

**PERBANDINGAN EFEK PROTEKTIF EKSTRAK ETANOL,  
METANOL, dan N-HEKSANA KULIT BATANG BAKAU  
(*Rhizopora apiculata*) TERHADAP HISTOPATOLOGI  
PANKREAS TIKUS YANG TERPAPAR  
ASAP ROKOK**

Oleh

**SISY RIZKIA PUTRI**

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  
2021**

## ABSTRACT

### COMPARISON OF PROTECTIVE EFFECTS OF ETHANOL, METANOL, and N-HEXANE EXTRACT OF MANGROVE STERM BARK (*Rhizophora apiculata*) TOWARDS HISTOPATOLOGY OF RAT'S PANCREAS EXPOSED TO CIGARETTE

By

**Sisy Rizkia Putri**

**Background :** *Rhizophora apiculata* is a plant that has new potential as a medicinal ingredient which contains antioxidant.

**Metode :** The post test only group design was used in this study. Thirty rats were used and divided into 6 groups, where each group was given exposure to cigarette smoke 24 cigarettes/day for 30 days except the normal group. In the P1, P2 and P3 treatment groups, ethanol, methanol and n-hexane extracts were given each with a dose of 56.55 mg / kgBB and the negative group was given vitamin C at a dose of 9 mg / kgBB. After the treatment was finished, the histopathological of rats's pancreas exposed to cigarettes were read.

**Result :** The highest mean of inflammatory cell scoring was in the positive group who were not given extracts or vitamin C but exposed to cigarette smoke. The *Kruskal-Wallis* test obtained a p-value of 0.00. The *Post-Hoc Man-Whitney* test obtained a p-value <0.05 between the K (+) treatment groups with K (-) and P2, besides that the p-value >0.05.

**Conclusion :** The protective effect of the methanol extract of mangrove stem bark *Rhizophora apiculata* 56.55 mg/kgBB was as good as 9mg/kgBB of vitamin C on the histopathology of the rat's pancreas exposed to cigarette smoke. The ethanol and n-hexane extract of mangrove sterm bark *Rhizophora apiculata* did not have a protective effect on the histopathology of rat's pancreas exposed to cigarette smoke.

**Keyword :** cigarette smoke, pancreas, *Rhizophora apiculata*

## ABSTRAK

### PERBANDINGAN EFEK PROTEKTIF EKSTRAK ETANOL, METANOL, dan N-HEKSANA KULIT BATANG BAKAU (*Rhizopora apiculata*) TERHADAP HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS YANG TERPAPAR ASAP ROKOK

Oleh

**Sisy Rizkia Putri**

**Latar Belakang :** *Rhizopora apiculata* merupakan tanaman yang memiliki potensi baru sebagai bahan obat yang mengandung antioksidan.

**Metode :** Desain penelitian *post test only group design* digunakan pada penelitian ini. Tiga puluh tikus digunakan dan dibagi menjadi 6 kelompok, dimana masing-masing kelompok diberikan paparan asap rokok 24 batang/hari selama 30 hari kecuali kelompok normal. Pada kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 diberikan ekstrak etanol, metanol dan n-heksana dengan dosis masing-masing 56,55 mg/kgBB dan kelompok negatif diberikan vitamin C dengan dosis 9 mg/kgBB. Setelah perlakuan selesai diberikan, selanjutnya pembacaan preparat histopatologi pankreas tikus yang terpapar rokok dilakukan.

**Hasil :** Rerata skoring sel inflamasi tertinggi pada kelompok positif yang tidak diberikan ekstrak ataupun vitamin C tapi dipaparkan asap rokok. Uji *Kruskal-Wallis* mendapatkan *p-value* 0,00. Uji *Post Hoc Man-Whitney* mendapatkan *p-value* <0,05 antara kelompok perlakuan K(+) dengan K(-) dan P2, selain itu *p-value* >0,05.

**Kesimpulan :** Efek protektif ekstrak metanol kulit batang bakau *Rhizopora apiculata* 56,55 mg/kgBB sama baiknya dengan vitamin C 9 mg/kgBB terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok. Ekstrak etanol dan n-heksana kulit batang bakau *Rhizopora apiculata* tidak memiliki efek protektif terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok.

**Kata kunci :** asap rokok, pankreas, *Rhizopora apiculata*

Judul Skripsi

**PERBANDINGAN EFEK PROTEKTIF  
EKSTRAK ETANOL, METANOL, dan N-  
HEKSANA KULIT BATANG BAKAU  
(*Rhizopora apiculata*) TERHADAP  
HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS YANG  
TERPAPAR ASAP ROKOK**

Nama Mahasiswa

: Sisy Rizkia Putri

No. Pokok Mahasiswa

: 1758011031

Program Studi


: Pendidikan Dokter

Fakultas

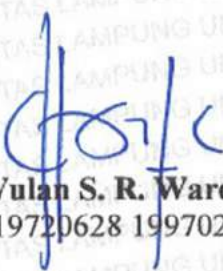
: Kedokteran

**MENYETUJUI  
Komisi Pembimbing**

  
**dr. Syazli Mustofa, M.Biomed**  
NIP 19830713 200812 1 003

  
**dr. Ari Wahyuni, Sp. An**  
NIP 19840610 20091 2 004

**MENGETAHUI  
Dekan Fakultas Kedokteran**

  
**Prof. Dr. Dyah Wulan S. R. Wardani, SKM., M.kes**  
NIP 19720628 199702 2 001



**MENGESAHKAN**

1. **Tim Penguji**

**Ketua : dr. Syazili Mustofa, M.Biomed**

**Sekretaris : dr. Ari Wahyuni Sp. An**

**Penguji  
Bukan Pembimbing : dr. Tendry Septa Sp. KJ(K)**

2. **Dekan Fakultas Kedokteran**

**Prof. Dr. Dyah Wulan S. R. Wardani. SKM., M.kes**

**NIP 19720628 199702 2 001**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi :**



## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **"PERBANDINGAN EFEK PROTEKTIF EKSTRAK ETANOL, METANOL, dan N-HEKSANA KULIT BATANG BAKAU (*Rhizopora apiculata*) TERHADAP HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS YANG TERPAPAR ASAP ROKOK"** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarism.
2. Hal interlektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

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

Bandar Lampung, 01 Juni 2021  
Pembuat Pernyataan



Sisy Rizkia Putri

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis merupakan putri dari pasangan Bapak Edy Pakar dan Ibu Lia Eliyani. Penulis dilahirkan di Metro, Provinsi Lampung pada tanggal 23 September 1999.

Penulis mengikuti pendidikan taman kanak-kanak (TK) selesai pada tahun 2005 di TK Pertiwi Teladan Metro, Sekolah Dasar (SD) selesai pada tahun 2011 di SD Negeri 1 Metro Pusat, Sekolah Menengah Pertama (SMP) selesai pada tahun 2014 di SMP Negeri 1 Metro Pusat, Sekolah Menengah Atas (SMA) selesai pada tahun 2017 di SMA Negeri 2 Bandar Lampung.

Pada tahun 2017, penulis melanjutkan jenjang pendidikan dan terdaftar sebagai mahasiswi fakultas kedokteran di Universitas Lampung melalui jalur Mandiri. Selama menjadi mahasiswi, penulis aktif dalam organisasi Forum Studi Islam (FSI) Ibnu Sina periode 2018/2019 sebagai anggota biro KKM.

Setumpuk halaman,  
untuk diriku,  
sebagai bukti,  
pembuka dan penutup satu lembaran hidup.

*Balas dendam terbaik adalah menjadikan dirimu lebih baik  
-Ali bin Abi Thalib*



## SANWACANA

Puji dan syukur sebesar-besarnya penulis panjatkan kepada Allah SWT atas kasih sayang, rahmat, dan karunia-Nya sehingga dengan izin Allah SWT penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Perbandingan Efek Protektif Ekstra Etanol, Metanol, dan N-Heksana Kulit Batang Bakau (*Rhizopora apiculata*) terhadap Histopatologi Pankreas Tikus yang Terpapar Asap Rokok.”

Dalam proses penulisan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bantuan, dukungan, masukan, motivasi, saran dan juga bimbingan dari banyak pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Karomani, M.Si, selaku Rektor Universitas Lampung
2. Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, SKM., M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung serta wakil dekan.
3. dr. Syazili Mustofa, M.Biomed selaku pembimbing 1, terimakasih banyak dokter telah memberikan banyak sekali bantuan, saran, kritik, dan motivasi untuk penulis dalam penulisan skripsi ini.
4. dr. Ari Wahyuni, Sp.An selaku pembimbing 2, terimakasih banyak dokter telah memberikan saran, kritik dan motivasi bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. dr. Tendry Septa, Sp. KJ(K) selaku penguji, terimakasih banyak dokter telah meluangkan waktunya dan bersedia membimbing, memberi saran dan kritik dalam penulisan skripsi ini.
6. Dr. dr. T.A Larasati, M.Kes selaku pembimbing akademik yang telah mendidik dan membimbing selama pendidikan sarjana ini.
7. Ayah dan ibu, yang selalu mendukung, sabar, telah berdoa memberikan restu dan kepercayaannya pada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
8. Verra Rachma, Detty Novianti, Siti Amalia, sahabat penulis yang benar-benar membantu, menemani, mendengar keluhan dan cerita penulis selama masa kuliah khususnya saat pengerjaan skripsi ini. Thank you guys you're the best.

9. Teman-teman sepenelitian Asa, Dansen, Yusha, Clara, Sisie, Mba anin. Terimakasih untuk kerja sama nya selama penelitian.
10. Anindita Putri, sahabat penulis sejak SD. I just want to say that eventhough you didn't contribute on these script, but you do gave me strength to keep my goals and help me when i am down. Thanks for talking to me and keeping me up.
11. Teman-temanku Cantika, Desti, Mail, Anti, Dzaki, Daniel, Kaka acha, Karin, Nabila, Syifa, Nabila Putri, Yolanda, Jessica, Alya, Chika, Ovi, Almira, Ama, Ajeng, Dian, Sekar, Citra, Eriska dan Yolanda K, Aufa, Shina yang telah menyemangati penulis.
12. Dosen-dosen serta staff dari Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Terimakasih kepada semua yang telah membantu dan memberikan semangat kepada penulis. Semoga Allah SWT membalas kebaikan yang telah diberikan. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan hal yang bermanfaat bagi pembacanya.

Bandar Lampung, 01 Juni 2021  
Penulis,

Sisy Rizkia Putri

## DAFTAR ISI

Halaman

<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti Lain.....	5
1.4.3 Manfaat Bagi Penulis.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Asap Rokok.....	6
2.1.1 Profil Perokok Indonesia.....	6
2.1.2 Pengertian Rokok.....	7
2.1.3 Jenis Rokok.....	7
2.1.4 Kandungan Rokok.....	8
2.1.5 Pengaruh Asap Rokok Terhadap Tubuh.....	9
2.2 Pankreas.....	11
2.2.1 Anatomi Pankreas.....	11
2.2.2 Fisiologis dan Histologi Pankreas.....	13
2.3 Stres Oksidatif.....	15
2.3.1 Definisi.....	15
2.3.2 Mekanisme Stres Oksidatif.....	15
2.4 Antioksidan.....	17
2.4.1 Definisi Antioksidan.....	17
2.4.2 Fungsi dan Mekanisme Antioksidan.....	18
2.4.3 Vitamin C sebagai Antioksidan.....	19
2.5 Bakau.....	20
2.5.1 Taksonomi.....	20
2.5.2 Bakau sebagai Antioksidan.....	21
2.6 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Galur Sprague Dawley.....	22
2.7 Kerangka Pemikiran.....	24
2.7.1 Kerangka Teori.....	24
2.7.2 Kerangka Konsep.....	25

2.8 Hipotesis Penelitian.....	25
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>27</b>
3.1 Desain Penelitian.....	27
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	27
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian.....	28
3.3.1 Populasi Penelitian.....	28
3.3.2 Sampel Penelitian.....	28
3.3.3 Kelompok Perlakuan.....	30
3.3.4 Kriteria Inklusi.....	31
3.3.5 Kriteria Eksklusi.....	31
3.4 Alat dan Bahan Penelitian.....	31
3.4.1 Alat Penelitian.....	31
3.4.1.1 Alat dalam Pembuatan Ekstrak.....	31
3.4.1.2 Alat selama Perlakuan.....	32
3.4.1.3 Alat dalam Pembuatan Preparat Histoptologi.....	32
3.4.2 Bahan Penelitian.....	33
3.4.2.1 Bahan dalam Pembuatan Ekstrak.....	33
3.4.2.2 Bahan selama Perlakuan.....	33
3.4.2.3 Bahan dalam Pembuatan Preparat Histopatologi.....	34
3.5 Identifikasi Variabel Penelitian.....	34
3.5.1 Variabel Independen.....	34
3.5.2 Variabel Dependen.....	34
3.5.3 Variabel Perantara.....	34
3.5.4 Definisi Operasional.....	35
3.6 Prosedur dan Alur Penelitian.....	36
3.6.1 Prosedur Penelitian.....	36
3.6.1.1 Aklimatisasi Hewan Coba.....	36
3.6.1.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Batang Bakau.....	36
3.6.1.3 Pemaparan Radikal Bebas oleh Asap Rokok.....	37
3.6.1.4 Terminasi Hewan Coba.....	38
3.6.1.5 Prosedur Pembuatan Preparat.....	39
3.6.1.6 Pewarnaan Hematoxyllin-Eosin.....	41
3.6.1.7 Skoring Gambaran Histopatologi Pankreas.....	42
3.6.2 Alur Penelitian.....	43
3.7 Analisis Data.....	44
3.8 Etik Penelitian.....	44
<b>BAB IV SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>46</b>
4.1 Gambaran Umum Penelitian.....	46
4.2 Hasil Analisis Penelitian.....	46

4.3 Analisis Bivariat.....	49
4.4 Hasil Uji Fitokimia.....	51
4.5 Gambaran Histopatologi Pankreas.....	52
4.6 Pembahasan.....	55
4.6.1 Rokok Menyebabkan Kerusakan Hepar.....	55
4.6.2 Efek Protektif Ketiga Ekstrak.....	57
4.6.3 Perbandingan Efek Protektif dengan Ketiga Ekstrak.....	58
4.6.4 Perbandingan Efek Protektif Vitamin C dan Ketiga Ekstrak...	59
4.7 Keterbatasan Penelitian.....	61
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>62</b>
5.1 Simpulan.....	62
5.2 Saran.....	63
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>64</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>70</b>



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b>	Pankreas.....	12
<b>Gambar 2.</b>	Sel Asinar pada Pankreas Orang Dewasa.....	14
<b>Gambar 3.</b>	Jaringan Pankreas dengan Asinar dan Sel Duktal.....	14
<b>Gambar 4.</b>	Morfologi Akar dan batang <i>Rhizopora apiculata</i> .....	21
<b>Gambar 5.</b>	Kerangka Teori.....	24
<b>Gambar 6.</b>	Kerangka Konsep.....	25
<b>Gambar 7.</b>	Alur Penelitian.....	43
<b>Gambar 8.</b>	Grafik Rerata Skoring Sel Inflamasi Pankreas.....	48
<b>Gambar 9.</b>	Gambaran preparat histopatologi KN.....	52
<b>Gambar 10.</b>	Gambaran preparat histopatologi K(+).....	53
<b>Gambar 11.</b>	Gambaran preparat histopatologi K(-).....	53
<b>Gambar 12.</b>	Gambaran preparat histopatologi P1.....	54
<b>Gambar 13.</b>	Gambaran preparat histopatologi P2.....	54
<b>Gambar 14.</b>	Gambaran preparat histopatologi P3.....	55

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b> Kelompok Perlakuan.....	30
<b>Tabel 2.</b> Definisi Operasional.....	35
<b>Tabel 3.</b> Hasil Rerata Skoring.....	47
<b>Tabel 4.</b> Hasil Uji Normalitas.....	49
<b>Tabel 5.</b> Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> .....	49
<b>Tabel 6.</b> Hasil Uji <i>Post-Hoc Man-Whitney</i> .....	50
<b>Tabel 7.</b> Hasil Uji Fotokimia.....	51

## DAFTAR ISTILAH

AP-1	: <i>Protein activator 1</i>
ASEAN	: <i>Association of South Asian Nations</i>
BNF	: <i>Buffer neutral formalin</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
DPPH	: <i>2,2-difenil-1-pikrilhidrazil</i>
MIPA	: Matematika dan ilmu pengetahuan alam
GPx	: <i>Glutathione peroxidase</i>
HO	: <i>Hydroxyl radical</i>
H&E	: <i>Hematoxyllin-Eosin</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
IPB	: Institut pertanian bogor
KN	: Kelompok normal
K(+)	: Kelompok positif
K(-)	: Kelompok negatif
LOO	: <i>Lipid peroxy</i>
MDA	: <i>Malondialdehid</i>
nACHRS	: <i>Nicotinic acetylcholine receptor</i>
NF-kB	: <i>Nuclear factor-kappaB</i>
O <sub>2</sub> -	: <i>Superoxide radical</i>
NaCl	: <i>Sodium chloride</i>
PAHs	: <i>Polycyclic aromatic hydrocarbons</i>
PUFA	: <i>Polyunsaturated fatty acid</i>
P1	: Perlakuan 1
P2	: Perlakuan 2
P3	: Perlakuan 3
RO	: <i>Alkoxy radical</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
RO <sub>2</sub>	: <i>Peroxy radical</i>
RS	: <i>Thyl radical</i>
SKM	: Sigaret kretek tangan
SGM	: Sigaret kretek mesin
SPSS	: Statistical package for the social sciences
SOD	: <i>Superoxide dismutase</i>
WHO	: <i>World health organization</i>
ZG	: <i>Zymogen</i>

## **BAB I PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Berdasarkan riset kesehatan dasar (Riskesdas) yang dilakukan tahun 2018 dilaporkan bahwa proporsi perokok usia >15 tahun di Indonesia masih menjadi prevalensi perokok tertinggi di dunia dengan perokok laki-laki sebesar 62,9% dan perempuan 4,8% (Kemenkes RI, 2018). Pada tahun 2019 *World Health Organization* (WHO) melaporkan bahwa rokok dapat menyebabkan kematian lebih dari 8 juta manusia, dimana 7 juta diantaranya merupakan perokok aktif dan sisanya merupakan perokok pasif (WHO, 2019).

Pada asap rokok terdapat banyak sekali komponen kimia yang terkandung didalamnya. Karbonmonoksida, tar dan nikotin merupakan salah satu komponen kimia yang membahayakan kesehatan dan juga dapat menimbulkan efek ketagihan pada pemakainya (CCOHS, 2011). Nikotin merupakan alkaloid golongan beracun aktif yang dapat meningkatkan tekanan darah, denyut jantung, merusak pembuluh darah serta meningkatkan risiko pankreatitis. (Benowitz & Burbank, 2016). Selain itu asap rokok juga dapat meningkatkan risiko kanker pankreas yang disebabkan oleh stres oksidatif (Kadiyala, et al 2013).

Stres oksidatif dapat disebabkan karena ketidakseimbangan antara peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) dan aktivitas rendah dari mekanisme antioksidan dalam tubuh (Preiser, 2012). Ketika ROS ataupun radikal bebas masuk ke dalam tubuh, sistem tubuh akan mengeluarkan antioksidan baik antioksidan endogen ataupun eksogen. Jika tubuh manusia terpapar antioksidan dengan konsentrasi tinggi, antioksidan endogen tidak akan cukup untuk melawan radikal bebas. Maka diperlukan antioksidan eksogen tambahan yang dapat berasal dari makanan, obat-obatan ataupun suplemen makanan (Francenia dkk, 2019).

Antioksidan memiliki peran fisiologis dalam tubuh meskipun konsentrasinya kecil, merupakan substansi yang dapat mencegah kerusakan sel dengan mengatur kadar radikal bebas dan menyeimbangkan kelangsungan hidup sel (Kumar, 2011). Antioksidan adalah substansi natural atau buatan manusia yang dapat mencegah atau menunda beberapa tipe dari kerusakan sel, juga dapat melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Antioksidan dapat ditemukan pada makanan, obat herbal tradisional, maupun tumbuhan (Yadav dkk, 2016).

Indonesia memiliki tanaman *mangrove* terluas di dunia dengan perkiraan luas sekitar 3 juta hektar. Mangrove dapat hidup di teluk berlindung, pantai berlumpur, delta, ataupun pulau-pulau kecil (Giri et.al, 2011)(Rahadian, dkk 2019). Salah satu tumbuhan *mangrove* yaitu *Rhizophora apiculata* atau bakau minyak dapat dibidang menjadi spesies penting dan menjadi dominasi pada



ekosistem hutan bakau yang merupakan salah satu spesies dari famili *Rhizophoroceae* (Yulia & Leilani, 2019).

*Rhizopora apiculata* sudah banyak diteliti mengenai efek proteksinya. Seperti pada penelitian oleh Caserio dkk (2019) ekstrak kulit batang bakau memiliki efek proteksi terhadap gambaran histopatologi dan penerunan kadar *malondialdehid* (MDA) pada tikus yang dipapar asap rokok. *Rhizopora apiculata* juga memiliki efek proteksi terhadap arteri koronaria pada tikus yang dipapar asap rokok yang dijelaskan pada penelitian yang dilakukan Mustofa dkk (2019). Pada penelitian lain oleh Mustofa dan Hanif (2019) didapat bahwa *Rhizopora apiculata* juga memiliki efek pencegahan terhadap penurunan jumlah rerata spermatosit primer tikus dengan dosis efektif 113,1 mg/KgBB. Ekstrak etanol *Rhizopora apiculata* memiliki efek protektif terhadap histopatologi hepar tikus (Mustofa dan Anisya, 2020). *Rhizopora apiculata* juga memiliki senyawa utama seperti tanin (Berawi dan Marini, 2018). *Rhizopora apiculata* memiliki penangkap radikal bebas terutama pada bagian batangnya, artinya *Rhizopora apiculata* memiliki efek antioksidan pada tubuh. Dibuktikan dengan penelitian tahun 2019 oleh Mustofa dan Bahagia, didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizopora apiculata*) memiliki potensi untuk melindungi kerusakan dari sel pankreas tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur sorague dawley dari paparan asap rokok dengan dosis 56,55 mg/kgBB (Mustofa & Bahagia, 2019).

Penelitian-penelitian diatas inilah yang saya jadikan landasan untuk penelitian saya, yaitu untuk mengetahui efek protektif yang lebih baik antara ekstrak metanol, etanol dan n-heksana kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) pada histopatologi pankreas tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dari paparan asap rokok.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas didapatkan rumusan masalah yaitu :

- a. Apakah ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) memberikan efek protektif terhadap gambaran histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok?
- b. Apakah terdapat perbandingan efek protektif ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana dari kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) terhadap gambaran histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok?
- c. Apakah terdapat perbandingan efek protektif ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) serta vitamin C terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki tiga tujuan, yaitu :

- a. Mengetahui efek protektif ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau *Rhizophora apiculata* terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok.

- b. Mengetahui perbandingan efek protektif ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau *Rhizophora apiculata* terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok.
- c. Mengetahui perbandingan efek protektif ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau *Rhizophora apiculata* dan vitamin C terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Teoritis**

Bagi ilmu pengetahuan, penelitian ini memberikan pengetahuan untuk mengetahui efek protektif yang lebih baik antara ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*).

### **1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti Lain**

Dapat digunakan sebagai bahan acuan untuk mengembangkan pengetahuan mengenai manfaat ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) terhadap kesehatan dan pengobatan (*agromedicine*).

### **1.4.3 Manfaat Bagi Penulis**

Sebagai pengalaman sekaligus sarana pembelajaran dan menambah wawasan mengenai ilmu biomedik dan pengembangan obat (*agromedicine*).

## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Rokok**

#### **2.1.1 Profil Perokok Indonesia**

Negara Asia Tenggara merupakan rumah dimana 10% populasi perokok dunia tinggal. Satu dari lima penduduk ASEAN merupakan perokok. Indonesia merupakan Negara dimana banyak perusahaan memproduksi rokoknya. Tahun 2016 didapatkan adanya 196.154.000 produksi rokok. Indonesia juga merupakan Negara yang peringkat penduduk merokoknya paling tinggi di ASEAN dengan prevalensi sebesar 36.3% atau setara dengan 65.188.338 penduduk (SEATCA, 2018).

Negara Indonesia juga mengalami masalah dengan rokok. Didapatkan pada tahun 2014 sebanyak 41% dari total remaja Indonesia merokok dengan umur berkisar antar 13 sampai 15 tahun. Pada perokok remaja, presentase perempuan lebih banyak (32,5%) dari laki-laki dengan presentase 18,2%. Rokok dapat menimbulkan banyak masalah, selain tidak baik bagi tubuh, sosial dan ekonomi masyarakat pun dapat terpengaruh. Didapatkan fakta bahwa diantara keluarga dengan ekonomi rendah, rumah tangga dengan ayah yang perokok akan lebih besar

risikonya untuk susah memenuhi kebutuhan makannya karena pembelian rokok (SEATCA, 2018).

### **2.1.2 Pengertian Rokok**

Rokok adalah kertas berbentuk silinder berukuran 70 hingga 120 mm dengan diameter sekitar 1 cm yang berisi daun tembakau yang telah dicacah (Ambarwati, 2014). Menurut peraturan daerah kota Tangerang Selatan No 4 tahun 2016 tentang pedoman pelaksanaan kawasan tanpa rokok, rokok merupakan salah satu produk tembakau yang terbungkus, dikonsumsi dengan dibakar, dihisap, atau dihirup contohnya adalah cerutu, rokok putih, atau rokok kretek. Dihasilkan dari tanaman *Nicotina tabacum*, *Nicotina rustica* atau spesies lainnya yang asapnya mengandung nikotin dan tar, dengan atau tanpa bahan tambahan (PERDA, 2016).

### **2.1.3 Jenis Rokok**

Jenis rokok dapat diklasifikasikan berdasarkan bahan penbungkusnya yaitu rokok kretek dan rokok putih. Terdapat perbedaan pada rokok kretek dan rokok putih. Rokok kretek diproduksi dengan manual menggunakan tangan ataupun mesin. Rokok jenis ini berbahan dasar tembakau dengan kuncup cengkeh. Dua jenis rokok kretek yaitu sigaret kretek tangan (SKM) dan sigaret kretek mesin (SGM). Pada jenis SKM terdapat rokok mild yang menggunakan filter ataupun tidak



menggunakan filter. Disisi lain, rokok putih tidak menambahkan cengkeh pada komposisinya (Suprihanti dkk, 2018).

#### **2.1.4 Kandungan Rokok**

Menurut Kemenkes RI 2017 terdapat berbagai racun yang ada di rokok, diantaranya:

1. Asam Asetik, merupakan zat yang ada pada pembersih lantai.
2. Naptalin, merupakan zat beracun yang ada pada bola-bola pewangi pakaian.
3. Asentanisol, merupakan zat yang terkandung pada parfum.
4. Hydrogen sianida, terkandung pada racun tikus.
5. Aseton, terdapat pada cairan penghilang kuteks
6. Kadmium, zat yang terkandung pada baterai
7. Genarol, merupakan zat aktif pada pestisida.
8. Formalin, merupakan zat yang biasa digunakan sebagai pengawet jenazah, serangga, dll.
9. Urea, merupakan zat yang terdapat pada air seni, berguna untuk tinta, cat, pupuk, dan masih banyak lagi (Kemenkes RI, 2017).

Rokok dapat menyebabkan bahaya bagi yang mengkonsumsinya, karena rokok mengandung zat adiktif yang berbahaya. Terdapat juga 400 macam bahan kimia toksik seperti nikotin, tar, notrosamin, karbonmonoksida, furan, karbonil, maupun klorin dioksin dalam rokok (Nururrahmah, 2014). Nikotin pada asap rokok dapat merugulasi *lipid*

*peroxidation* dan stress oksidatif. Juga berperan pada peningkatan protein ekspresi dari pankreatitis dan penyakit pankreas lainnya (Paulo, et al 2013).

### **2.1.5 Pengaruh Asap Rokok Terhadap Tubuh**

Terdapat tiga komponen toksik utama asap rokok yaitu nikotin, tar, dan karbonmonoksida.

#### **a. Nikotin**

Nikotin berperan sebagai alkaloid utama daun tembakau yang aktif. Alkaloid pada nikotin dimasukkan kedalam golongan beracun aktif, tersusun dari unsur karbon, hydrogen, nitrogen bersifat tidak berminyak dan berwarna (Aji dkk, 2015). Nikotin menyebabkan pemakainya ketergantungan dan ketagihan diakibatkan pelepasan glutamat yang dirangsang oleh nikotin. Glutamat ini yang akan meningkatkan pelepasan dopamin sehingga memberikan perokok rasa senang yang akan diingat sehingga perokok menjadi ketergantungan rokok (Alva, 2016).

#### **b. Tar**

Tar berbentuk partikel halus di udara yang merupakan senyawa kimia baik organik ataupun anorganik. Bersifat mutagenik yaitu menyebabkan mutasi genetik dan karsinogenik atau menyebabkan kanker. *Polycyclic aromatic hydrocarbons* atau PAHs merupakan zat karsinogenik tar dalam rokok. Tar dapat membuat jari, kuku, dan gigi orang yang menghisap rokok menjadi kuning kecoklatan. Paru-paru

perokok akan berhenti bekerja akibat masuknya tar ke dalam tubuh dikarenakan tar akan membalur sel silia paru sehingga silia tidak lagi dapat merangkap partikel racun dan dapat masuk langsung ke alveoli sehingga dapat terjadi mutasi DNA sel yang menyebabkan kanker (Scollo & Winstanley, 2018).

c. Karbonmonoksida

Karbonmonoksida atau CO yang terdapat pada asap rokok akan sangat berbahaya pada tubuh manusia. Karbonmonoksida akan mengikat hemoglobin yang mengakibatkan oksigen yang berikatan dengan hemoglobin akan berkurang dan sel-sel tubuh akan gagal melakukan fungsi metabolismenya. Karbonmonoksida ini juga akan menyebabkan respirasi interseluler tidak efektif dan juga mengakibatkan keracunan sel sehingga bisa terjadi gangguan pada sistem saraf manusia (Basri, dkk 2017).

Asap rokok juga banyak mempengaruhi sel atau organ tubuh lainnya. Asap rokok kretek dapat menurunkan kualitas spermatozoa mencit meliputi morfologi, konsentrasi dan motilitasnya (Immanuel, 2013). Asap rokok juga dapat menimbulkan penyakit jantung dikarenakan gas karbonmonoksida dan nikotin dapat membentuk sel busa yang menandakan adanya lesi pada aterosklerosis jantung (Lapatta dkk, 2013). Menurut WHO 2019, berbagai macam kanker, asma, penyakit paru obstruktif kronis, tuberkulosis, diabetes tipe 2, demensia, kelainan

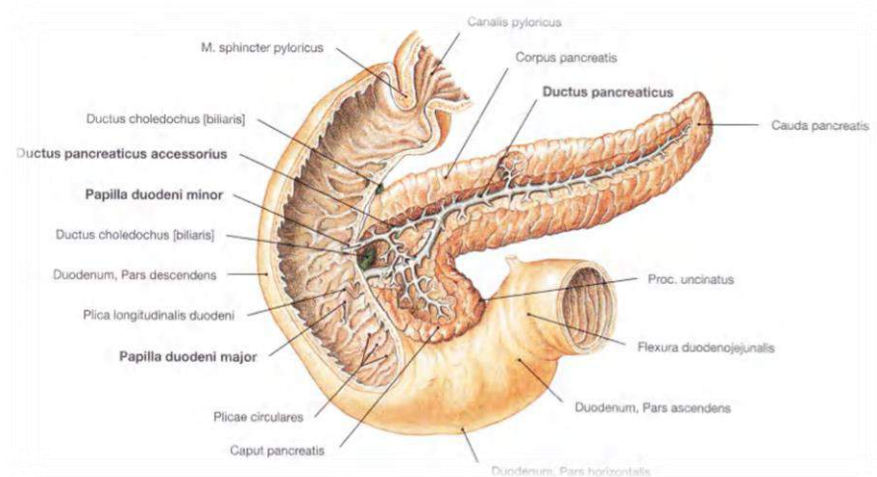
kelahiran, kehilangan pendengaran, penyakit saluran cerna juga dapat terjadi akibat konsumsi rokok (WHO, 2019).

Disfungsi, peningkatan apoptosis, dan kehilangan sel beta pankreas dapat terjadi akibat paparan zat rokok yaitu nikotin. Nikotin mempengaruhi sekresi insulin melalui *nicotinic acetylcholine receptor* (nAChRs) pada sel beta pankreas, hal ini diindikasikan dari adanya hambatan pelepasan insulin yang berarti nikotin secara negatif mempengaruhi sel beta pankreas karena reseptor-reseptor nikotonik ada di pulau-pulau pankreas (Dwi, 2014). Selain itu kandungan nikotin pada asap rokok dapat menginduksi stress oksidatif yang dapat dihubungkan dengan inflamasi dan peningkatan sekresi IL-6 pada pankreas sehingga dapat menyebabkan pankreatitis akut ataupun kronis (Edderkaoui dan Thrower, 2015).

## **2.2 Pankreas**

### **2.2.1 Anatomi Pankreas**

Organ pankreas memanjang dari duodenum ke limpa di abdomen atas setinggi lumbal ke dua. Memiliki empat bagian kepala, leher, badan, dan ekor. Bagian kepala pankreas dikelilingi oleh duodenum. Saluran empedu umum melintasi kepala pankreas dan bergabung dengan saluran pankreas di ampula vater untuk mengosongkan saluran empedu atau bagian bawah dari duodenum. Ekor pankreas terletak di ligamen splenorenal dan tertutup peritoneum, karena itu pankreas pada orang dewasa dimasukkan dalam kategori retroperitoneal (Eliete dkk, 2012).



**Gambar 1.** Pankreas (Paulsen & Waschke, 2010).

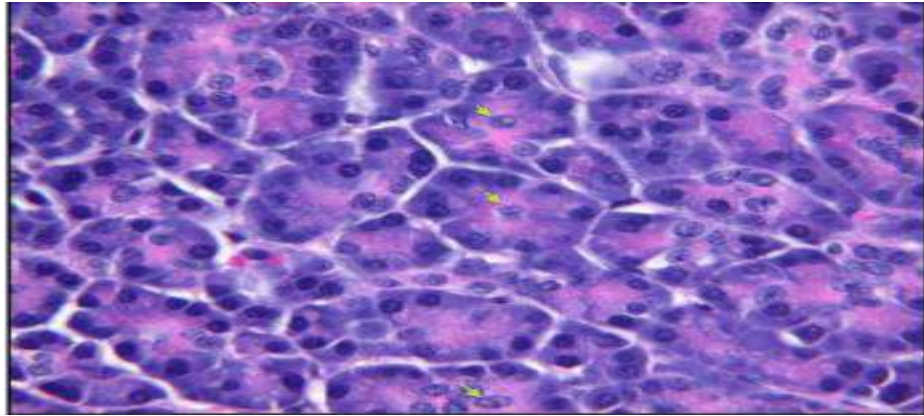
Pankreas memiliki permukaan anterior dan posterior. Kedua permukaan ini dibatasi oleh batas atas yaitu *facies anterior* dan *facies posterior*. Sedangkan dengan batasan bawah yang timbul permukaannya dipisahkan *margo superior* dan *margo inferior*. Pankreas anterior ditutupi peritoneum parietale dan membentuk posterior bursa omentalis. Pankreas memiliki dua sistem arterial yang terpisah, diperkenankan untuk kaput pankreatik dan korpus pankreatik (Paulsen & Waschke, 2010).

Suplai darah pankreas berasal dari arteri pankreatikoduodenal superior dan inferior. Pembuluh darah tersebut berkit dari gastroduodenal yang berasal dari arteri celiac dan arteri superior mesentrika. Arteri splenik memberikan tiga cabang arteri pada pankreas, yaitu arteri dorsal pankreatik, arteri pankreatik magna di badan pankreas dan arteri kaudal pankreatik pada ekor pankreas (Eliete dkk, 2012).

### 2.2.2 Fisiologis dan Histologi Pankreas

Pankreas merupakan kelenjar memanjang dekat lambung. Kelenjar ini mengandung jaringan eksokrin dan endokrin. Kelenjar eksokrin terdiri dari sel sekrotik disebut asinus yang berhubungan dengan duktus yang akhirnya bermuara di duodenum, sedangkan endokrin terdiri dari pulau-pulau jaringan edokrin terisolasi dan pulau langerhans. Insulin dan glukogon merupakan hormon penting yang disekresikan sel pulau pankreas (Sherwood, 2011).

Terdapat 2 tipe sel kelenjar eksokrin, yaitu sel asinar dan sel duktal. Sel asinar memiliki ribosom bebas, retikulum endoplasmis kasar dan mitokondria yang berlimpah. Konfigurasi ini yang membuat sel asinar pankreas dapat membuat atau memproduksi granula yang disebut zymogen (ZG). Prekursor ZG protease termasuk didalamnya adalah enzim tripsinogen, kimotripsinogen dan prokarboksipeptidase yang akan membentuk *pancreatic juice* jika tercampur dengan NaCl. Enzim-enzim tersebut akan aktif lalu masuk ke duodenum berfungsi untuk mencegah autodigesti pankreas yang berpotensi menyebabkan pankreatitis (Longnecker, 2014).



**Gambar 2.** Sel Asinar pada pankreas orang dewasa (Daniel, 2014).



**Gambar 3.** Jaringan pankreas dengan asinar dan sel duktal (Daniel, 2014).

Kelenjar endokrin pada pankreas lebih kecil porsinya dari pada kelenjar asinus. Pulau Langerhans merupakan bagian endokrin yang tampak bulat dengan selnya terpendam didalam jaringan eksokrin. Pulau-pulau Langerhans ini tersebar menyeluruh pada pankreas. Biasanya terdapat lebih banyak pada ekor dari pada kepala dan badan pankreas. Pada pulau Langerhans tersebar sel beta yang memproduksi insulin, sel delta memproduksi somatostatin dan sel polipeptida pankreas yang memproduksi polipeptida pankreatik (Kim, dkk 2012).

## 2.3 Stres Oksidatif

### 2.3.1 Definisi

Stres oksidatif juga diartikan sebagai keadaan dimana oksidasi melebihi kapasitas sistem antioksidan dalam tubuh akibat kehilangan keseimbangan antara mereka. Stres oksidatif dapat menyebabkan banyak bahaya seperti preoksidasi lipid, kerusakan DNA, ataupun merusak transduksi sinyal interseluler. Disregulasi dari stres oksidatif juga dapat dikaitkan dengan banyak kondisi patologis ataupun fisiologis. Dalam beberapa kasus pemakaian suplemen atau diet antioksidan untuk mencegah stres oksidatif malah dapat merugikan, berhubungan dengan inhibisi dari peran fisiologis dari ROS (Preiser, 2012).

Peningkatan stres oksidatif ditemukan pada orang yang mengonsumsi alkohol, obesitas, merokok, dan sering terpapar polusi udara. Peningkatan stres oksidatif akibat penipisan stok oksidan dalam tubuh dapat mengakibatkan kanker, penyakit jantung, percepatan penuaan, dan penyakit *neurodegenerative*. Stres oksidatif juga dapat menyebabkan gangguan lain seperti gangguan homeostasis ion, integrasi membrane ataupun nekrosis jaringan (Handajani, 2019).

### 2.3.2 Mekanisme Stres Oksidatif

Stres oksidatif disebabkan oleh *reactive oxygen species* (ROS) yang merupakan bentuk aktif dari oksigen. Kadar ROS yang berkonsentrasi rendah atau normal sangat yang diperlukan sel untuk bermetabolisme,



tapi pada konsentrasi yang tinggi ROS dapat menyebabkan stres oksidatif (Beirben dkk, 2012).

Partikel ROS merupakan produk yang dihasilkan dari metabolisme seluler. Partikel ROS memiliki peran penting di berbagai proses biologis seperti *oxidative burst reaction* pada proses fagositosis, dan *cell signaling pathways*. ROS termasuk di dalamnya adalah *Hydroxyl radical* (HO), *Superoxide radical* ( $O_2^-$ ), *Peroxy radical* ( $RO_2$ ), *Thyl radical* (RS), *Alkoxy radical* (RO), *Lipid peroxy* (LOO) (Nahar dkk, 2017). Diantara ROS yang sudah disebutkan, diantaranya terdapat elektron yang tidak berpasangan dan itulah yang dimaksudkan dengan radikal bebas. Elektron yang tidak berpasangan ini mengacu pada elektron yang menempati atom atau orbital molekulnya sendiri (Li dkk, 2016).

Radikal bebas sangat reaktif dalam tubuh untuk melepaskan elektron dari atom lain atau mendonasikan elektronnya ke atom lain. Sekitar 1% sampai 3% elektron bereaksi dengan oksigen sebelum waktunya dan membentuk radikal superoksida. Radikal bebas yang membentuk superoksida dan oksida nitrat membantu proses fagositosis oleh makrofag dan menghancurkan sel bakteri. Radikal bebas ini juga dapat dianggap sebagai antibiotik nonselektif, dapat melukai sel jaringan di sekitar bakteri yang menginfeksi tubuh dan mendorong pembelahan mitosis dari fibroblast sehingga jaringan parut terbentuk (Apollo F, 2016).

Radikal bebas dapat menyebabkan destruksi polyunsaturated fatty acid (PUFA) pada membran sel yang disebut dengan proses peroksidasi lipid dan juga berpotensi merusak rantai DNA. Kerusakan DNA dan aktivasi dari ROS ke AP-1 dan NF- $\kappa$ B menjadikan transduksi sinyal mengarah ke transkripsi gen yang terlibat pada regulasi sel pertumbuhan dan menginisiasi kondisi kanker (Nimse SB, 2015). Selain itu radikal bebas yang berada di sel imun tubuh dapat merusak jaringan dikarenakan fungsinya yang juga dapat menyebabkan inflamasi sel (Francenia dkk, 2019).

## **2.4 Antioksidan**

### **2.4.1 Definisi Antioksidan**

Antioksidan didefinisikan sebagai molekul yang berfungsi sebagai pencegah atau memperlambat oksidasi dari mikromolekul, juga berfungsi menurunkan dan menghilangkan reaksi rantai dengan menghapuskan radikal bebas dengan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa oksidan untuk menghambat aktivitas oksidan tersebut. Antioksidan baik eksogen ataupun endogen berfungsi sebagai substansi yang menghilangkan radikal bebas pada sistem biologis manusia. Antioksidan akan mengontrol kerusakan dan menginaktivasi ROS (Winarsi H, 2011).

Antioksidan juga dimiliki tubuh sebagai sistem biologis, dimana mekanisme antioksidan ini akan mengontrol kerusakan enzimatik

maupun nonenzimatik lalu ROS akan menjadi tidak aktif. Antioksidan endogen merupakan antioksidan yang dibentuk tubuh. Antioksidan endogen termasuk didalamnya *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT) dan bilirubin serta albumin sebagai komponen non enzimatik. Ketika organisme terpapar konsentrasi ROS yang tinggi maka sistem antioksidan endogenus akan terganggu lalu gagal melindungi sel atau organisme yang dilindungi. Maka dari itu muncullah antioksidan eksogen yang termasuk di dalamnya adalah makanan, obat-obatan, ataupun suplemen nutrisi (Francenia dkk, 2019).

#### **2.4.2 Fungsi dan Mekanisme Antioksidan**

Pertahanan oleh antioksidan dapat bersifat enzimatik ataupun non enzimatik. Pada sistem enzimatik primer terdapat enzim antioksidan seperti *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), *glutathione peroxidase* (GPx). Enzim SOD merupakan enzim detoksifikasi terkuat dan paling penting di dalam sel. Enzim CAT dengan besi atau manganese berperan sebagai kofaktor dan mengkatalisasi degradasi maupun reduksi dari hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) yang bergenerasi ketika asam lemak dioksidasi, untuk memproduksi air dan oksigen molekular dimana proses detoksifikasi ini di inisiasi oleh SOD. Enzim GPx berperan penting untuk menghancurkan  $H_2O_2$  di air dan peroksida lipid yang biasanya terjadi di mitokondria yang nantinya akan menghalangi proses peroksidasi lipid dan memproteksi sel dari stres oksidatif (Moron Um dkk, 2012)

Rangkaian senyawa antioksidan yang bersifat nonenzimatik misalnya: vitamin E, vitamin C, ferritin, selenium, zink, manganese, melatonin, bilirubin ataupun flavonoid. Pada sistem antioksidan nonenzimatik, sistem ini menangkap radikal bebas dengan membuat radikal menghindari dan mentiadakan reaksi inisiasinya. Sistem ini juga menetralkan radikal bebas dengan memberikan elektron, dan pada prosesnya antioksidan akan menjadi radikal bebas, tapi radikal bebas ini akan berkurang sifat reaktifnya dibandingkan radikal bebas yang belum diikat (Francenia dkk, 2019).

#### **2.4.3 Vitamin C Sebagai Antioksidan**

Pada penelitian ini vitamin C digunakan sebagai kontrol negatif dikarenakan merupakan vitamin yang paling umum dikonsumsi. Vitamin C atau disebut juga asam askorbat merupakan salah satu vitamin yang bersifat larut dalam air. Vitamin C memiliki fungsi antioksidan dimana cara kerjanya vitamin ini akan menetralkan stres oksidatif melalui proses donasi atau transfer elektron tidak seperti vitamin lainnya seperti vitamin E, dimana vitamin E malah akan menangkap radikal bebas sehingga vitamin E masih akan membutuhkan vitamin C untuk kerja lanjutannya. Transfer elektron vitamin C ini yang akan mencegah senyawa lainnya yang sedang teroksidasi dan memulung anion superoksida, dan lipid hidroperoksida sehingga dapat mencegah peroksidasi lipid yang disebabkan oleh akumulasi ROS (Junian C dkk, 2020)(Popovic dkk, 2015).

Vitamin C juga berfungsi sebagai antioksidan yang membantu memproteksi tubuh dari infeksi dan absorpsi besi. Selain itu vitamin C merupakan salah satu agen pereduksi ampuh radikal bebas dalam sistem biologis tubuh manusia. Fungsi lain vitamin C adalah membantu proses pertumbuhan, pemrograman kematian sel, respon patogen, respon hormon dan proteksi terhadap stres lingkungan (Fadime E, 2017).

## 2.5 Bakau

### 2.5.1 Taksonomi

Lebih dari 60% Indonesia merupakan wilayah perairan. Hutan bakau atau hutan mangrove merupakan salah satu contoh tanaman yang banyak terdapat di wilayah perairan pantai Indonesia. Hutan bakau memiliki fungsi seperti penghalang erosi, ombak maupun angin besar (Yulia W & Leilani I, 2019). Adapun klasifikasi bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Filum : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Magnoliopsida

Subordo : Rizophoraes

Familia : Rhizophora

Genus : Rattus

Spesies : *Rhizophora apiculata* (Selvaraj G & Kaliamurthi S, 2015).



**Gambar 4.** Morfologi akar (kiri) dan Morfologi batang (kanan) *Rhizophora apiculata* (Atok M dkk, 2016).

Tanaman ini memiliki tinggi rata-rata mencapai 15 meter dan memiliki perawakan pohon. Tangkai daun memiliki panjang sekitar 10-50 cm. Daunnya panjang melonjong, tepinya rata dan ujung daunnya meruncing dan berduri. Batangnya merupakan tipe kayu keras, diameternya dapat mencapai 50 cm pada batang tua serta kulit kayu berwarna abu-abu tua. Lumpur agak keras, dangkal dan tergenang air pasang harian merupakan habitat tumbuh yang disukai *Rhizophora apiculata* (Atok dkk, 2016).

### 2.5.2 Bakau Sebagai Antioksidan

Bakau memiliki zat biokatif disetiap bagian tubuh tumbuhannya. Pada batang ditemukan bahwa tannin adalah zat biokatif utamanya. Hasil uji ekstrak bakau dengan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dan 2,2-azinobis 3-etil bezotiazolin 6-asam sulfonat (ABTS) menunjukkan bahwa batang merupakan bagian yang paling berpotensi untuk digunakan sebagai antioksidan (Abdullah, 2011).

Tanin selain berperan sebagai antioksidan primer dimana tannin akan mendonorkan atom hidrogennya atau elektronnya pada radikal bebas, juga bekerja dengan menstabilkan fraksi lipid dan aktif dalam menghambat proses lipoksinase. Tanin secara umum memiliki gugus fenol dan bersifat koloid. Semua jenis tanin larut dalam air, dan kelarutannya meningkat bila dilarutkan kedalam air panas atau zat lain seperti etanol. Tanin, warnanya akan menjadi gelap apabila terkena cahaya atau dibiarkan di kelas terbuka. Tanin juga dapat terurai pada suhu 98,8<sup>0</sup>C dan ikatan kimianya dapat terjadi antara tanin-protein atau lainnya yang berasal dari ikatan *hydrogen*, ionik, atau lainnya (Sujarnoko, 2012)(Romdanu et al, 2014).

## **2.6 Tikus Putih Galur Sprague Dawley**

Diperkirakan bahwa 90-95% hewan yang digunakan dalam suatu percobaan ilmiah adalah tikus dan mencit. Tikus dan mencit sering digunakan karena fisiologi dan genetiknya yang mirip dengan manusia. Pada penelitian dipilih tikus putih *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* sebagai hewan percobaan dikarenakan penanganannya yang lebih mudah atau jinak. Selain itu pada penelitian-penelitian biomedis seperti uji toksikologi ataupun uji efektifitas tikus jenis ini adalah tikus yang paling banyak digunakan (Kemenkes RI, 2016).

Adapun klasifikasi tikus putih *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* sebagai berikut :

Kingdom : *Animalia*

Filum : *Chordata*

Subfilum : *Vertebrata*

Kelas : *Mammalia*

Orda : *Rodentia*

Famili : *Muridae*

Genus : *Rattus*

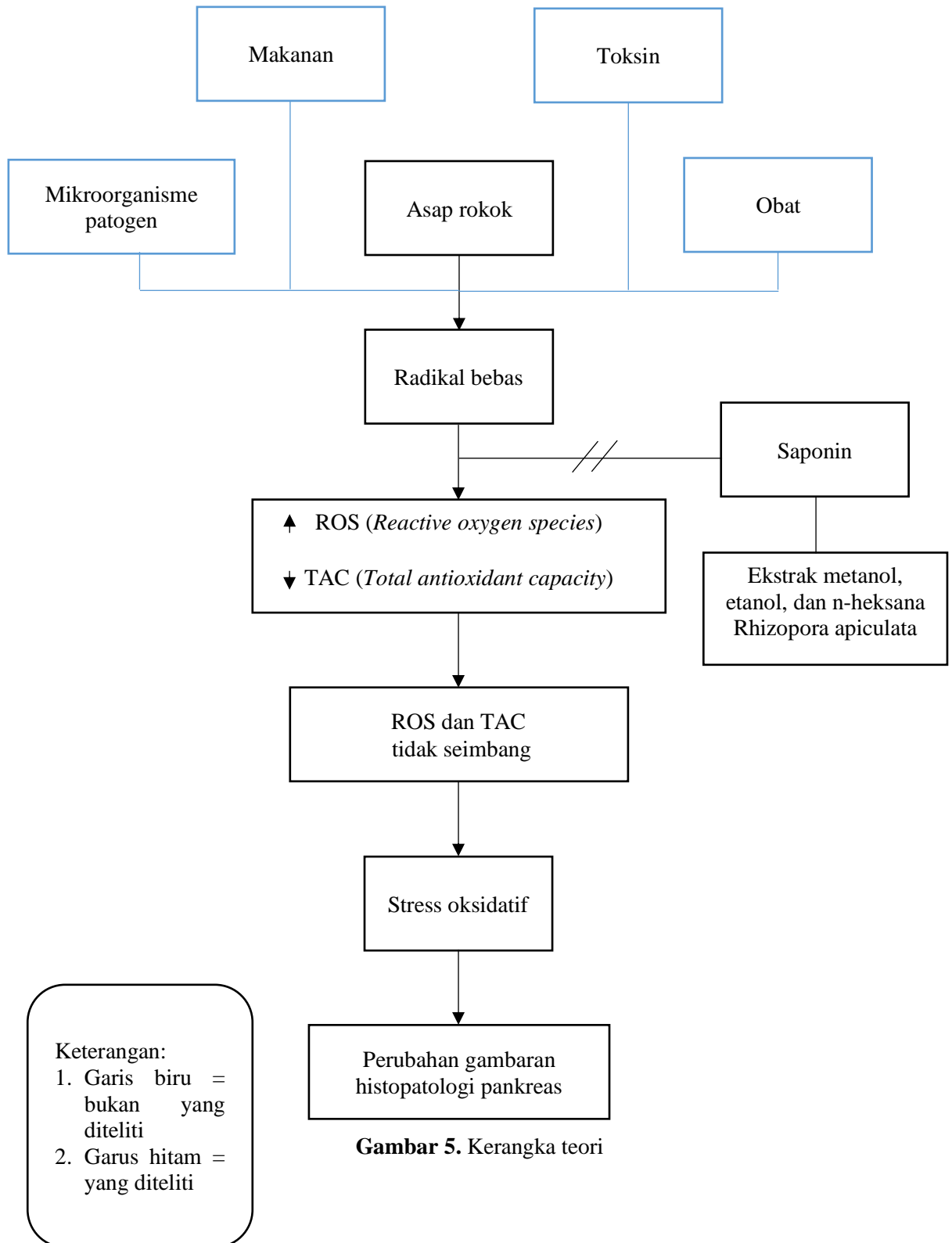
Species : *Rattus norvegicus* (Wolfenshon dan Lloyd, 2013).

Tikus putih *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* memiliki sifat dan morfologi dengan berat lahir 5-6 gram, yang akan tumbuh dewasa dengan berat jantan 300-500 gram dan betina 250-300 gram. Selain itu tikus jenis ini memiliki suhu tubuh normal yaitu 37.5<sup>0</sup>C. Tikus betina *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* memiliki lama kehamilan 21-23 hari dengan jumlah anak 9-20 ekor. Selain itu tikus jenis ini lebih aktif pada malam hari atau nokturnal (Otto dkk, 2015)



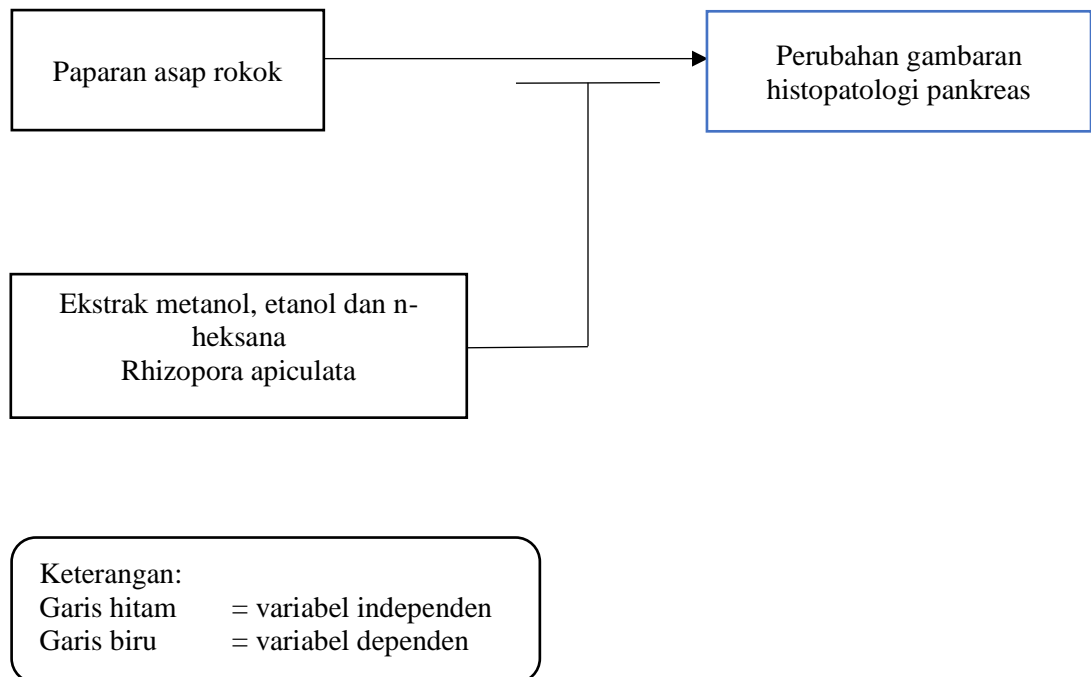
## 2.7 Kerangka Pemikiran

### 2.7.1 Kerangka Teori



**Gambar 5.** Kerangka teori

### 2.7.2 Kerangka Konsep



**Gambar 6.** Kerangka konsep

### 2.8 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan tinjauan pustaka yang telah diuraikan maka hipotesis penelitian ini sebagai berikut :

a.  $H_0$  = Tidak terdapat efek protektif ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau *Rhizopora apiculata* terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok.

$H_1$  = Terdapat efek protektif ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau *Rhizopora apiculata* terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok.

b. H<sub>0</sub> = Tidak terdapat perbandingan efek protektif ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau *Rhizophora apiculata* terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok.

H<sub>1</sub> = Terdapat perbandingan efek protektif ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau *Rhizophora apiculata* terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok.

c. H<sub>0</sub> = Tidak terdapat perbandingan efek protektif ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau *Rhizophora apiculata* dan vitamin C terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok.

H<sub>1</sub> = Terdapat perbandingan efek protektif ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau *Rhizophora apiculata* dan vitamin C terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok.

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Desain Penelitian**

Pada penelitian ini digunakan jenis penelitian eksperimental dan dipilih desain penelitian *post test only control group design*, dengan dua kelompok yaitu kelompok kontrol yang artinya kelompok tidak diberikan perlakuan dan kelompok eksperimen yang artinya kelompok yang diberi perlakuan. Setelah perlakuan pada penelitian ini selesai, akan dilakukan pengukuran terhadap kedua kelompok dan dibandingkan hasilnya. Pada jenis penelitian ini kelompok kontrol dan kelompok eksperimen dianggap sama sebelum diberi perlakuan.

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

Tempat penelitian adalah *animal house* di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang sekaligus menjadi tempat tinggal sampel penelitian, pembuatan preparat histopatologi di laboratorium patologi anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, dan pembuatan ekstrak bakau di laboratorium kimia Fakultas MIPA Unila. Penelitian ini dilaksanakan selama 30 hari yang akan dimulai dari Februari sampai April 2021.

### 3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.3.1 Populasi Penelitian

Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diperoleh dari Institut Pertanian Bogor (IPB). Tikus berumur 2 sampai 3 bulan dengan berat sekitar 150-200 gram.

#### 3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah organ pankreas dari tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Jumlah sampel dihitung dengan rumus Freederer yaitu:

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

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah pengulangan atau jumlah sampel tiap kelompok

Berdasarkan rumus diatas maka didapatkan jumlah sampel sebanyak:

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$(6n)-6(-1n)+1 \geq 15$$

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

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Didapatkan jumlah sampel tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* sebesar ( $n \geq 4$ ). Maka ditetapkan pada penelitian ini akan digunakan 5 ekor tikus setiap kelompok perlakuannya, dengan jumlah 30 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang akan digunakan sebagai subjek yang akan diteliti pada penelitian ini.

Koreksi sampel dilakukan pada subjek penelitian sebagai antisipasi terjadinya drop out sampel di eksperimen, dengan rumus :

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

Keterangan :

N = besar sampel koreksi

n = besar sampel awal

f = perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10%

Dengan rumus diatas maka estimase besar sampel sebanyak :

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

$$N = \frac{5}{1-10\%}$$

$$N = \frac{5}{0,9}$$

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

$$N = 5,5$$

Berdasarkan rumus diatas maka didapatkan jumlah sampel adalah 30 ekor untuk 6 kelompok perlakuan.

Tikus jantan dipilih dikarenakan tikus jantan memiliki jumlah hormon estrogen lebih sedikit sehingga menghindari sampel dari berbagai penyakit misalnya hiperkolestrolema. Selain itu juga tikus jantan seiring pertambahan umur, berat badan tikus jantan lebih cepat meningkat dibandingkan dengan tikus betina (Laksmindra F dkk, 2015).

### 3.3.3 Kelompok Perlakuan

**Tabel 1.** Kelompok Perlakuan

No.	Kelompok	Perlakuan
1.	Kelompok normal (N)	Kelompok sampel yang tidak diberi paparan asap rokok dan tidak diberi ekstrak kulit batang bakau minyak ( <i>Rhizopora apiculata</i> )
2.	Kelompok Kontrol Positif (K+)	Kelompok sampel yang diberi paparan asap rokok 24 batang/hari selama 30 hari dan tidak diberi ekstrak kulit batang bakau minyak ( <i>Rhizopora apiculata</i> )
3.	Kelompok Kontrol Negatif (K-)	Kelompok sampel yang diberi paparan asap rokok 24 batang/hari selama 30 hari dan diberi vitamin C dosis 9 mg/kgBB
4.	Kelompok Perlakuan 1 (P1)	Kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok 24 batang/hari selama 30 hari dan diberi ekstrak etanol kulit batang bakau minyak ( <i>Rhizopora apiculata</i> ) dengan dosis 56,55 mg/KgBB
5.	Kelompok Perlakuan 1 (P2)	Kelompok sampel yang diberi paparan asap rokok 24 batang perhari selama 30 hari dan diberi ekstrak metanol kulit batang bakau minyak ( <i>Rhizopora apiculata</i> ) dengan dosis 56,55 mg/KgBB
6.	Kelompok Perlakuan 3 (P3)	Kelompok sampel yang diberi paparan rokok 24 batang perhari selama 30 hari dan diberi ekstrak n-heksana kulit batang bakau minyak ( <i>Rhizopora apiculata</i> ) dengan dosis 56,55 mg/KgBB

Pemberian dosis 56,55 mg/KgBB ekstrak etanol, metanol, dan n-heksana kulit batang bakau *Rhizopora apiculata* didasari oleh penelitian

sebelumnya oleh Mustofa dan Ciptaningrum (2020) yang mengatakan bahwa tidak terdapat efek samping signifikan pada pemberian ekstrak dosis 57 mg/kgBB, sedangkan terdapat efek toksisitas pada pemberian ekstrak diatas 114 mg/kgBB (Mustofa dkk, 2020).

### **3.3.4 Kriteria Inklusi**

- a. Sehat, yaitu tikus yang bulunya tidak rontok dan tidak kusam serta aktivitas yang aktif
- b. Berat badan 150-200 gram
- c. Berjenis kelamin jantan
- d. Berusia 2-3 bulan

### **3.3.5 Kriteria Eksklusi**

- a. Mati selama masa perlakuan
- b. Terdapat penurunan berat badan  $>10\%$  setelah masa adaptasi yaitu seminggu setelah dirawat di *pet house*

## **3.4 Alat dan Bahan Penelitian**

### **3.4.1 Alat Penelitian**

#### **3.4.1.1 Alat dalam Pembuatan Ekstrak**

- a. Gelas ukur
- b. Kertas saring
- c. Labu erlenmeyer
- d. Mesin penggiling



- e. Pipet ukur
- f. *Rotatory evaporator*
- g. Kolom kromatografi vakum

#### **3.4.1.2 Alat selama Perlakuan**

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

#### **3.4.1.3 Alat dalam Pembuatan Preparat Histopatologi**

- a. *Paraffin dispenser*
- b. *Histoplast*
- c. Kertas saring
- d. *Staining jack*
- e. *Staining jar*

f. *Autotechnicome processor*

g. *Plattening table*

h. *Waterbath*

i. *Rotary microtome*

j. *Object glass*

k. *Tissue cassette*

l. *Cover glass*

### **3.4.2 Bahan Penelitian**

#### **3.4.2.1 Bahan dalam Pembuatan Ekstrak**

a. Kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*)

b. Etanol 95%

c. Silika gel G60 GF<sub>254</sub>

d. N-heksana

e. Etil asetat

f. Pelat KLT

#### **3.4.2.2 Bahan Selama Perlakuan**

a. Air minum tikus

b. Pakan tikus

c. Sekam untuk kandang tikus

d. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa jantan galur *Sprague dawley*

### 3.4.2.3 Bahan dalam Pembuatan Preparat Histopatologi

- a. Alkohol 70%
- b. Alkohol absolut
- c. Entelan
- d. Larutan formalin 10% untuk fiksasi
- e. Pewarna hematoksilin dan Eosin
- f. Xylol

## 3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

### 3.5.1 Variabel Independen

Pada penelitian ini, variabel independennya adalah ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) yang diberikan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* dan paparan asap rokok.

### 3.5.2 Variabel Dependen

Pada penelitian ini, variabel dependennya adalah gambaran histopatologi pankreas tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terpapar asap rokok.

### 3.5.3 Variabel Perantara

- a. Variabel perantara yang dapat dikendalikan adalah jenis tikus, umur tikus, makanan tikus, dosis ekstrak etanol, metanol dan n-heksana kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*).

- b. Variabel perantara yang tidak bisa dikendalikan adalah absorpsi ekstrak etanol, metanol dan n-heksana kulit batang bakau minyak (*Rhizopora apiculata*) serta respon tikus terhadap paparan asap rokok.

### 3.5.4 Definisi Operasional

**Tabel 2.** Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Ekstrak metanol, etanol, dan n-heksana kulit batang bakau ( <i>Rhizopora apiculata</i> )	Pemberian ekstrak metanol, etanol dan n-heksana kulit batang bakau ( <i>Rhizopora apiculata</i> ) masing-masing dengan dosis 56,55 mg/KgBB.	Neraca	Larutan dengan dosis dan berat tertentu	Numerik
Histopatologi pankreas	Gambaran histopatologi pankreas tikus dilihat menggunakan mikroskopik cahaya dengan perbesaran 40x dalam lima lapang dengan skor 1 (tidak ada sel radang), skor 2 (ada sel radang).	Mikroskopik cahaya	Skor menurut Mustofa	Kategorik (nominal)

## 3.6 Prosedur dan Alur Penelitian

### 3.6.1 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1.1 Aklamatisasi Hewan Coba

Sampel tikus sebelumnya dilakukan penimbangan, penandaan, lalu ditempatkan secara acak dalam 6 tempat dengan masing-masing tempat berisi 5 ekor tikus putih. Tikus diletakkan pada kandang berukuran 40 x 30 x 20 cm yang terbuat dari bahan plastik dan tutupnya terbuat dari kawat besi. Sampel tikus ini diberi makan sebanyak 10% berat badan sampel yaitu 20-30g/ekor/hari. Pakan diberikan pukul 07.00 dan 16.00, sedangkan air minum diberikan secara *ad libitum*. Kandang dibersihkan dan diganti sekamnya setiap 2 hari sekali.

#### 3.6.1.2 Pembuatan Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang Bakau

##### a. Pembuatan Ekstrak

Sampel kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) sebanyak 11 kg didapatkan dari Lampung Timur, lalu diambil batang, kulit batang, dan akarnya. Kulit batang nantinya akan dicuci lalu dikeringkan melalui penganginan dan di oven supaya lebih terjamin keringnya. Lalu kulit batang yang sudah dianginkan selanjutnya dipotong-potong. Potongan kulit bakau ini lalu dihaluskan dengan mesin penggiling hingga menjadi serbuk.

Didapatkan hasil serbuk kering sebanyak 5 kg. Sebanyak 5 kg serbuk ini simplisia dibagi sama berat dalam 3 wadah yang dimaserasi sebanyak 3 L etanol 96%, 3 L metanol, 3 L n-heksana yang masing-masing wadah diremaserasi 3 kali selama 3 hari, kemudian disaring. Hasil proses tersebut berupa filtrat yang kemudian dievaporasi menggunakan *vacum rotary evaporator* ( $\pm 40^{\circ}\text{C}$ ; 0,16 atm) hingga didapatkan ekstrak yang dikeringkan dibantu *waterbath*. Hasil filtrat kemudian akan diubah menjadi dalam wujud gel yang kemudian akan ditimbang massa jenisnya dan dilakukan pengenceran sesuai dengan dosis yang dibutuhkan.

### **3.6.1.3 Pemaparan Radikal Bebas oleh Asap Rokok**

Dilakukan pemaparan asap rokok dengan menggunakan *smoking chamber*. *Smoking chamber* ini dilengkapi dengan beberapa lubang dengan salah satu lubangnya sebagai tempat *air pump* dan sisanya digunakan sebagai lubang sirkulasi udara. Spuit ukuran 20cc dipakai untuk penggunaan *air pump*, spuit dihubungkan dengan selang karet sepanjang 10cm yang nantinya akan dimasukkan ke dalam lubang *smoking chamber*.

Pada penelitian ini dipakai 24 batang rokok kretek selama 30 hari. Pemaparan asap rokok dilakukan kurang lebih satu jam sebelum pemberian ekstrak metanol, etanol dan n-heksana kulit batang

bakau (*Rhizopora apiculata*). Rokok kretek dipilih karena kemurnian kandungan tembakau nya yang lebih banyak dan harga nya yang lebih murah dibandingkan rokok filter. Selain itu rokok kretek juga dipilih karena rokok jenis ini tidak memiliki filter sehingga kemunculan harapan hasil penelitian lebih mungkin muncul.

#### **3.6.1.4 Terminasi Hewan Coba**

Terminasi hewan coba dilakukan setelah hewan coba diberi perlakuan selama 30 hari. Tikus jantan dianastesi dengan kloroform dengan inhalasi untuk mengurangi *distress* ataupun nyeri pada hewan cobanya. Metode ini disebut *euthanasia* metode fisik, dilakukan pada hewan coba dengan berat <250 gram.

Terminasi hewan coba dilakukan dengan metode *cervical dislocation* yang sebelumnya sudah dianstesasi menggunakan *ketamine-xylazine* dengan dosis *ketamine* : *xylazine* yaitu 75-100 mg/kg: 5-10mg/kg. Metode *cervical dislocation* ini dilakukan dengan meletakkan ujung ibu jari dan jari telunjuk di semua sisi leher hewan coba agar tekanan dapat diberikan pada posterior dasar tulang tengkorak ke tulang belakang lalu ditarik cepat ekornya dengan tangan lainnya sehingga pemisahan tulang

vertebra servikal dan tulang tengkorak terpisah. Selain itu sumsum tulang belakang dari belakang otak juga dapat terpisah.

Organ tikus yang akan digunakan sebagai sampel didapatkan melalui laparotomi. Pada penelitian ini dilakukan laparotomi pada organ pankreas untuk dijadikan sediaan mikroskopis dengan metode parafin serta pewarnaan H&E (*Hematoxyllin-Eosin*).

### **3.6.1.5 Prosedur Pembuatan Preparat**

Preparat histopatologi pankreas hewan coba dibuat dengan prosedur berikut :

a. Fiksasi

Jaringan tikus putih yang akan di buat preparat difiksasi dengan larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10% selama minimal 48 jam hingga sediaan jaringan mengeras. Sampel jaringan yang sudah terfiksasi sempurna lalu *ditrimming* setebal  $\pm 0,5$ cm. Jaringan yang sudah *ditrimming* kemudian dimasukkan ke *tissue cassette* lalu dimasukkan ke *automatic tissue processor*.

b. Dehidrasi

Ditunjukkan untuk menarik air dari jaringan serta mencegah pengerutan pada sampel yang akan diuji. Step ini dilakukan dengan cara sampel direndam dalam alkohol konsentrasi bertingkat (75%, 95%, dan alkohol absolut). Perendaman



dilakukan selama 2 jam dengan menggunakan mesin *automatic tissue processor*.

c. Penjernihan

Tahap ini berfungsi untuk melarutkan alkohol dan parafin. Dilakukan dalam 2 tahap dengan menggunakan larutan xylol I dan xylol II.

d. Infiltrasi

Merupakan proses pengisian ke dalam jaringan, dimaksudkan untuk mengerasakan jaringan agar mudah dipotong dengan pisau mikrotom. Parafin yang digunakan adalah parafin histoplast.

e. *Embedding dan Blocking*

Merupakan proses penanaman jaringan dalam blok paraffin histoplast dengan menggunakan mesin *tissue embedding console*.

f. Pemotongan jaringan

Jaringan dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 $\mu$ m dengan alat *rotary microtome spencer*. Sediaan kemudian diletakkan pada gelas objek dan disimpan dalam incubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

### 3.6.1.6 Pewarnaan Hematoxyllin-Eosin

Sebelum dilakukan pewarnaan, preparat sampel dideparafinisasi dengan larutan xylol I dan xylol II selama 2 menit. Lalu direhidrasi dengan mencelupkan sampel ke dalam alkohol 95% dan alkohol 85%, di rendam selama 1 menit. Setelah 1 menit sampel dicuci dengan air mengalir selama 1 menit. Selanjutnya pewarnaan dapat dilakukan dengan cara:

- a. Preparat direndam dalam larutan Mayer's hematoxyllin selama 8 menit.
- b. Setelah 8 menit, sampel dialirkan air mengalir selama 30 detik.
- c. Celupkan sampel ke dalam larutan lithium karbonat selama 20 detik.
- d. Alirkan air lagi selama 2 menit.
- e. Preparat sampel lalu direndam didalam larutan eosin selama 2-3 menit.
- f. Alirkan air lagi selama 30-60 detik.
- g. Celupkan preparat ke dalam larutan alkohol 95% dan alkohol absolut sebanyak 10 kali celupan.
- h. Celupkan lagi preparat ke dalam larutan absolut II selama satu menit.
- i. Celupkan kembali preparat ke dalam larutan xylol I selama satu menit dan larutan xylol II selama 2 menit.

- j. Setelah pewarnaan selesai, sediaan preparat ditetesi perekat permount dan ditutup dengan *cover glass*

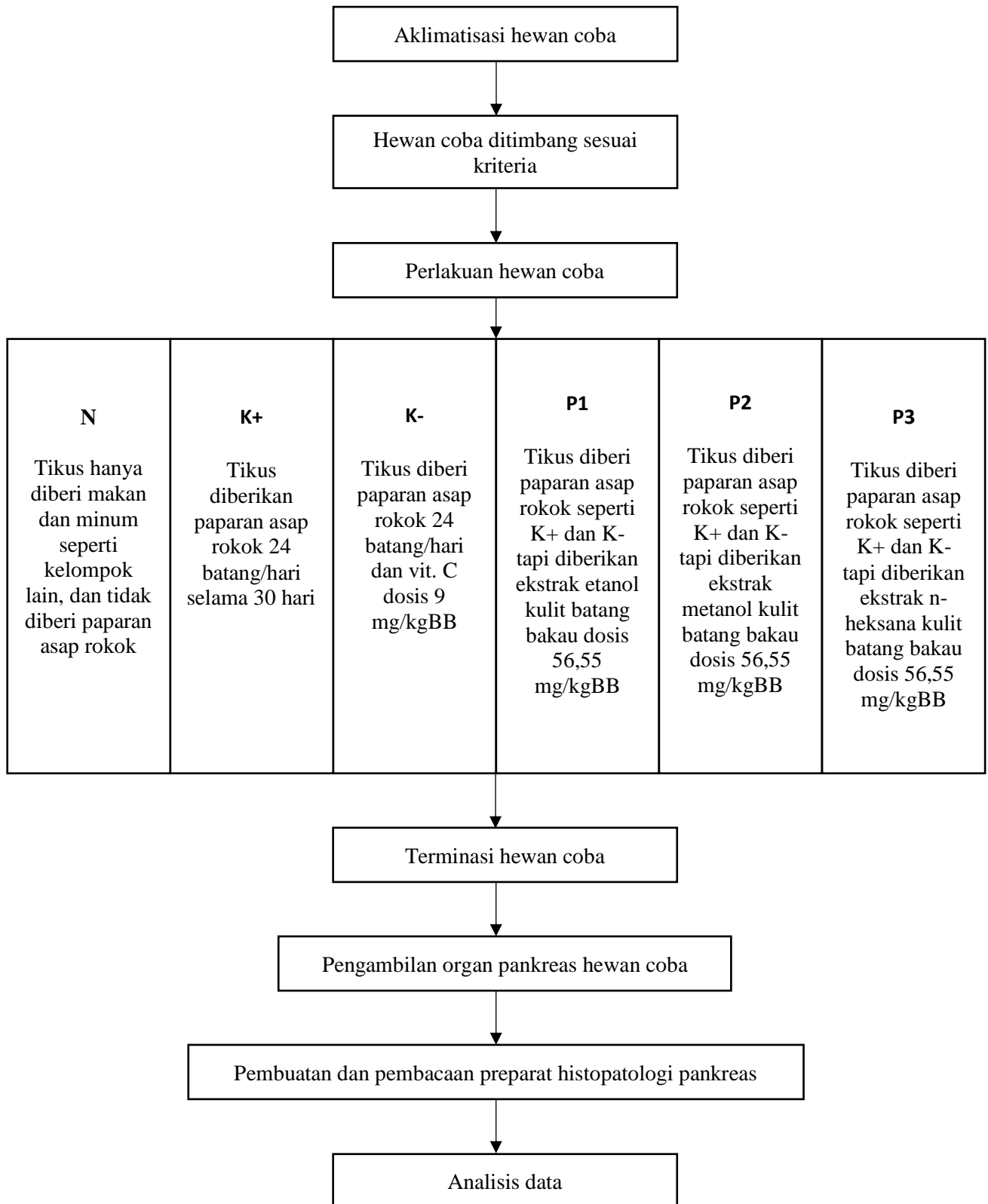
### 3.6.1.7 Skoring Gambaran Histopatologi Pankreas

Pada pembacaan dan pengamatan preparat histopatologi pankreas tikus putih *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* yang terpapar asap rokok digunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Pengamatan preparat sampel ini dilakukan lima lapang pandang dengan sudut berbeda dimulai sudut kanan, sudut kiri, sudut atas, sudut bawah dan sudut tengah preparat. Gambaran kerusakan mikroskopis yang nantinya ditemukan pada preparat sampel histopatologi pankreas tikus putih *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* yang terpapar asap rokok dibaca dengan mengacu pada skor yaitu:

Skor 0 = Tidak ada perubahan patologis (tidak ditemukan adanya sel radang pada preparat histopatologi pankreas tikus putih *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* yang terpapar asap rokok)

Skor 1 = Adanya sel radang (ditemukan adanya sel radang pada preparat histopatologi pankreas tikus putih *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* yang terpapar asap rokok).

### 3.6.2 Alur Penelitian



**Gambar 7.** Alur penelitian

### 3.7 Analisis Data

Data yang sudah diperoleh selanjutnya dikumpulkan dan diolah menggunakan *software* uji statistik. Setelah data diolah kemudian dilakukan analisa statistik. Analisa statistik dilakukan dengan menggunakan *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Uji normalitas data akan dilakukan dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dikarenakan sampel yang berjumlah  $\leq 50$ . Jika didapatkan bahwa data berdistribusi normal maka analisis data akan dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*, tetapi jika data berdistribusi tidak normal maka data akan diuji menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Hipotesis dianggap bermakna apabila didapatkan *p-value* yaitu  $< 0,05$  dilanjutkan dengan uji perbandingan tiap kelompok dengan uji *Post Hoc Mann-Whitney* (Dahlan, 2014).

### 3.8 Etik Penelitian

*Ethical Clearance* penelitian ini telah diajukan ke Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Prinsip etik pada penelitian ini harus memenuhi 3R, yaitu:

#### 1. *Replacement*

*Replacement* merupakan keperluan memanfaatkan hewan coba dengan perhitungan seksama, baik dari pengalam terlebih dahulu ataupun literatur untuk menjawab pertanyaan penelitian dan tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan

## 2. *Reduction*

*Reduction* merupakan pemanfaatan hewan coba sesedikit mungkin dalam penelitian tetapi dapat hasil yang maksimal. Sampel pada penelitian ini dihitung dengan Rumus *Frederer*.

## 3. *Refinement*

*Refinement* maksudnya adalah memperlakukan hewan coba dengan manusiawi. Prinsip dasarnya adalah membebaskan hewan coba dalam beberapa kondisi, yaitu:

- a. Bebas dari rasa lapar dan haus.
- b. Bebas dari ketidaknyamanan.
- c. Bebas dari nyeri dan penyakit.
- d. Bebas dari rasa takut dan stres.
- e. Bebas mengekspresikan tingkah laku alamiah.

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Simpulan**

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah dipaparkan pada bab sebelumnya, didapatkan kesimpulan yaitu :

1. Tidak terdapat efek protektif ekstrak etanol kulit dan n-heksana batang bakau *Rhizophora apiculata* terhadap gambaran histopatologi pankreas yang terpapar asap rokok, tetapi terdapat efek protektif pada /ekstrak metanol kulit batang bakau *Rhizophora apiculata* terhadap gambaran histopatologi pankreas yang terpapar asap rokok.
2. Efek protektif ekstrak metanol kulit batang bakau *Rhizopora apiculata* lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol dan n-heksana kulit batang bakau *Rhizopora apiculata* terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok.
3. Terdapat perbandingan efek protektif vitamin C dengan ekstrak etanol dan n-heksana, tetapi tidak ada perbandingan efek protektif vitamin C dengan ekstrak metanol kulit batang bakau *Rhizopora apiculata* terhadap histopatologi pankreas tikus yang terpapar asap rokok.

## 5.2 Saran

Saran yang dapat penulis berikan pada peneliti lain, yaitu :

1. Peneliti lain dapat melakukan penelitian untuk mencari dosis efektif dan dosis toksik dari ekstrak metanol dan ekstrak n-heksana kulit batang bakau *Rhizophora apiculata*.
2. Peneliti lain dapat melakukan uji kuantitatif untuk mengetahui senyawa apakah yang paling banyak terdapat pada masing-masing ekstrak sebagai antioksidan.
3. Peneliti lain dapat melakukan fraksinasi pada masing-masing ekstrak agar dapat mengambil satu senyawa yang paling penting dan berpengaruh sebagai antioksidan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. 2011. Potensi Bakau *Rhizophora apiculata* sebagai inhibitor tirosinade dan antioksidan. Bogor: IPB.
- Agustina W, Nurhamidah, Handayani D. 2017. Skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan beberapa fraksi dari kulit batang batang jarak (*Ricinus communis L.*). Bengkulu: Alotrop 1(2) hal: 117-122.
- Aji A, Maulinda L, Amin S. 2015. Isolasi Nikotin Dari Puntung Rokok Sebagai Insektisida. Aceh: Jurnal Teknologi Kimia Unimal 4(1) hal: 100-120.
- Alva S. 2016. Ketergantungan nikotin: aspek molekuler dan implikasi terapi berbasis bukti. Tondano: CDK vol.4(4) hal: 267-271.
- Ambarwati, Ayu K. 2014. Media Leaflet, Video dan Pengetahuan Siswa SD Tentang Bahaya Merokok. Surakarta: Jurnal kesmas.
- Amriati R, Muhajir, Roksiana A, Malik A. 2012. Identifikasi golongan senyawa antioksidan dengan menggunakan metode peredaman radikal DPPH ekstrak etanol daun *Cordia myxa*. Jurnal Fitofarmaka Indonesia 2(1) hal: 83-7.
- Apollo F. 2016. Stress oksidatif dan status antioksidan pada aktivitas fisik maksimal. Jurnal Generasi Kampus vol.9(2) hal:176-9.
- Atok MH, Mimien H, Suhadi. 2016. Karakteristik Morfo-Anatomi Struktur Vegetatif Spesies *Rhizopora Apiculata*. Jurnal Pendidikan 1(9) hal: 1688-2.
- Barawi KN & Marini D. 2018. Efektivitas Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizopora apicullata*) sebagai Antioksidan. Lampung: J Agromedicine 5(1) hal: 416.
- Basri S, Mallapiang F, Ibrahim I, Ibrahim H, Syarfaini S. 2017. Gambaran Konsentrasi Karbon Monoksida Dalam Darah Pada Mekanik General Repair Servis dan Suku Cadang Dealer Otomotif Makasar. Makassar: ISSN (3) hal: 178-9.

- Beirben E, Murat U, Erszurum S, Kaley O. 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. WAO J 5:9.
- Benowitz N.L & Burbank A. 2016. Cardiovascular toxicity of nicotine: implication of cigarette use. Trends Cardiovasc Med hal: 515-523.
- Bidve SC, Kadam VB, Shindikar M. 2017. Antioxidant potential of bark and leaves extract of mangrove plant *Aegiceras corniculatum*. World Journal of Pharmeaceutical Research 6(13) hal: 495-505.
- Caesario B, Mustofa S, Oktaria D. 2019. Pengaruh pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak *Rhizophora apiculata* terhadap kadar MDA tikus putih (*Rattus norvergicus*) galur Sprague Dawley yang dipaparkan asap rokok. Medula 9(1)hal: 43-47.
- Canadian Centre of Occupational Health and Safety (CCOHS). 2011. Environmental tobacco smoke: general information and health effect. Canada: CCOHS.
- Dahlan MS. 2014. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Jakarta: Epidemiologi Indonesia hal: 1-22.
- Dwi M. 2014. Effect On Nicotine in Cigarette for Type 2 Diabetes Mellitus. Lampung: J Majority hal: 75-9.
- Edderkaoui M dan Thrower E. 2015. Smoking Induced Pancreatitis and Pancreatic Cancer. USA: American Pancreatic Association hal: 2-24.
- Eka Banjarnahor. 2012. Sel Beta Pankreas Sintesis dan Sekresi Insulin. Manado: Jurnal biomedik (4) hal: 156-162.
- Eliette Dalla C, Vanessa de S, Carlos Alberto M. 2012. Pancreas: Anatomy, Disease and Health Implications. Brazil: State Univeristy of Rio.
- Eryilmaz F. 2017. Vitamin C: An Antiocidant Agent. LicenseinTech(2) hal: 25.
- Francenia N, Salas R, Claudia V, Beatriz H. 2019. Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. hal: 1-28.
- Giri C, Ochieng E, Tieszen L. 2011. Status and Distribution of mangrove forests of the world using earth satellite data. Glob Eco Biogeography(20): 154-9.

- Handajani. 2019. Oksidan dan antioksidan pada beberapa penyakit dan proses penuaan. Sidoarjo: Zifatma jawara Hal: 77.
- Immanuel VD. 2013. Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan. Manado: eBM(1): 330-337.
- Junian C, Zainul M, Herawati L. 2020. Mekanisme Vitamin C Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Aktivitas Fisik. Surabaya: JOSSAE hal: 57-63.
- Kadiyala V, Lee L, Banks P, Suleiman S, Paulo J, Wang, w. 2013. Cigarette smoking impairs pancreatic duct cell bicarbonate secretion. JOP 14(1): 31-8.
- Kemenkes RI. 2016. Modul Bahan Ajar Cetak Praktikum Farmakologi (Pemilihan Hewan Coba). Jakarta: Badan Pengembangan dan Pemberdayaan SDM (5): hal 3-10.
- Kemenkes RI. 2018. Riset Kesehatan Dasar. Jakarta: Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Kemenkes RI. 2018. Apa saja kandungan dalam sebatang rokok?. Diakses 28 September 2020 dari <http://p2ptm.kemkes.go.id/infographic-p2ptm/penyakit-paru-kronik/apa-saja-kandungan-di-dalam-sebatang-rokok-2>.
- Kim E, Susan M, Scott B, Heddwen L. 2012. Ganong's review medical physiology 24<sup>th</sup> edition. McGrawHill hal: 432.
- Kumar S. 2011. Free Radicals and Antioxidants: Human and Food Systems. Adv SCI 2(1): 129-135.
- Laksmindra F, Mulyati S, Cut M, Andreas S. 2015. Profil Reproduksi Jantan Tikus (*Rattus norvegicus*) Muda, Pradewasa dan Dewasa. Yogyakarta: Jurnal Biologi Papua hal: 94-100.
- Lapatta N, Loho L, Lintong P. 2013. Gambaran Histopatologi Aorta Tikus yang Terpapar Asap Rokok. J E-Biomed 1(2) hal: 29-38.
- Li R, Jia Z, Trush M. 2016. Defining ROS in Biology and Medicine. AIMSCI hal: 2-13.

- Longnecker D. 2014. *Anatomy and Histology of the Pancreas*. Lebanon: American Pancreatic Association (2) hal: 2-21.
- Moron UM dan Castilla C. 2012. Protection Against Oxidative Stress and IGF-I Deficiency Conditions. In *Tech* hal: 90-102.
- Mustofa S, Alfa N, Wulan AJ, Rakhmanisa S. 2019. Pengaruh pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) etanol 95% terhadap arteri koronarian tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague Dawley yang dipaparkan asap rokok. *JK Unila*. 3(1): 28-33.
- Mustofa S, Anisya V. 2020. Efek hepatoprotektif ekstrak etanol *Rhizophora apiculata* pada Lampung tikus yang dipaparkan asap rokok. *JK Unila*. 4(1): 12-17.
- Mustofa S, Alfa N, Wulan AJ, Rakhmanisa S. 2019. Pengaruh pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) etanol 95% terhadap arteri koronarian tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague Dawley yang dipaparkan asap rokok. *JK Unila*. 3(1): 28-33.
- Mustofa S, Bahagia W, Kurniawaty E, Rahmanisa S, Audah KA. 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 Biochimica Indonesiana*. 1(1): 7-13.
- Mustofa S, Ciptianingrum I, Zuya CS. 2020. Subacute toxicity test of *Rhizophora apiculata* bark extract on liver and pancreas histopathology of rats. *Acta Biochimica Indonesiana* vol.3(2) hal: 89-95.
- Mustofa S, Hanif F. 2019. The protective effect of *Rhizophora apiculata* bark extract against testicular damage induced by cigarette smoke in male rats. *Acta Biochimica Indonesiana*. 2(1) hal: 23-31.
- Nahar M, Rajak R, Hasan W, Jat D. 2017. Oxidative Stress and Antioxidants: An Overview. *IJARR* 2(9) hal: 110-9.
- Nimse SB, Pal D. 2015. Free radicals, natural antioxidants and their reaction mechanism. *RSC advances* (5) hal: 279.

- Nururrahmah. 2014. Pengaruh Rokok Terhadap Kesehatan dan Pembentukan Karakter Manusia. Prosiding Seminar Nasional vol.1(1) hal: 79-82.
- Otto GM, Franklin CL, Clifford CB. 2015. Biology and diseases of rats. Laboratory animal medicine hal: 151.
- Paulo J, Urrutia R, Kadiyala V, Banks P. 2013. Cross-species analysis of nicotine induced in pancreatic cells. Proteomics 13(9) hal: 2-4.
- Paulsen F dan Waschke J. 2010. Sobotta Atlas Anatomi Manusia jilid 3 edisi 23. Jakarta: EGC hal: 125.
- Peraturan Daerah (PERDA) Kota Tangerang Selatan. 2016. Kawasan tanpa rokok nomor 4. Perda: Banten hal: 4.
- Popovic L, Mitic N, Miric D, Bisevac B, Miric M. 2015. Influence of Vitamin C Supplementation on Oxidative Stress and Neutrophil Inflammatory Response in Acute and Regular Exercise. Oxidative medicine and cellular longevity hal: 2-6.
- Preiser JC. 2012. Oxidative stress. Journal of parental and enteral nutrition 36(2) pg. 147-154.
- Rahadian A, Budi L, Setiawan Y, Wikantika K. 2019. Tinjauan historis data dan informasi luas mangrove Indonesia. Media Konservasi (24):163-178.
- Romdanu et al. 2014. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak bunga lotus. Fitech 3(1): 1-7.
- Scollo dan Winstanley. 2018. Tobacco in Australia: Facts and Issues. Melbourne: Cancer Council Victoria.
- Selvaraj G, Kaliamurthi S. 2015. Identification of medicinal mangrove *Rhizophora apiculata* Blume: morphological, chemical, and DNA barcoding methods. International Journal of Scientific & Engineering Research. 6(2): 1283-1290.
- Senay T, Ozlem O, Rahime A, Damet H. 2016. Pancreatic Damage Induced by Cigarette Smoke: the Specific Pathological Effects of Cigarette Smoke in The Rat Model. Toxicological Research (5) hal: 938.
- Sherwood, Lauralee. 2011. Fisiologi Manusia: Dari Sel Ke Sistem edisi 6. Jakarta: EGC hal: 638.

- Southeast Asia Tobacco Control Alliance (SEATCA). 2018. The Tobacco Control Atlas Asean Regions 4<sup>th</sup> Edition. Thailand: Publishing of Suetawan hal: 6-7.
- Sujarnoko. 2012. Studi meta-analisis efek senyawa metabolit sekunder tannin terhadap kualitas silase. Bogor: IPB hal: 4-5.
- Suprihanti A, Harianto H, Sinaga B, Kustiari R. 2018. Dinamika Konsumsi Rokok dan Impor Tembakau Indonesia. Bogor: SEPA(14) hal:193-194.
- Winarsi H. 2011. Antioksidan alami dan radikal bebas. Yogyakarta: Kanisius hal: 2-5.
- Wolfensohn S dan Lloyd M. 2013. Handbook of laboratory animal management and welfare edisi ke-4. West Sussex: Wiley Blackwell hal: 23.
- World Health Organisation. 2019. Tubuh Tembakau. Diakses 29 September 2020. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/324846/WHO-NMH-PND-19.1-ind.pdf?ua=1>
- World Health Organisation. 2019. WHO Global Report on Trends In Prevalence of Tobacco Use 2000-2025. Ganeva: World Health Organization hal: 1-3.
- Wulan C. 2010. Efek pemberian antioksidan vitamin C dan E terhadap kualitas spermatozoa tikus putih terpapar allethrin. Semarang: Biosaintifika (2) hal: 18-26
- Yadav A, Kumari R, Mishra JP, Srivatva S, Prabha S. 2016. Antioxidants and its functions in human body. India: RELS 9(11) hal: 1328-1331.
- Yulia W dan Leilani I. 2019. Populasi *Rhizopora apiculata* di hutan mangrove teluk buo Sumatra Barat. Ina-Rvix Papers.