi	21
3.3.4	Kriteria Eksklusi	21
3.4	Variabel Penelitian	22
3.4.1	Variabel Bebas	22
3.4.2	Variabel Terikat	22
3.4.3	Definisi Operasional	22
3.5	Alat dan Bahan Penelitian	23
3.6	Alur Penelitian.....	25
3.7	Prosedur Penelitian	26
3.7.1	Aklimatisasi Hewan Coba.....	26
3.7.2	Pembuatan Ekstrak Kulit Batang Bakau Minyak	26
3.7.3	Induksi Pemaparan Asap Rokok.....	27
3.7.4	Terminasi Hewan Coba.....	28
3.7.5	Prosedur Pembuatan Preparat	28
3.8	Analisis Statistika	30
3.9	Etika Penelitian.....	31
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		32
4.1	Hasil Penelitian.....	32
4.1.1	Diameter Arteri Koronaria.....	32
4.1.2	Tebal dinding Arteri Koronaria	37
4.1.3	Analisa Statistika	41
4.2	Pembahasan	43
4.2.1	Diameter Arteri Koronaria.....	43
4.2.2	Tebal dinding Arteri Koronaria	47
BAB V. PENUTUP.....		53
5.1	Kesimpulan.....	53
5.2	Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA		55
LAMPIRAN.....		59

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Definisi Operasional.....	22
2. Rerata Diameter Arteri Koronaria.....	36
3. Rerata Tebal Dinding Arteri Koronaria	40
4. Uji Normalitas.....	41
5. Uji <i>Post Hoc Bonferroni</i> Diameter Arteri Koronaria.....	42
6. Uji <i>Post Hoc Bonferroni</i> Tebal Dinding Arteri Koronaria	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun dan Batang <i>Rhizopora apiculata</i>	9
2. Struktur Kimia Zat Aktif <i>Rhizophora sp.</i>	13
3. Histologi Pembuluh Darah	15
4. Kerangka Teori.....	16
5. Kerangka Konsep	16
6. Alur Penelitian	25
7. <i>Smoking Chamber</i>	28
8. Gambaran Histopatologi Diameter Arteri Koronaria K(-) (400x)	33
9. Gambaran Histopatologi Diameter Arteri Koronaria K(+) (400x)	34
10. Gambaran Histopatologi Diameter Arteri Koronaria P1 (400x).....	35
11. Gambaran Histopatologi Diameter Arteri Koronaria P2 (400x).....	35
12. Gambaran Histopatologi Diameter Arteri Koronaria P3 (400x).....	36
13. Gambaran Histopatologi Tebal Dinding Arteri Koronaria K(-) (400x).....	37
14. Gambaran Histopatologi Tebal Dinding Arteri Koronaria K(+) (400x).....	38
15. Gambaran Histopatologi Tebal Dinding Arteri Koronaria P1 (400x)	39
16. Gambaran Histopatologi Tebal Dinding Arteri Koronaria P2 (400x)	39
17. Gambaran Histopatologi Tebal Dinding Arteri Koronaria P3 (400x)	40

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara dengan jumlah perokok yang tinggi. Indonesia menempati urutan terbesar ketiga setelah Cina dan India. Indonesia menempati peringkat pertama sebagai negara dengan jumlah perokok terbesar di kawasan ASEAN. Berdasarkan Riskesdas tahun 2013, sebesar 24,3% masyarakat Indonesia merokok tiap hari dan sebesar 5% merokok kadang-kadang. Perilaku merokok penduduk 15 tahun keatas di Indonesia masih belum terjadi penurunan dari 2007 ke 2013, cenderung meningkat dari 34,2% tahun 2007 menjadi 36,3% tahun 2013. 64,9% laki-laki dan 2,1% perempuan masih menghisap rokok tahun 2013. Hal ini tentunya sangat memprihatinkan 2 dari 3 orang Indonesia merupakan seorang perokok. Sedangkan rata-rata jumlah batang rokok yang dihisap adalah sekitar 12,3 batang (Riskesdas, 2013)

Dengan banyaknya jumlah perokok maka akan semakin meningkat juga masalah kesehatan yang terjadi akibat rokok. Salah satu masalah kesehatan yang ditimbulkan akibat rokok yaitu penyakit jantung. Penyakit jantung

koroner (PJK) merupakan penyebab kematian tertinggi di Indonesia setelah stroke, yakni 12,9% (Kemenkes, 2017).

Kerusakan yang terjadi pada sel jantung yang diakibatkan oleh adanya gas karbonmonoksida (CO) yang bersifat radikal bebas yang dapat menyebabkan ikatan oksigen dengan hemoglobin menjadi tidak baik. Hal ini dapat terjadi karena daya ikat CO lebih kuat daripada dengan oksigen. Paparan asap rokok yang dipaparkan selama 30 hari pada tikus putih mengakibatkan terbentuknya sel busa pada tunika intima dan media pembuluh darah. Sel busa ini telah menunjukkan bahwa terjadi lesi awal dalam proses aterosklerosis. Untuk itu diperlukanlah berbagai cara untuk mencegah terjadinya aterosklerosis yang dapat menyebabkan PJK (Lapatta, Loho & Lintong, 2013).

Tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) merupakan jenis tanaman yang mengandung antioksidan. Tanaman ini terdapat dalam jumlah yang banyak di Indonesia. Indonesia memiliki hutan bakau dengan luas hutan mencapai 4,5 juta hektar atau sejumlah 25% dari jumlah total luas hutan bakau yang ada di seluruh dunia (Duke et al., 2010; Wiarta, et al., 2017). *Rhizophora apiculata* memiliki Indeks Nilai Pohon (INP) yang sangat penting bagi ekosistem. Uji aktivitas antioksidan pada tanaman bakau melalui skrining fitokimia menunjukkan bahwa pada tanaman bakau mengandung flavonoid, alkaloid, dan tanin sebagai antioksidan (Kasitowati, Yamindago & Sfitri, 2017). Penelitian sebelumnya juga membuktikan bahwa, *Rhizophora apiculata* dengan dosis 56,55mg/KgBB yang diberikan

pada tikus putih dapat mencegah terjadinya stres oksidatif paparan asap rokok (Mutia, 2018).

Dari uraian diatas, penulis ingin menggali potensi antioksidan yang terdapat dalam bakau dengan mempelajari pengaruh pemberian ekstrak kulit bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dalam melindungi histopatologi arteri koroner tikus dari paparan asap rokok. Hal ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menargetkan organ paru-paru pada tikus atau mencit.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, rumusan masalah yang diambil adalah:

1. Apakah pemberian ekstrak bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dapat mempengaruhi arteri koronaria tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipaparkan asap rokok?
2. Berapakah dosis ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang optimal dalam mempengaruhi arteri koronaria tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipaparkan asap rokok?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari diadakannya penelitian ini yaitu:

1. Mempelajari pengaruh potensi ekstrak kulit bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap arteri koroner tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipaparkan asap rokok

2. Mengetahui dosis optimal ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dalam mempengaruhi arteri koronaria tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipaparkan asap rokok?

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Manfaat hasil penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian ekstrak bakau minyak terhadap jantung tikus putih *Sprague dawley* yang dipaparkan asap

1.4.2 Manfaat Praktis

Adapun manfaat praktis yaitu sebagai pertimbangan pemberian ekstrak bakau minyak sebagai bahan antioksidan yang dapat melindungi jantung. Manfaat praktis lainnya yaitu memberikan informasi kepada masyarakat bahwa rokok dapat mengganggu fungsi jantung

1.4.3 Manfaat Agromedicine

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat mengenai ekstrak bakau minyak yang mengandung antioksidan alami dari kulit batang tumbuhan bakau di sekitar pantai yang dapat melindungi sel dari paparan spes oksidatif, sehingga kedepannya tumbuhan bakau dapat lebih dikembangkan.

1.4.4 Manfaat Bagi Peneliti

Manfaat penelitian ini bagi peneliti yaitu dapat menambah wawasan dan pengetahuan penulis serta menerapkan ilmu yang telah didapat oleh peneliti mengenai tumbuhan bakau.

Mendorong penelitian-penelitian selanjutnya agar lebih tertarik dalam meneliti tumbuhan bakau yang potensinya belum banyak diketahui terutama di bidang kesehatan

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jumlah Perokok di Indonesia

Indonesia merupakan negara dengan jumlah perokok yang tinggi. Indonesia menempati urutan terbesar ketiga setelah Cina dan India. Indonesia menempati peringkat pertama sebagai negara dengan jumlah perokok terbesar di kawasan ASEAN. Berdasarkan Riskesdas tahun 2013, sebesar 24,3% masyarakat Indonesia merokok tiap hari dan sebesar 5% merokok kadang-kadang (Kemenkes, 2013). Perilaku merokok penduduk 15 tahun keatas di Indonesia masih belum terjadi penurunan dari 2007 ke 2013, cenderung meningkat dari 34,2% tahun 2007 menjadi 36,3% tahun 2013. 64,9% laki-laki dan 2,1% perempuan masih menghisap rokok tahun 2013. Hal ini tentunya sangat memprihatinkan 2 dari 3 orang Indonesia merupakan seorang perokok. Sedangkan rata-rata jumlah batang rokok yang dihisap adalah sekitar 12,3 batang (Riskesdas, 2013).

2.2 Masalah Kesehatan Akibat Rokok

Asap rokok merupakan radikal bebas eksogen yang sangat berbahaya. Merokok dapat menimbulkan masalah bagi kesehatan antara lain: peradangan dan penyempitan saluran pernafasan, emfisema, jantung

koroner, tukak lambung, mempercepat penuaan, menimbulkan impotensi yang mengganggu kesuburan pria dan wanita, merusak gen, dan dapat mengancam kehamilan. Asap rokok juga dapat menimbulkan berbagai macam keganasan seperti: kanker paru-paru, kanker kulit, kanker mulut, kanker bibir, kanker kerongkongan, dan kanker usus (Susanna, Hartono & Fauzan, 2003).

2.3 Asap Rokok dan Penyakit Jantung

Kandungan kimia tembakau yang sudah teridentifikasi jumlahnya mencapai 2.500 komponen. Dari jumlah tersebut sekitar 1.100 komponen diturunkan menjadi komponen asap secara langsung dan 1.400 lainnya mengalami dekomposisi atau terpecah, bereaksi dengan komponen lain dan membentuk komponen baru. Didalam asap sendiri terdapat 4.800 macam komponen kimia yang telah teridentifikasi. Telah diidentifikasi komponen kimia rokok yang berbahaya bagi kesehatan, yaitu: tar, nikotin, gas CO, dan NO yang berasal dari tembakau (Tirtosastro & Murdiyati, 2010). Salah satu dampak yang diakibatkan oleh rokok adalah penyakit jantung. Rokok yang dibakar akan menghasilkan gas CO yang mempunyai kemampuan mengikat hemoglobin (Hb) dalam eritrosit lebih kuat dibandingkan oksigen. Dengan adanya asap rokok tubuh akan semakin kekurangan oksigen. Hal ini terjadi akibat yang diangkut adalah CO bukan O₂. Sel tubuh yang menderita kekurangan O₂ akan berusaha meningkatkan yaitu melalui kompensasi pembuluh darah dengan jalan menciut atau spasme. Bila proses spasme berlangsung lama dan terus menerus maka pembuluh darah akan mudah

rusak dengan terjadinya proses aterosklerosis atau penyempitan (Tisa, 2012).

Nikotin dalam asap rokok menyebabkan perangsangan terhadap hormon adrenalin yang bersifat memacu peningkatan jantung dan tekanan darah. Efek lainnya dapat merangsang terjadinya agregasi trombosit. Trombosit akan menggumpal dan akhirnya akan menyumbat pembuluh darah yang sudah sempit akibat asap yang mengandung CO dari rokok. Dari mekanisme diatas baik CO maupun nikotin bekerjasama menyempitkan pembuluh darah dan menyumbatnya (Tisa 2012).

2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas didefinisikan sebagai spesies kimia reaktif dengan elektron tidak berpasangan di orbital terluarnya (Moniharapon, Queljoe & Simbala, 2016). Konfigurasi yang tidak stabil ini menghasilkan energi yang dilepas melalui reaksi dengan molekul di sekitarnya, seperti protein, lipid, karbohidrat, dan asam nukleat. Radikal bebas yang mayoritas menyebabkan kerusakan sistem biologi adalah *oxygen free radical* atau disebut sebagai *reactive oxygen species* (ROS). ROS dibentuk oleh sel-sel organisme aerobik dan dapat menginisiasi reaksi autokatalitik, dan molekul yang bereaksi dengan ROS akan diubah menjadi radikal bebas, sehingga memperluas rantai kerusakan (Widayati, 2012).

Radikal bebas bertanggung jawab terhadap kerusakan tingkat sel dan jaringan terkait usia. Pada kondisi normal, terjadi keseimbangan antara

oksidan, antioksidan, dan biomolekul. Radikal bebas yang berlebih menyebabkan antioksidan seluler natural kewalahan, memicu oksidasi, dan berkontribusi terhadap kerusakan fungsional seluler. Radikal bebas merupakan penyebab utama terkait proses penuaan, dianggap sebagai satu-satunya proses utama, dimodifikasi oleh genetik dan faktor lingkungan; oksigen radikal bebas bertanggung jawab (karena reaktivitasnya tinggi) terhadap kerusakan tingkat sel dan jaringan terkait usia. Akumulasi radikal oksigen pada sel berperan pada penuaan dan kematian sel (Zalukhu, Phyma & Pinzon, 2016; Widayati, 2012).

Dalam konsentrasi yang tinggi, radikal bebas selanjutnya akan membentuk stres oksidatif yang merupakan suatu proses penghancuran yang dapat merusak sel-sel tubuh (Urso & Clarkson, 2003) . Proses kerusakan ini akan semakin cepat jika kadar antioksidan dalam tubuh menurun juga (Batubara, Wantouw & Tendean, 2013).

2.5 Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*)



Gambar 1. Daun dan Batang *Rhizophora apiculata* (Duke et al., 2010).

Tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) merupakan jenis tanaman yang mengandung antioksidan. Tanaman ini terdapat dalam jumlah yang banyak di Indonesia. Indonesia memiliki hutan bakau dengan luas hutan mencapai 4,5 juta hektar atau sejumlah 25% dari jumlah total luas hutan bakau yang ada di seluruh dunia (Duke et al., 2010; Wiarta et al., 2017). Bakau merupakan tumbuhan yang biasa tumbuh di tepi pantai untuk mencegah abrasi. Adapaun taksonomi dari bakau minyak yaitu:

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Kelas : Magnoliopsida
Bangsa : Rhizophorales
Suku : Rhizophoraceae
Marga : Rhizophora
Jenis : *Rhizophora apiculata* (Duke et al., 2010).

Ciri-ciri pohonnya yaitu: tinggi dapat mencapai 15 m, batang berkayu, silindris, kulit luar batang berwarna abu-abu kecoklatan dengan celah vertikal, muncul akar udara dari percabangannya. Daun: permukaan halus mengkilap, ujung runcing dengan duri, bentuk lonjong, ukuran panjang 3-13 cm, pangkal berbentuk baji, permukaan bawah tulang daun berwarna kemerahan, tangkai pendek. Karangan bunga: terletak di ketiak daun, umumnya tersusun atas 2 bunga, yang bertangkai pendek, kelopak 4, berwarna coklat kekuningan, mahkota 4, berwarna keputihan, putik 1 berbelah 2, panjang 0,5–1 mm. Buah: warna coklat, ukuran 2-3 cm, bentuk mirip buah jambu air, hipokotil silindris berdiameter 1-2 cm, panjang dapat

mencapai 20 cm, bagian ujung sedikit berbintik-bintik, warna hijau keunguan. Akar: tunjang. Habitat: tanah basah, berlumpur, berpasir (Sudarmadji, 2004).

2.6 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan (Moniharapon, Queljoe, Simbala, 2016). Antioksidan dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh. Antioksidan memiliki fungsi untuk menghentikan atau memutuskan reaksi radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh, sehingga dapat menyelamatkan sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Di dalam tubuh, sistem pertahanan antioksidan kompleks bekerja meminimalkan dampak paparan radikal bebas endogen dan eksogen berlebih. Antioksidan dapat menurunkan risiko dari terjadinya penyakit kronis seperti kanker dan jantung koroner (Rohmatussolihat, 2009).

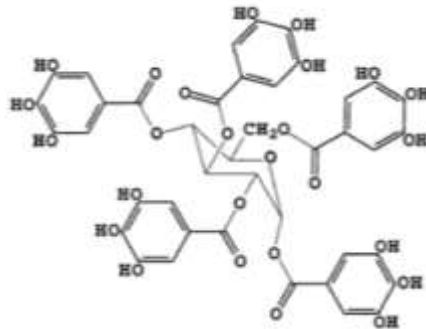
Terdapat 2 golongan antioksidan, yaitu: antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen seperti superoxide dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroxidase (GPX) yang menghambat oksidasi komponen seluler dengan secara langsung menangkap *reactive oxygen spesies* (ROS) dan *reactive nitrogen spesies*, memetabolisme peroksidase lipid, dan mengubahnya menjadi substansi non-radikal. Antioksidan eksogen seperti vitamin C, E, carotenoid, polyphenol, alkaloid,

dan tanin juga bekerja menangkap radikal bebas dan mengubahnya menjadi substansi non-radikal (Rohmatussolihat, 2009).

Pada kondisi stres fisik, infeksi, pajanan berlebih radikal bebas, kapasitas antioksidan menjadi tidak mencukupi untuk menangkal besarnya radikal bebas yang terakumulasi dalam tubuh. Kapasitas antioksidan tubuh juga semakin lama akan semakin menurun sejalan dengan penambahan usia. Kondisi pajanan radikal bebas melebihi kapasitas antioksidan tubuh disebut dengan stres oksidatif. Stres oksidatif juga telah diketahui bahwa turut berperan terhadap timbulnya berbagai penyakit inflamasi atau degeneratif seperti alzheimer, parkinson, aterosklerosis, artritis reumatoid, kanker, dan proses penuaan dini (Dharma, 2012).

2.7 Antioksidan dalam Bakau

Setelah dilakukan uji fitokimia menggunakan metode penangkapan radikal bebas *1,1-difenil-pikrihidrazil* (DPPH) dan *2,2-Azinobis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfonat acid* (ABTS) tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) memiliki efek antioksidan. Kandungan senyawa antioksidan yang terdapat pada tanaman batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yaitu: alkaloid, flavonoid, dan tanin. Aktivitas antioksidan terbaik terdapat pada bagian kulit batangnya (Abdullah, 2011).



Gambar 2. Struktur Kimia Zat Aktif *Rhizophora spp* (Danarto, Prihananto & Pamungkas, 2014).

2.8 Jantung

2.8.1 Anatomi Jantung

Jantung berbentuk seperti kerucut atau piramida terbalik dengan apeks berada di bawah dan basis berada di atas. Berat pada orang dewasa sekitar 250-350 gram. Jantung sebagai pusat sistem kardiovaskuler terletak di sebelah rongga dada (cavum thoraks) yang terlindung oleh costae tepatnya pada mediastinum media.

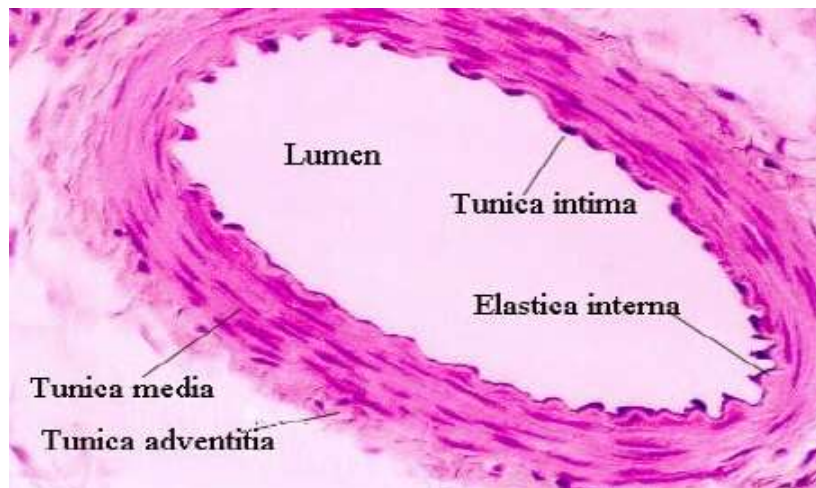
Batas jantung kanan terletak pada garis parasternalis dekstra ICS 4, batas jantung kiri terletak pada garis midklavikula sinistra ICS 4-5, batas atas jantung garis parasternal dekstra ICS 2. Jantung terdiri dari 4 ruang yaitu: atrium dekstra, atrium sinistra, ventrikel dekstra, dan ventrikel sinistra. Pada jantung terdapat 4 katup yang pada ruang jantung yaitu: katup atrioventrikularis dekstra (trikuspid) yang membatasi atrium dekstra dan ventrikel dekstra, katup atrioventrikularis sinistra (bikuspid) yang membatasi atrium sinistra dan ventrikel sinistra, katup pulmonal yang

membatasi ventrikel dekstra dengan arteri pulmonal, dan katup aorta yang membatasi ventrikel sinistra dengan aorta untuk mengalirkan darah keseluruh tubuh. Jantung sendiri mendapat vaskularisasi dari arteri koronaria dekstra dan sinistra (Paulsen & Waschke, 2015).

2.8.2 Histologi Arteri Koroner

Arteri koroner merupakan pembuluh darah yng berfungsi menyuplai darah unruk jantung itu sendiri. Arteri koroner memiliki struktur seperti pembuluh darah lainnya. Terdapat 3 lapisan daalam gambaran histologi pembuluh darah, yaitu:

1. Tunika intima atau endothelium yang merupakan lapisan terdalam, terdiri dari selapis sel endotel di sebelah dalam. Di luarnya diliputi oleh lapisan subendotel yg merupakan jaringan ikat fibroelastis halus dan yg paling luar berupa serat elastis yg disebut membran elastika interna.
2. Tunika media terdiri atas sel otot polos yang tersusun melingkar. Serat-serat elastin dan kolagen dalam jumlah yang beragam berada di antara sel-sel otot polos.
3. Tunika adventisia merupakan lapisan terluar yang terdiri atas jaringan ikat yang umumnya tersusun sejajar sumbu panjang pembuluh (memanjang). Berbatasan dengan tunika media, terdapat tunika elastika eksterna yang jelas. Tata bangun dan ketebalan relatif dari setiap lapisan tergantung pada jenis dan ukuran pembuluh (Mescher, 2014).



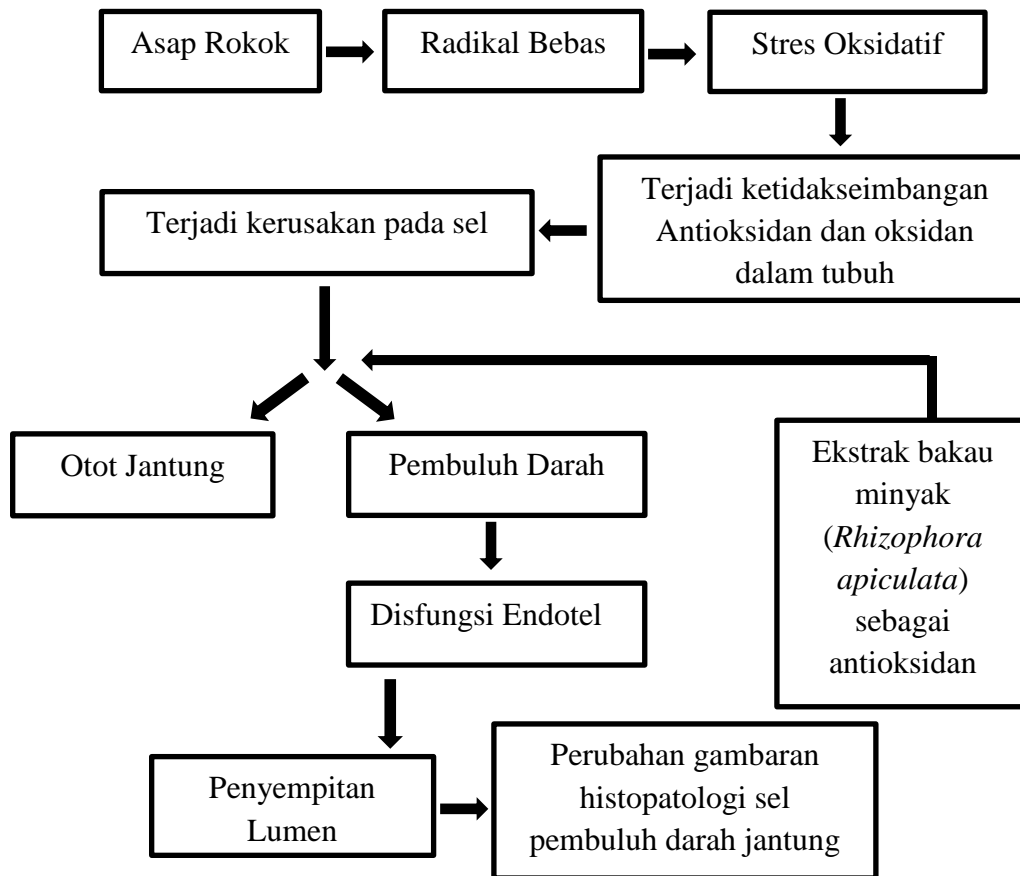
Gambar 3. Gambaran Histologi Pembuluh Darah (Mescher, 2014).

2.9 Kerangka Teori

Asap rokok merupakan radikal bebas eksogen yang sangat berbahaya (Susanna, Hartono & Fauzan, 2003). Pada kondisi normal, terjadi keseimbangan antara oksidan, antioksidan, dan biomolekul. Radikal bebas yang berlebih menyebabkan antioksidan seluler natural kewalahan, memicu oksidasi, dan berkontribusi terhadap kerusakan fungsional seluler (Zalukhu Phyma & Pinzon, 2016; Widayati, 2012). Gas CO dan nikotin dalam asap rokok akan mengakibatkan disfungsi endotel pada arteri koroner (Tisa, 2012). Tumpukan lipid yang teroksidasi akan mengaktifkan makrofag untuk “memakan” lipid tersebut sehingga akan membentuk *foam cell*. Hal inilah yang akan menyebabkan terjadinya penyempitan pembuluh darah dan terjadinya perubahan arteri koroner yang normal (Mustofa et al., 2014).

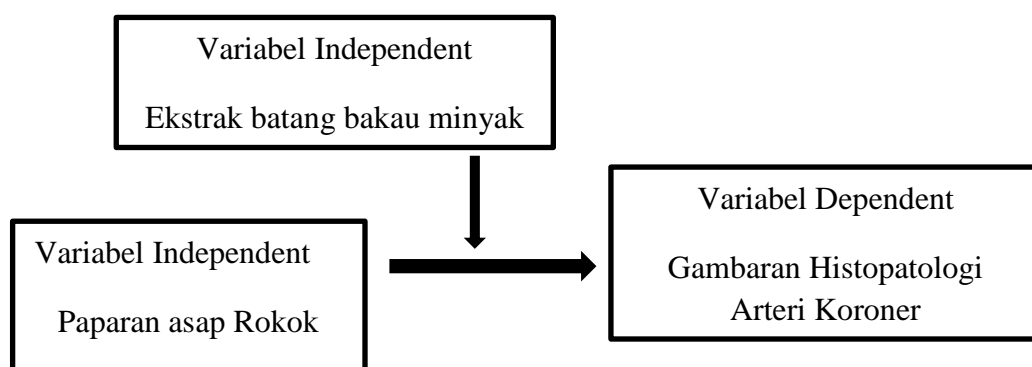
Kondisi tidak seimbang antara antioksidan dan oksidan perlu ditangani dengan mengurangi oksidan tersebut atau dengan memberi tambahan antioksidan. Tanaman bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) memiliki

aktivitas antioksidan yang dapat menghambat terjadinya proses oksidasi yang berlangsung (Abdullah, 2011).



Gambar 4. Kerangka Teori (Abdullah, 2011; Zalukhu, Phyma & Pinzon, 2016; Widayati, 2010)

2.10 Kerangka Konsep



Gambar 5. Kerangka Konsep

2.11 Hipotesis

H₀ : Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) pada histopatologi arteri koronaria tikus putih yang dipaparkan asap rokok.

H_a : Terdapat pengaruh pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) pada histopatologi arteri koronaria tikus putih yang dipaparkan asap rokok.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *Post Test Only Control Group Design*. Pengambilan data hanya dilakukan setelah perlakuan, kelompok-kelompok tersebut dianggap sama sebelum diberi perlakuan. Di akhir penelitian dilakukan perbandingan antara hasil pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Notoatmodjo, 2005).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Hewan di pelihara di *Animal House* FK Unila. Pembuatan ekstrak dilakukan di laboratorium Fakultas MIPA Unila. Terminasi dilakukan di Laboratorium Fisiologi, Biologi Molekuler, dan Biokimia Fakultas Kedokteran Unila. Pembuatan dan pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Periode penelitian ini dimulai pada bulan September 2018 – Januari 2019.

3.3 Subjek Penelitian

3.3.1 Populasi

Tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* berumur 2,5-3 bulan atau 10-12 minggu dengan berat badan 200-250 gram yang diperoleh dari Institut Pertanian Bogor (IPB).

3.3.2 Sampel

Sampel penelitian ini merupakan organ jantung tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur *Spague Dawley* yang telah diberi perlakuan dan dalam kurun waktu tertentu. Besar sampel dapat dihitung dengan metode rancangan acak lengkap dapat menggunakan rumus Frederer $(t-1)(r-1) > 15$, t adalah jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah sampel tiap kelompok.

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

Keterangan: t = Kelompok perlakuan

n = Jumlah sampel unuk 1 kelompok perlakuan

Untuk menghindari *drop out*, maka setiap kelompok diberi tambahan dengan rumusan sebagai berikut:

$$n' = \frac{5}{1-f}$$

Keterangan :

n' = Jumlah sampel setelah dikoreksi

n = Jumlah sampel berdasarkan estimasi sebelumnya

f = Prediksi presentase sampel *drop out* (10%)

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

$$n' = \frac{5}{1-10\%}$$

$$n' = \frac{5}{0,9}$$

$$n' = 5,55$$

$$n' = 6$$

Besar sampel (N) = $t \times n$

$$= 5 \times 6$$

$$= 30 \text{ ekor tikus.}$$

Jadi didalam penelitian ini, dibutuhkan 30 tikus putih jantan galur *Wistar* yang dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus.

Pada penelitian kali ini dibagi menjadi 5 kelompok percobaan

1. Kelompok Kontrol negatif (K-)

Merupakan kontrol Kelompok tikus yang tidak diberi paparan asap rokok dan tidak diberi ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).

2. Kelompok Kontrol Positif (K+)

Kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok dua batang selama 30 hari dan tidak diberi ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).

3. Kelompok Perlakuan 1 (P1)

Kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok dua batang selama 30 hari dengan pemberian dosis 28,275 mg/kgBB ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).

4. Kelompok Perlakuan 2 (P2)

Kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok dua batang selama 30 hari dengan pemberian dosis 56,55 mg/kgBB ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).

5. Kelompok Perlakuan 3 (P3)

Kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok dua batang selama 30 hari dengan pemberian dosis 113,1 mg/kgBB ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).

3.3.3 Kriteria Inklusi

- a. Sehat (tikus dengan bulu tidak rontok dan tidak kusam, aktivitas aktif)
- b. Berjenis kelamin jantan
- c. Berusia 2,5-3 bulan
- d. Berat badan 200-250 gram

3.3.4 Kriteria Eksklusi

- a. Tikus mati disela perlakuan (sakit, patah).
- b. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).

3.4.2 Variabel Terikat (*Dependent Variable*)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi arteri koroner tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang terpapar asap rokok.

3.4.3 Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Ekstrak kulit bakau	Pemberian ekstrak kulit batang bakau (<i>Rhizophora apiculata</i>). Diberikan 1x dalam sehari.	Neraca	Larutan dengan dosis 28,275 mg/kgBB, dan 56,55 mg/kgBB, dan 113,1 mg/kgBB	Kategorik
Histopatologi arteri koroner	Gambaran histopatologi yang didapatkan dari pemotongan jantung dan diambil bagian arteri koronariannya	Mikroskop	1.Nilai rerata diameter lumen arteri koroner Menggunakan 4 garis. 2.Nilai rerata ketebalan dinding arteri koroner dengan menggunakan 8 garis	Numerik

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat dalam Pembuatan Ekstrak

- a. Mesin penggiling
- b. Kertas saring
- c. *Rotatory evaporator*
- d. Labu erlemeyer
- e. Gelas ukur
- f. Pipet ukur

3.5.2 Alat selama Perlakuan

- a. Kandang tikus
- b. Tempat makan dan minum tikus
- c. Neraca
- d. Sonde tikus
- e. Sduit oral 1 cc
- f. Alat bedah minor
- g. Sduit 10 cc
- h. Kotak pemaparan asap rokok
- i. *Handscoon* dan masker
- j. Gelas ukur dan pengaduk

3.5.3 Alat dalam Pembuatan Preparat Histopatologi

- a. *Cover glass*
- b. *Object glass*

- c. *Tissue cassette*
- d. *Rotary microtome*
- e. *Waterbath*
- f. *Platening table*
- g. *Autotechnicome processor*
- h. *Staining jar*
- i. *Staining jack*
- j. Kertas saring
- k. *Histoplast*
- l. *Paraffin dispenser*

3.5.4 Bahan dalam Pembuatan Ekstrak

- a. Kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*)
- b. Etanol 95%

3.5.5 Bahan selama Perlakuan

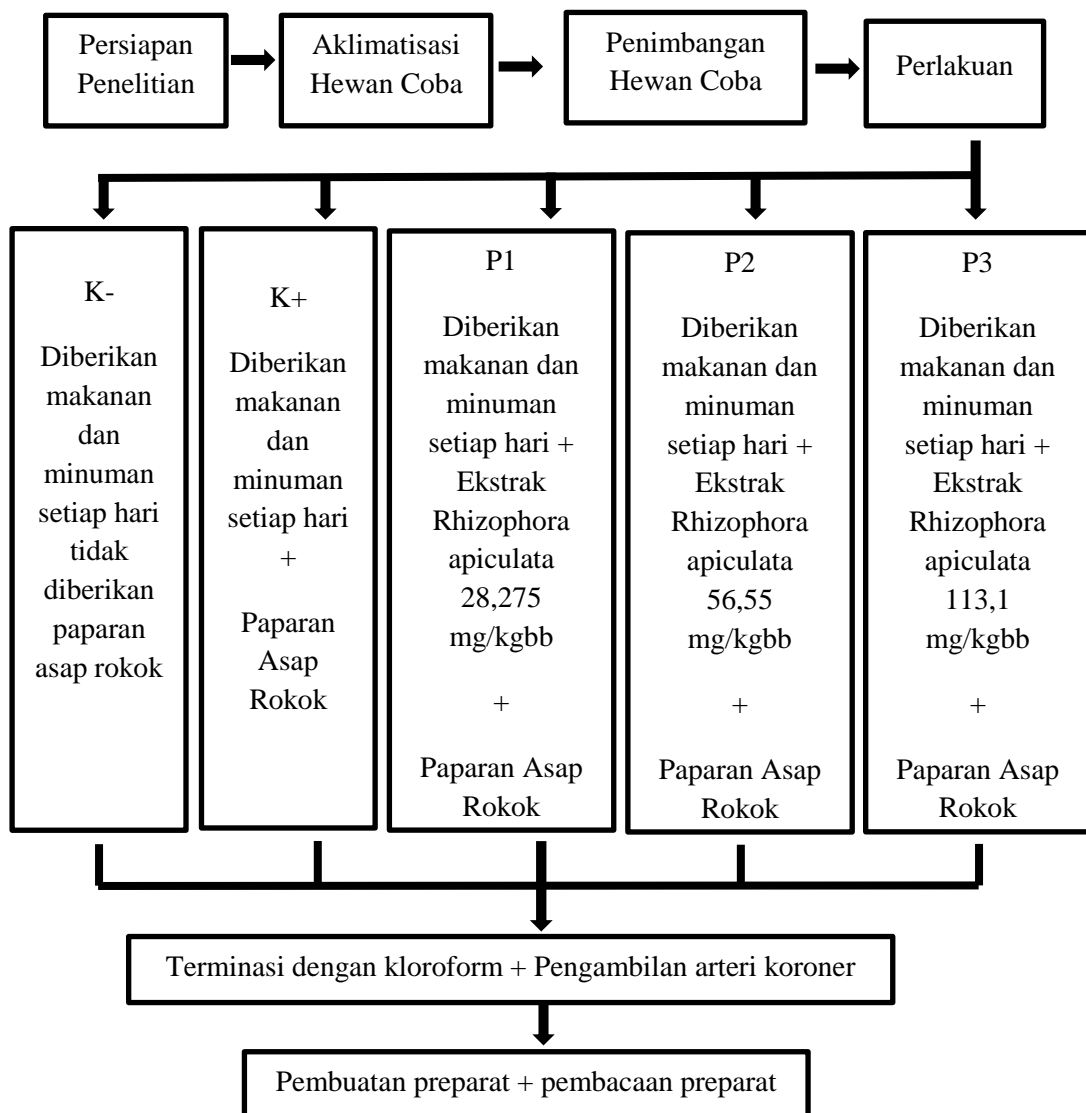
- a. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dewasa jantan galur *Sprague dawley*
- b. Pakan tikus
- c. Air minum tikus
- d. Sekam untuk kandang tikus
- e. Rokok kretek

3.5.5 Bahan dalam Pembuatan Preparat Histopatologi

- a. Larutan formalin 10 % untuk fiksasi

- b. Alkohol 70%
- c. Xylol
- d. Pewarna hematoksilin dan Eosin (H&E)
- e. Entelan

3.6 Alur Penelitian



Gambar 6. Alur Penelitian

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Aklimatisasi Hewan Percobaan

Aklimatisasi hewan coba tikus putih jantan galur *Spague dawley* yang nantinya akan menjalani masa adaptasi selama 1 minggu didalam tempat pemeliharaan untuk menyesuaikan cara hidup dan makanannya sebelum diberikan perlakuan. Tikus ditempatkan dalam kandang dengan tutup terbuat dari kawat dan dialasi sekam, makanan tikus berupa pelet. Pemberian makanan dan minuman diberikan *ad libitum*. Dijaga kelembabannya, suhu kandang dijaga sekitar 25°C dan diberikan pencahayaan yang cukup. Masing-masing dari kelompok tikus diletakan dalam kandang tersendiri. Kesehatan dari tikus juga dipantau setiap hari hingga nantinya akan diterminasi (Marwan, Widjajanto & Karyono, 2005).

3.7.2 Pembuatan Ekstrak *Rhizophora apiculata*

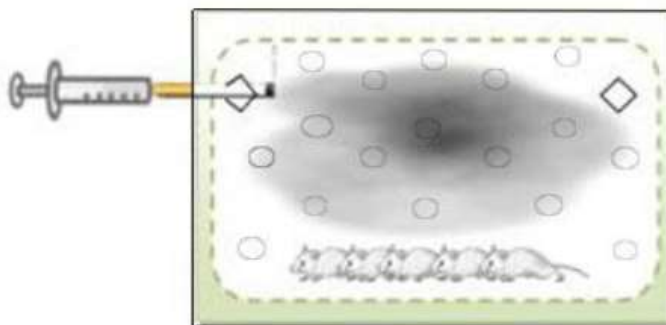
Tumbuhan bakau minyak didapatkan dari Lampung Timur. Dicuci serta dipotong-potong. Potongan kulit batang bakau dikeringkan dan dihaluskan ke dalam mesin penggiling hingga menjadi serbuk. Diambil 600 gram serbuk kulit batang yang sudah dikeringkan. Serbuk simplisia kulit batang bakau minyak direndam di dalam pelarut etanol 95% sebanyak 1,5 L selama 6 jam pertama sambil sekali-kali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Hasil campuran dengan pelarut etanol 95% disaring dengan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *rotatory evaporator* 50 (Istiqomah, 2013; Mustofa et al., 2014; Mustofa et al., 2018).

Hasil ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) didapatkan berat jenis dan volume masing-masing 0,0872 gram/ml dan 52 ml. Dosis ekstrak kulit batang bakau minyak yang digunakan adalah 28,275 mg/kgbb, 56,55 mg/kgbb, dan 113,1 mg/kgbb. Dengan demikian ekstrak kulit batang bakau yang diberikan untuk tikus dengan berat 200 g adalah 5,655 mg, 11,31 mg, dan 22,62 mg. Sehingga untuk 1 ekor tikus jumlah ekstrak yang diberikan yaitu: 0.065 ml, 0,13 ml, 0,26 ml (Vijayavel, Anbuselvam & Balasubramanian, 2006).

3.7.3 Induksi Paparan Asap rokok

Diletakkan mencit pada *smoking chamber* (sebuah kotak yang dimodifikasi dengan 1 lubang sebagai jalan masuk asap rokok yang dipompakan dengan alat pompa asap rokok). Pemaparan asap rokok terhadap hewan coba dilakukan setiap hari selama 30 hari. Hewan coba akan diberikan paparan asap rokok kretek sebanyak 24 batang rokok perhari. Kelompok percobaan yang diberikan paparan asap rokok yaitu pada: kelompok perlakuan 1-3 yang diberikan paparan asap rokok dan 1 jam sebelumnya telah dilakukan pemberian ekstrak kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) dan kelompok kontrol positif (K+) yang hanya diberikan paparan asap rokok. Rokok dibakar dalam waktu 15 menit dan dibiarkan berdifusi selama 25 menit. Sampel hewan coba diletakkan dalam kotak plastik yang didalamnya terdapat dua lubang. Lubang pertama berfungsi sebagai tempat memasukan ujung rokok yang dibakar sehingga akan terisi asap rokok dalam kotak

plastik dan lubang kedua untuk sirkulasi atau ventilasi pertukaran dan pengeluaran asap rokok yang dipaparkan. Asap rokok dimasukan dengan menggunakan spuit 10cc dan dihubungkan dengan selang karet yang dimasukan ke dalam lubang pertama untuk pemaparan asap rokok (Lapatta, Loho & Lintong, 2013; Mustofa et al., 2018; Zettira, 2018).



Gambar 7. Smoking Chamber (Zettira, 2018)

3.7.4 Terminasi Hewan Coba

Terminasi tikus dilakukan setelah dilakukannya perlakuan terakhir. Tikus diterminasi dengan menggunakan ketamin:xylazine dosis 75-100mg/kg : 5-10 mg/kg (perbandingan 10:1) secara IP. Kemudian dilakukan *cervical dislocation*. Cara melakukan *cervical dislocation* ini terhadap tikus yaitu dengan meletakkan ibu jari dan jari telunjuk di setiap sisi leher pada dasar tengkorak untuk memberi tekanan ke bagian posterior dasar tulang tengkorak dan sumsum tulang belakang, sementara tangan lainnya pada bagian ekor lalu ditarik dengan cepat sehingga terjadi pemisahan vertebra servikal dari tengkorak dan terjadi pemisahan sumsum tulang belakang dari otak (Mustofa et al., 2018).

3.7.5 Pembuatan Preparat

Pembuatan preparat histopatologi pada arteri koronaria dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

a. Fiksasi

Jaringan yang akan dibuat sediaan histopatologinya difiksasi dalam larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10% minimal 48 jam hingga mengeras (matang). Sampel organ yang terfiksasi dengan sempurna selanjutnya dilakukan *trimming* setebal $\pm 0,5$ cm. potongan kemudian dimasukkan dalam *tissue cassette* untuk dimasukkan dalam *automatic tissue processor*.

b. Dehidrasi

Proses dehidrasi dimasukkan untuk menarik air dari jaringan dan mencegah terjadinya pengerutan sampel yang diuji. Dehidrasi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat (75%, 95% dan alkohol absolut). Proses perendaman pada masing-masing konsentrasi alkohol dilakukan selama 2 jam. Proses dehidrasi dilakukan dengan menggunakan mesin otomatis yaitu *automatic tissue processor*.

c. Clearing

Proses *clearing* atau penjernihan dilakukan 2 tahap dengan menggunakan xylol dan xylol II. Xylol berfungsi untuk melarutkan alkohol dan parafit.

d. Infiltrasi

Infiltrasi atau impregnasi adalah proses pengisian ke dalam pori-pori jaringan. Pengisian pori-pori jaringan ini dimaksudkan untuk mengeraskan

jaringan agar mudah dipotong dengan pisau mikrotom. Parafin yang digunakan adalah parafin histoplast.

e. Embedding dan Blocking

Embedding atau *blocking* adalah proses penanaman jaringan dalam blok parafin. Parafin yang digunakan adalah parafin histoplast. Proses *embedding* dilakukan dengan menggunakan alat *tissue embedding console*.

f. Sectioning

Sectioning adalah proses pemotongan jaringan dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 μ m. Pemotongan dilakukan dengan *alat rotary microtome spencer*. Sediaan kemudian di letakkan pada gelas objek dan disimpan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

Hasil dari pembuatan preparat selanjutnya akan dinilai kerusakan histopatologi jantung masing-masing kelompok percobaan menggunakan mikroskop (Mustofa et al., 2018).

3.8 Analisis Statistika

Analisis statistika untuk mengolah data yang diperoleh digunakan program komputer. Hasil penelitian akan dianalisis apakah memiliki distribusi normal atau tidak dengan uji normalitas *Shapiro–Wilk* karena jumlah sampel ≤ 50 . Pada uji normalitas didapatkan data yang normal dengan $p > 0,05$ pada setiap kelompok. Selanjutnya dilakukan uji *Levene* untuk mengetahui apakah data kelompok memiliki varian yang sama atau tidak. Pada uji *Levene* didapatkan bahwa data memiliki variansi yang sama dengan $p > 0,05$.

Selanjutnya dilakukan uji *One way Anova* untuk membuktikan hipotesis. Pada uji *One way Anova* didapatkan nilai $p < 0,05$. Untuk membandingkan perbedaan antara 2 kelompok dilakukan uji *Post Hoc Bonferonni* (Dahlan, 2014).

3.9 Etika Penelitian

Ethical clearance penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dengan nomor: 3731/UN26.18/PP.05.02.00/2018 dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Dalam berlangsungnya penelitian, akan memperhatikan aspek berikut:

1. Replacement adalah keperluan memanfaatkan hewan percobaan sudah diperhitungkan secara seksama baik dari pengalaman terlebih dahulu maupun literatur untuk menjawab pertanyaan penelitian dan tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan.
2. Reduction adalah pemanfaatan hewan dalam penelitian sedikit mungkin, tetapi tetap mendapatkan hasil yang optimal. Dalam penelitian ini sampel dihitung berdasar rumus Frederer.
3. Refinement adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi dengan prinsip dasar membebaskan hewan coba dari beberapa kondisi, yaitu: bebas rasa lapar dan haus, bebas dari ketidaknyamanan, dan bebas dari nyeri dan penyakit

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) mampu melindungi arteri koronaria tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipaparkan asap rokok.

Dosis optimal ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) dalam mencegah penebalan arteri koronaria tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipaparkan asap rokok adalah 56,55 mg/kgbb. Pada dosis 28,275 mg/kgbb, 56,55 mg/kgbb, dan 113,1 mg/kgbb belum mampu mencegah penyempitan diameter arteri koronaria tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang dipaparkan asap rokok

5.2 Saran

Saran dari peneliti untuk penelitian selanjutnya adalah agar pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan perbandingan antara ekstrak kulit batang bakau

minyak (*Rhizophora apiculata*) dengan jenis bakau lainnya untuk membandingkan efek melindungi pada organ target.

Saran bagi institusi yaitu laboratorium FK Unila dapat memiliki alat untuk melakukan ekstraksi bahan ekstrak, supaya proses ekstraksi dapat dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. 2011. Potensi bakau rhizophora apiculata sebagai inhibitor tirosinase dan antioksidan [tesis]. Bogor: IPB.
- Batubara IVD, Wantouw B, Tendean L. 2013. Pengaruh paparan asap rokok Kretek terhadap kualitas spermatozoa mencit jantan (mus mucus). eBM. 1(1):330–7.
- Dahlan MS. 2014. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan. Edisi ke-6. Jakarta: Epidemiologi Indonesia.
- Danarto YC, Prihananto SA, Pamungkas ZA. 2011. Pemanfaatan tanin dari kulit kayu bakau sebagai pengganti gugus fenol pada resin fenol formaldehid. Prosiding Semnas Tekim Kejuangan. ISSN 1693 – 4393.
- Dharma HS. 2012. Peranan antioksidan endogen dan eksogen terhadap kesehatan. Medical Department Kalbe Farma. 39(10):793–4.
- Duke N, Kathiresan K, Salmo SG, Fernando ES, Peras JR, Sukardjo S, et al. 2010. Rhizophora apiculata. The IUCN. 1(1):1-10
- Isdadiyanto S. 2018. Tebal dinding dan diameter lumen arteri koronaria tikus putih setelah pemberian teh kombucha kadar 100% waktu fermentasi 6, 9, dan 12 hari. E-journal Undip. 3(1):97-104
- Istiqomah, 2013. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar piperin buah cabe jawa (piperis retrofracti fructus) [skripsi]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah .
- Kasitowati RD, Yamindago A, Safitri M. 2017. Potensi antioksidan dan skrining fitokimia ekstrak daun mangrove rhizopora murconata, pilang probolinggo.

JFMR. 1(1):72-7.

Kemenkes. 2017. Penyakit jantung penyebab kematian tertinggi, kementerian kesehatan mengingatkan cerdik. Kemenkes [diunduh tanggal 10 Agustus 2018]. Tersedia dari: <http://www.depkes.go.id/article/print/17073100005/penyakit-jantung-penyebab-kematian-tertinggi-kemenkes-ingatkan-cerdik-.html>

Lapatta N, Loho L, Lintong P. 2013. Gambaran histopatologi aorta tikus wistar yang terpapar asap rokok. *J e-Biomedik*. 1(2):1019-22.

Marwan, Widjajanto E, Karyono S. 2005. Pengaruh pemberian ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) terhadap kadar GSH, MDA, jumlah serta fungsi sel makrofag aveolar tikus wistar yang dipaparkan asap rokok kronis. *J Ked Brawijaya*. 21(3):111–21.

Mescher AL. 2014. *Histologi dasar junqueira*. Jakarta:EGC. hlm. 186-8.

Moniharapon PJ, Queljoe E, Simbala H. 2016. Identifikasi fitokimia dan uji antioksidan ekstrak etanol tauge. *Pharmacon*. 5(4):130-6.

Mustofa S, Anindito AA, Pratiwi A, Putri AA, Maulana M. 2014. The influence of piper retrofractum vahl (java's chili) extract towards lipid profile and histology of rats coronary artery with high fat diet. *Juke Unila*. 4(7):52-9.

Mustofa S, Bahagia W, Kurniawaty E, Rahmanisa S, Audah KH. 2018. The effect of mangrove (*Rhizophora apiculata*) Bark Extract Ethanol on Histopathology pancreas of male white rats Sprague dawley strain exposed to Cigarette Smoke. *Acta Biochimia Indonesiana*. 1(1):7-12.

Mutia V. 2018. Pengaruh pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*rhizophora apiculata*) terhadap histopatologi paru pada tikus putih jantan (*rattus novergicus*) galur sprague dawley yang terpapar asap rokok [skripsi]. Bandar lampung: FK Unila.

Notoatmojdo S, 2005. *Metodologi penelitian kesehatan*, Jakarta: Rineka Cipta.

Paulsen F, Waschke J. 2015. *Sobotta atlas anatomi manusia*. Jakarta: EGC.

- Riskesdas. 2013. Perilaku merokok masyarakat indonesia. Jakarta: Kemenkes.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan dan penyelamat sel-sel tubuh manusia. *Biotrends*. 4(1):5-9.
- Sayuti K, Yenrina R. 2015. Antioksidan alami dan sintetik. Padang: Andalas University Press.
- Sudarmadji. 2004. Deskripsi jenis-jenis rhizophoraceae di hutan mangrove taman nasional baluran jawa timur. *Biodiversitas*. 5(2):66-70.
- Susanna D, Hartono B, Fauzan H. 2003. Penentuan kadar nikotin dalam asap rokok. *J EkoKes*. 2(3):272-4.
- Tirtosastro S, Murdiyati AS. 2010. Kandungan kimia tembakau dan rokok. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat, dan Minyak Industri*. 2(1):33-43.
- Tisa AN. 2012. Hubungan antara kebiasaan merokok dengan tekanan darah meningkat karyawan laki-laki di nasmoco semarang. *J Kesehatan Masyarakat*. 1(2):241-50.
- Urso ML, Clarkson PM. 2003. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*. 189(1):41-54.
- Vijayavel K, Anbuselvam C, Balasubramanian MP, 2006. Free radical scavenging activity of the marine mangrove rhizophora apiculata bark extract with reference to naphthalene induced mitochondrial dysfunction. *Chemico-Biological Interactions*. 163(1-2):170-5.
- Wiarta R, Astiani D, Indriyani Y, Mulia F. 2017. Pendugaan jumlah karbon tersimpan pada tegakan jenis bakau (*R.apiculata*) di IUPHHK PT. bina ovivipari semesta kabupaten kubu raya. *J Hutles*. 5(2):356-64.
- Widayati E. 2012. Okidasi biologi, radikal bebas, dan antioxidant. Semarang: Bagian Biokim FK Unisula.

Zalukhu ML. Phyma AR. Pinzon RT. 2016. Proses menua, stres oksidatif, dan peran antioksidan. *J FK Duta wacana*. 43(10):733-5.

Zettira OZ, 2018. Pengaruh pemberian ekstrak bekatul beras merah terhadap perubahan diameter lumern arteri koronaria tikus putih (*rattus novergicus*) jantan galur sprague dawley yang diinduksi paparan asap rokok kretek [skripsi]. Bandar Lampung: FK Unila