

**PENGARUH EKSTRAK BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.)
TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI PARU-PARU MENCIT YANG
TERPAPAR ASAP ROKOK**

(Skripsi)

Oleh

Maryeta Handayani Sitepu



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRAK

Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Gambaran Histologi Paru-Paru Mencit Yang Terpapar Asap Rokok

Oleh

Maryeta Handayani Sitepu

Asap rokok merupakan sumber radikal bebas yang menimbulkan stress oksidatif yang menyebabkan respon inflamasi dan kerusakan paru. Radikal bebas di dalam tubuh dapat dihambat oleh antioksidan untuk menurunkan resiko kerusakan jaringan paru-paru. Bawang putih memiliki kandungan senyawa yang efektif sebagai antioksidan untuk mencegah kerusakan paru-paru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap gambaran histologi paru-paru mencit yang terpapar asap rokok. Penelitian eksperimental ini menggunakan mencit (*Mus musculus*) jantan yang berumur 5 minggu sebanyak 30 ekor yang dibagi secara acak menjadi 3 perlakuan yaitu K0 sebagai kontrol positif, K1 sebagai kontrol negatif, P1 diberi paparan asap rokok dan ekstrak bawang putih dengan dosis 1000 mg/kgBB per hari di sore hari dan dilakukan selama 35 hari. Sumber radikal bebas diperoleh secara asap samping (*sidestream smoke*) selama 15 menit/hari dilakukan setiap pagi. Pada hari ke-36, mencit dibedah dan dilakukan pembuatan preparat. Derajat kerusakan jaringan paru mencit dinilai menggunakan skoring destruksi septum alveolar dan infiltrasi sel radang. Semua data diuji secara statistik menggunakan *Kruskall wallis dan Post Hoc Mann Whitney*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bawang putih dengan dosis 1000 mg/kgBB dapat mengurangi terjadinya kerusakan pada paru-paru mencit yang diberi paparan asap rokok selama 35 hari.

Kata kunci: Cigarette smoke, free radicals, antioxidants, garlic extract, lung histology.

ABSTRACT

Effect of Garlic Extract (*Allium sativum* L.) on Lung Histology of Mice Exposed to Cigarette Smoke

By

Maryeta Handayani Sitepu

Cigarette smoke is a source of free radicals that cause oxidative stress that causes an inflammatory response and lung damage. Free radicals in the body can be inhibited by antioxidants to reduce the risk of lung tissue damage. Garlic contains compounds that are effective as antioxidants to prevent lung damage. This study aims to determine the effect of garlic extract (*Allium sativum* L.) on the histological picture of the lungs of mice exposed to cigarette smoke. This experimental study used 30 male mice (*Mus musculus*) aged 5 weeks which were divided randomly into 3 treatments, namely K0 as positive control, K1 as negative control, P1 exposed to cigarette smoke and garlic extract at a dose of 1000 mg/kgBW. per day in the afternoon and carried out for 35 days. Sources of free radicals are obtained by sidestream smoke for 15 minutes/day every morning. On the 36th day, the mice were dissected and preparations were made. The degree of damage to lung tissue in mice was assessed using the scoring of alveolar septal destruction and inflammatory cell infiltration. All data were statistically tested using *Kruskall Wallis* and *Post Hoc Mann Whitney*. The results showed that garlic with a dose of 1000 mg/kgBW could reduce the occurrence of damage to the lungs of mice exposed to cigarette smoke for 35 days.

Keywords: Cigarette smoke, free radicals, antioxidants, garlic extract, lung histology.

**PENGARUH EKSTRAK BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.)
TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI PARU-PARU MENCIT YANG
TERPAPAR ASAP ROKOK**

Oleh

MARYETA HANDAYANI SITEPU

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

Judul Skripsi : **PENGARUH EKSTRAK BAWANG PUTIH
(*Allium sativum* L.) TERHADAP
GAMBARAN HISTOLOGI PARU-PARU
MENCIT YANG TERPAPAR ASAP ROKOK**

Nama Mahasiswa : **Maryeta Handayani Sitepu**

Nomor Pokok Mahasiswa : **1717021073**

Program Studi : **S1 Biologi**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Hendri Busman, M.Biomed.
NIP 19590101 198703 1 001

Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP 19610112 199103 1 002


2. Ketua Jurusan Biologi

Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP 19610112 199103 1 002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Hendri Busman, M.Biomed.



Sekretaris : Drs. M. Kanedi, M.Si.



Anggota : Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Supto Dwi Yuwono, M.T.
NIP. 19740705 200003 1 001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 18 Agustus 2021

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tanga di bawah ini:

Nama : Maryeta Handayani Sitepu
Nomor Pokok Mahasiswa : 1717021073
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

**“PENGARUH EKSTRAK BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.)
TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI PARU-PARU MENCIT YANG
TERPAPAR ASAP ROKOK”**

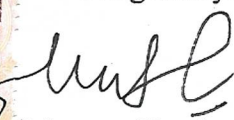
Baik gagasan, data, maupun pembahasannya adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika yang berlaku dan saya memastikan bahwa tingkat similaritas skripsi ini tidak lebih dari 20%.

Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 25 Agustus 2021

Yang Menyatakan




(Maryeta Handayani Sitepu)

1717021073

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Medan, Sumatera Utara pada tanggal 13 Maret 1999, sebagai anak kedua dari lima bersaudara, dari Bapak Hendri Dunand Sitepu dan Ibu Melfa Juliana Manullang. Penulis menempuh pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) di TK Kaisarea diselesaikan tahun 2006,

pendidikan Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD RK Bintang Kejora pada tahun 2011, pendidikan Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMPN 1 Lintong Nihuta pada tahun 2014, dan pendidikan Sekolah Menengah Akhir (SMA) diselesaikan di SMAN 17 Medan pada tahun 2017. Pada tahun 2017 penulis terdaftar sebagai Mahasiswi Program Studi S1 Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN.

Selama menjadi mahasiswi, penulis pernah bergabung menjadi anggota KOMINHUM pada Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) Fakultas MIPA pada periode 2017-2018, dan menjadi anggota divisi Lomba Graffiti dan Mural pada acara Pekan Konservasi Sumber Daya Alam (PKSDA) Mahasiswa Biologi (HIMBIO) Fakultas MIPA Universitas Lampung. Penulis juga aktif berpelayanan dalam organisasi berbasis pelayanan, yaitu Persekutuan Oikumene Mahasiswa MIPA (POM MIPA) sebagai anggota Sie Kelompok Kecil. Pada bulan Januari

sampai dengan Februari 2020, penulis melakukan Kerja Praktik (KP) di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM) Lampung dan telah menyelesaikan Laporan Kerja Praktik dengan judul “**Uji Cemaran Bakteri *Eschericia coli* Pada Sampel Udang Beku (*Frozen Shrimp*) di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Lampung**”. Pada bulan Juli sampai dengan Agustus 2020, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Tapian Nauli, Lintong Nihuta, Kab. Humbang Hasundutan, Medan, Sumatera Utara. Terakhir, penulis melaksanakan kegiatan penelitian di Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada bulan April hingga Mei 2021.

Dengan segala rasa syukur dan penuh perjuangan dalam proses pembelajaran yang ditempuh, akhirnya penulis dapat menyelesaikan Pendidikan Strata 1 (S1) di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

MOTTO

*Because you are precious in My eyes and noble, and I
love you.*

Don't be afraid, for I am with you.

(Isaiah 43:4a; Isaiah 43:5a)

*"But let your first care be for His kingdom and His
righteousness; and all these other things will be given to
you in addition".*

(Matthew 6:33)

*"Janganlah hendaknya kamu kuatir tentang apapun
juga, tetapi nyatakanlah dalam segala hal keinginanmu
kepada Allah dalam doa dan permohonan dengan
ucapan syukur" (Filipi 4:6)*

PERSEMBAHAN

Puji Tuhan, Segala Pujian dan Hormat kepada Tuhan Yesus Kristus untuk kekuatan, berkat serta nikmat kasih-Nya yang luar biasa menyertaiku.

Kupersembahkan karya ini kepada:

Mama dan Ayahku Terkasih

Terima kasih selalu mendukung dalam berbagai hal dalam hidupku dan memberikan doa yang tiada hentinya kepadaku

Abang dan Adik-adikku Tersayang

Terima kasih untuk abang Surya, adik Febi, Nela dan Wahyu yang selalu memberikan semangat, doa dan dukungan kepadaku

Tigan dan Oppung

Terima kasih selalu memberikan semangat, doa dan dukungan.

Biologi 2017

Teman-teman seperjuangan dari semester awal hingga akhir

Almamater dan Negeriku Tercinta

Dan semua orang-orang baik yang aku sayangi dan menyayangiku yang sudah membantu hingga tahap sekarang ini.

SANWACANA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan karunia serta kasih-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang merupakan salah satu syarat akademis menempuh pendidikan di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Skripsi dengan judul “Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Gambaran Histologi Paru-Paru Mencit yang Terpapar Asap Rokok”.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Namun berkat bantuan, bimbingan, kerjasama dari semua pihak akhirnya penulisan skripsi ini dapat terselesaikan. Untuk itu penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus yang menjadi sumber kuat dan pertolongan.
2. Bapak Dr. Hendri Busman, M. Biomed., selaku Dosen Pembimbing I yang senantiasa membimbing, memberikan arahan, kritik, dan saran yang membangun dalam proses penyelesaian skripsi.
3. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si., selaku Dosen Pembimbing II yang senantiasa membimbing, memberikan dukungan, membantu penulis dan memberi saran yang membangun selama penyusunan skripsi.
4. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed., selaku Dosen Pembahas yang senantiasa memberi masukan dan arahan, serta ide dan nasihat yang membangun dalam proses penyelesaian skripsi.
5. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
6. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.

7. Bapak Dr. Sumardi, M.S., selaku Dosen Pembimbing Akademik.
8. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu dan pengalamannya yang sangat berharga selama masa perkuliahan.
9. Kedua orang tua tercinta, ayah Hendri Dunand Sitepu dan Mama Melfa Juliana Manullang yang telah ikhlas dengan segenap hati memberikan dukungan, tempat cerita, semangat dan doa kepada Tuhan Yesus Kristus.
10. Abang Surya, Adik Febi, Nela dan Wahyu yang selalu setia memberi dukungan dan doa. Tigan dan Oppung yang selalu mendoakan.
11. Erika Clarissa Simamora dan Helmi Aris sebagai partner selama menyelesaikan penelitian skripsi yang penuh dengan drama, penuh suka cita dan keluh kesah yang selalu menemani, partner berbagi pengetahuan dan memberikan semangat selama melaksanakan penelitian skripsi.
12. Ester Rosdiana Sinaga dan Lasmaria Sianipar sahabat sejak SMA. Terima kasih atas semangat dan dukungannya selama ini.
13. Indah Stellawati, Ria Novitasari, Erika Clarissa, Shella Wijaya, Kristin, Dwi Ajeng Febiola (Rebahan Squad) yang selalu memberikan dukungan, semangat, saran dan kritik yang membangkitkan semangat penulis, yang selalu membantu jika penulis mengalami kesusahan. Terima kasih banyak untuk kalian.
14. Teman-teman indekos Kakak Desi Tampubolon, Bintang Pasaribu, Chaterina Gultom, Karina Simanjuntak, Apri Sinaga, Wayan Karsini dan Lia Silitonga yang selalu memberikan dukungan, semangat, menjadi tempat bercerita keluh kesah dalam penulisan skripsi ini. Terima kasih untuk semuanya.
15. Sahabat Doa, Yok, Teman-Teman Amazing Grace yang selalu memberikan dukungan dan semangat.

16. Clara Yulianti Tarigan yang sangat membantu dalam penyelesaian skripsi.

Terimakasih banyak aku mengasihimu.

17. Teman-teman Angkatan 2017 yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Terima kasih atas bantuan dan dukungannya selama mengikuti proses perkuliahan maupun di luar perkuliahan.

18. Teman-teman POM MIPA, terima kasih atas kehangatannya serta

dukungannya dalam mengikuti perkuliahan maupun banyak kegiatan rohani lainnya.

19. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah

membantu dan mempermudah penulis.

20. Serta almamater tercinta Universitas Lampung.

21. Diri sendiri, terima kasih sudah berani sepanjang jalan ini, terima kasih sudah

tidak pernah menyerah, terima kasih sudah mampu melawan ego serta mood yang tidak tentu selama ini.

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

Semoga Tuhan membalas segala kebaikan pihak-pihak yang telah terlibat dalam menyelesaikan skripsi ini. Dan semoga skripsi ini bisa berguna bagi pembacanya.

Bandar Lampung, 25 Agustus 2021
Penulis,

Maryeta Handayani Sitepu

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR GAMBAR..... xvii

DAFTAR TABEL xviii

I. PENDAHULUAN 1

- 1.1. Latar Belakang dan Masalah 1
- 1.2. Rumusan Masalah 6
- 1.3. Tujuan Penelitian 6
- 1.4. Manfaat penelitian..... 6
- 1.5. Kerangka Pemikiran..... 6
- 1.6. Hipotesis..... 7

II. TINJAUAN PUSTAKA 8

- 2.1. Mencit (*Mus musculus*) 8
- 2.2. Paru 9
 - 2.2.1. Anatomi dan Fisiologi Paru..... 9
 - 2.2.2. Struktur Histologi Paru..... 10
- 2.3. Bawang Putih 12
 - 2.3.1. Kandungan Bawang Putih 13
 - 2.3.2 Manfaat-Manfaat Bawang Putih 16
- 2.4. Antioksidan 17
- 2.5. Rokok 18
- 2.6. Radikal Bebas..... 20
- 2.7. Hubungan Asap Rokok dengan Paru 20

III. METODOLOGI PENELITIAN 23

- 3.1. Waktu dan Tempat 23
 - 3.1.1. Waktu 23
 - 3.1.2. Tempat..... 23
- 3.2. Subjek Penelitian..... 24
 - 3.2.1. Populasi 24
 - 3.2.2. Sampel..... 24

3.3.	Alat dan Bahan.....	25
	3.3.1. Alat.....	25
	3.3.2. Bahan.....	26
3.4.	Jenis Penelitian.....	26
3.5.	Identifikasi Variabel.....	26
	3.5.1. Variabel Bebas.....	26
	3.5.2. Variabel Terikat.....	26
3.6.	Prosedur Penelitian.....	26
	3.6.1. Aklimatisasi Hewan Percobaan.....	26
	3.6.2. Pengamatan Berat Badan.....	27
	3.6.3. Penentuan Dosis dan Pembuatan Ekstrak Bawang Putih.....	27
	3.6.4. Pemaparan Asap Rokok.....	28
	3.6.5. Pemberian Ekstrak Bawang Putih.....	29
	3.6.6. Pembedahan dan Koleksi Paru.....	30
	3.6.7. Pembuatan Preparat Histologi.....	30
	3.6.8. Pengamatan Histologi.....	32
3.7.	Rancangan Analisis Data.....	33
3.8.	Alur Penelitian.....	34
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		35
4.1.	Hasil Penelitian.....	35
	4.1.1. Analisis Histologi Paru Mencit.....	39
	4.1.2. Uji Normalitas.....	39
	4.1.3. Uji Normalitas Variabel Baru.....	40
	4.1.4. Analisis <i>Kruskall-Walis</i>	41
	4.1.5. Uji <i>Post Hoc Mann-Whitney</i>	41
	4.1.6. Hasil Tingkat Kerusakan Paru.....	42
4.2.	Pembahasan.....	43
	4.2.1. Histologi Paru Mencit.....	43
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....		48
5.1.	Kesimpulan.....	48
5.2.	Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA.....		49
LAMPIRAN.....		57

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi mencit (<i>Mus musculus</i>)	9
2. Anatomi Paru	10
3. Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> L.)	12
4. Struktur Senyawa Sulfida Bawang Putih	14
5. Wadah pemaparan asap rokok	28
6. Bagan alir penelitian	34
7. Gambaran Histologi Kelompok Kontrol Positif	36
8. Gambaran Histologi Kelompok Kontrol Negatif	37
9. Gambaran Histologi Kelompok Perlakuan 1	38

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Farmakologi Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> L.).....	13
2. Komposisi kimia bawang putih dalam 100 gram.....	13
3. Derajat Kerusakan Jaringan Paru	33
4. Hasil Skor Rerata Kerusakan Paru Mencit.....	39
5. Uji Normalitas.....	39
6. Uji Normalitas Variabel Baru	40
7. Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	41
8. Uji <i>Post Hoc Mann-Whitney</i>	41
9. Hasil Tingkat Kerusakan Paru	42

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Masalah

Merokok adalah kegiatan yang sangat berbahaya bagi tubuh. Rokok merupakan polutan yang mengandung berbagai bahan kimia, seperti nikotin, tar, dan karbon monoksida (dalam rokok kretek). Asap rokok mengandung 10^{14-16} molekul oksidan, antara lain superoksida, hidrogen peroksida, hidroksil, dan peroksil (dalam satu hisapan) (Tirtosastro dkk., 2012). Pada tahun 2015, mortalitas pada kelompok perokok meningkat 2-3 kali dibandingkan dengan kelompok tidak merokok. Hal ini berhubungan dengan terjadinya kanker paru, kanker laring, dan penyakit paru obstruktif kronik (PPOK) (WHO, 2016). Penyakit akibat rokok dapat terjadi pada semua sistem organ manusia, hal tersebut dapat terjadi karena sebatang rokok mengandung 7000 komponen kimia, dan ratusan diantaranya merupakan zat toksik untuk tubuh. Pada paru-paru, rokok dapat menyebabkan penyakit paru obstruktif kronik, emfisema, dan kanker paru (Eriksen *et al.*, 2015).

Menurut World Health Organization (WHO) (2016), perokok di dunia dengan usia lebih dari 15 tahun sebanyak 21,9 % dengan total lebih dari 1,1 miliar. Asia Tenggara menduduki persentase tertinggi kedua, yaitu 24,8 %. Indonesia menduduki persentase tertinggi kedua di Asia Tenggara, yaitu 39,5 %, setelah Timor Leste sebesar 42,2 %. Data statistik di Indonesia menunjukkan bahwa Indonesia menempati posisi ketiga sebagai perokok terbanyak setelah China (390 juta) dan India (144 juta). Perokok di kalangan orang dewasa sebanyak 63 % pada pria dan 4,5 % pada wanita. Sedangkan perokok di kalangan remaja sebanyak 24,1 % pada pria dan 4,0 % pada wanita (Kemenkes, 2018).

Asap rokok yang dihirup oleh perokok aktif maupun perokok pasif, mengakibatkan stress oksidatif yang ditandai dengan meningkatnya radikal bebas. Stress oksidatif adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas (prooksidan) dan antioksidan yang ditimbulkan oleh dua kondisi, yaitu kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas (Wibawa dkk., 2020). Paparan asap rokok dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif dan dapat memicu respon inflamasi pada paru. Paru-paru merupakan organ yang memiliki risiko paling tinggi mengalami kerusakan akibat terpapar polutan (radikal bebas) secara terus-menerus dan dapat menyebabkan perubahan patologis pada sel paru (Suryadinata, 2018).

Radikal bebas didefinisikan sebagai sebuah molekul atau bagian molekuler yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit atom. Istilah stres oksidatif juga didefinisikan sebagai suatu keadaan dimana terjadi peningkatan level *Reactive Oxygen Species* (ROS). Dalam jumlah normal, ROS berperan pada berbagai proses fisiologis seperti sistem pertahanan, biosintesis hormon, fertilisasi, dan sinyal seluler. Akan tetapi, peningkatan produksi ROS yang dikenal dengan kondisi stres oksidatif memiliki implikasi pada berbagai macam penyakit seperti hipertensi, aterosklerosis, diabetes, gagal jantung, stroke, dan penyakit kronis lainnya. Radikal bebas dapat diperoleh dari endogen maupun eksogen. Sumber endogen berasal dari metabolisme sel normal untuk menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Molekul ROS dihasilkan oleh sel aerobik (berupa anion superoksida, radikal hidroksil, dan hidrogen peroksida. Sedangkan sumber eksogen diperoleh dari polusi udara, asap kendaraan, asap rokok, dan lain-lain. Asap rokok menjadi faktor utama terjadinya peningkatan radikal bebas di dalam tubuh. Apabila dalam konsentrasi rendah sampai sedang, radikal bebas masih berada pada proses sel fisiologis. Namun, apabila sudah berada pada konsentrasi yang tinggi dapat menghasilkan modifikasi yang merugikan bagi komponen sel, seperti lipid, protein, dan DNA. Radikal bebas yang banyak terbentuk melebihi kapasitas antioksidan untuk menanggulangnya akan menyebabkan stres oksidatif (Bender, 2012).

Radikal asap rokok akan mengaktifkan makrofag alveolar sebagai pertahanan pertama. Aktivasi sel ini mengakibatkan terjadinya pelepasan faktor kemotaktik neutrofil, yaitu interleukin 8 dan leukotrien B₄. Pelepasan neutrofil dan makrofag akan menginisiasi pelepasan enzim protease. Enzim protease akan menghancurkan jaringan ikat di parenkim paru dan mengakibatkan terjadinya elastisitas berlebihan pada paru sehingga terjadi kerusakan dinding alveolar. Selain itu, asap rokok dapat menyebabkan terjadinya inaktivasi α 1-anti tripsin yang berperan sebagai anti protease yang dapat mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan antara protease dan antiprotease sehingga menyebabkan terjadinya degradasi jaringan paru (Manuella dkk., 2011). Parameter kerusakan berupa infiltrasi sel radang ditimbulkan karena radikal bebas asap rokok memicu respon imun dengan adanya infiltrasi leukosit terutama neutrofil pada pembuluh darah paru dinding alveolus. Penumpukan sel radang pada dinding alveolus menyebabkan terjadinya penebalan pada struktur dinding alveolus.

Antioksidan merupakan senyawa yang berguna mengatasi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas. Senyawa ini mampu memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu fungsinya sehingga dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Murray dkk., 2009). Antioksidan terbagi menjadi dua, yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan yang berasal dari tubuh, seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathion peroksidase (GPx). Antioksidan eksogen adalah antioksidan yang tidak berasal dari tubuh (asupan makanan dan minuman yang dikonsumsi setiap hari), seperti vitamin C, E, pro vitamin A, organosulfur, α -tocopherol, flavonoid, thymoquinone, statin, niasin, phycoyanin, dan lain-lain (Werddhasari, 2014). Untuk mencegah dampak buruk stres oksidatif maka diperlukan antioksidan yang dapat berasal dari luar tubuh (Mustofa, 2013).

Pada saat radikal bebas masuk ke dalam tubuh melalui asap rokok secara berlebihan maka akan membuat tubuh menjadi tidak sehat. Sehingga dibutuhkan antioksidan eksogen dari luar tubuh untuk melawan radikal bebas. Tumbuhan yang diperkirakan menjadi sumber potensial sebagai bahan teraprutik adalah bawang putih (*Allium sativum* L.) dimana telah banyak diteliti khasiat bawang putih sebagai antibakteri, antivirus, antijamur, antitrombotik, antibiotik, antikanker, antioksidan, immunomodulator, antiinflamasi, dan efek hipoglikemik (Prasonto *et al.*, 2017). Antioksidan yang dimiliki bawang putih dapat memberikan mekanisme pertahanan terhadap radikal bebas. Organosulfur dan senyawa fenolik sebagai antioksidan yang terdapat dalam kandungan bawang putih memegang peranan sangat penting untuk mencegah kerusakan sel dan organ dari proses oksidasi (Prasonto, 2017). Senyawa antioksidan yang lain adalah *allicin*, senyawa polar fenolik dan steroid (Gebreyohannes, 2013). Senyawa-senyawa yang berperan sebagai antioksidan dalam bawang putih adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki kemampuan bioaktivitas seperti senyawa fenolik, alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dan terpenoid. Nilai IC50 ($\mu\text{g/ml}$) yang menunjukkan aktivitas antioksidan bawang putih. Senyawa-senyawa inilah yang berperan sebagai antioksidan dengan menangkap radikal bebas dan kemudian melepas hidrogennya sehingga radikal bebas menjadi stabil (Mondong, dkk., 2015).

Reaksi pembentukan organosulfur dimulai dengan mengaktifkan enzim allinase bawang dan enzim tersebut akan bekerja jika terdapat air dalam bawang. Senyawa-senyawa golongan sulfida pada bawang putih akan terbentuk jika terdapat *alliin* sebagai prekursor senyawa organosulfur dan enzim allinase aktif. Enzim ini dapat aktif dan bekerja jika umbi bawang putih diberikan perlakuan seperti diiris atau dihaluskan sehingga terbentuk *allicin*. Adanya proses pengeringan akan menyebabkan senyawa *allicin* terdegradasi sehingga timbul lebih banyak senyawa sulfida lainnya. Hasil kromatogram dan spektrum massa bubuk bawang putih membuktikan bahwa bubuk bawang putih kering memiliki jenis senyawa sulfida yang lebih banyak

dibandingkan bawang putih segar. Senyawa-senyawa organosulfur tersebut memiliki peran masing-masing yang sangat penting dalam menghambat proliferasi atau kerusakan sel. Kandungan *allicin* bawang putih kering berkisar antara 1,99-2,65 kali *allicin* bawang putih segar. Kandungan *allicin* bawang putih kering lebih tinggi karena terjadinya pemekatan *allicin* yang dihitung dalam berat kering (Yuniarto, dkk., 2010). Komponen sulfida terbesar umbi bawang putih adalah *alliin* (S-allilsistein sulfoksida) yaitu sebesar 10 mg/g bawang putih segar atau 30 mg/g bawang putih kering (Ambarsari, dkk., 2013).

Bawang putih sebagai sumber antioksidan, menghambat pembentukan radikal bebas, mempertinggi enzim antioksidan seluler (superoxide dismutase, katalase, glutathione peroxidase), melindungi Low-Density Lipoprotein (LDL) dari oksidasi oleh radikal bebas serta menghambat aktivasi oksidan pendorong transkripsi faktor nuclear faktor kappa B (NF-kB) (Barnes, 2007). *Allicin* bawang putih diperoleh dari hidrolisis *alliin* oleh enzim allinase atau dengan melakukan ekstraksi pada suhu rendah menggunakan pelarut etanol. dapat mendorong aktivitas makrofag dan sel T, efektif dalam mengatasi infeksi virus pada saluran pernafasan atas, dan melindungi membran sel untuk mencegah rusaknya DNA (Holladay, 1997).

Pada penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa ekstrak bawang putih memiliki antioksidan dan terbukti dapat mempengaruhi gambaran histologi paru-paru yang diinduksi akrilamida (Daniela dan Brahmana, 2020). Berdasarkan hal tersebut penulis mempertimbangkan untuk melakukan penelitian mengenai “Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Gambaran Histologi Paru-Paru Mencit Yang Terpapar Asap Rokok”. Pemaparan asap rokok menggunakan rokok kretek dengan kandungan tar 39 mg dan nikotin 2,3 mg dan dilakukan selama 15 menit dalam waktu 35 hari. Penilaian kerusakan histologi paru mencit dilihat dari adanya destruksi septum alveolar dan infiltrasi sel radang (Hansel dan Barnes, 2004).

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Apakah pemaparan asap rokok menyebabkan kerusakan pada histologi paru-paru menciit?
2. Apakah pemberian ekstrak bawang putih memiliki efek protektif terhadap histologi paru-paru menciit yang dipapari asap rokok?

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek protektif dari ekstrak bawang putih terhadap gambaran histologi paru-paru menciit yang dipaparkan asap rokok.

1.4. Manfaat penelitian

Diharapkan penelitian ini mampu memberikan manfaat terkait: Ekstrak bawang putih memiliki efek protektif terhadap histologi paru-paru menciit yang dipaparkan asap rokok.

1.5. Kerangka Pemikiran

Rokok adalah salah satu hasil olahan tembakau dengan menggunakan bahan ataupun tanpa bahan tambahan. Selain salah satu olahan tembakau, rokok juga merupakan salah satu zat adiktif yang bila digunakan dapat mengakibatkan bahaya kesehatan bagi individu dan masyarakat. Dampak yang ditimbulkan akibat kebiasaan merokok dapat menyebabkan perubahan struktur dan fungsi saluran napas dan jaringan paru-paru. Saat seseorang merokok, nikotin dalam asap akan terhirup masuk ke paru-paru, kemudian ikut terserap oleh darah, dan selanjutnya akan menyebar ke seluruh tubuh (Palupi, 2006).

Asap rokok merupakan salah satu sumber utama radikal bebas. Radikal bebas dalam rokok apabila masuk ke dalam tubuh dalam jumlah yang tinggi dapat merusak jaringan tubuh, terutama jaringan paru-paru. Radikal bebas yang berasal dari asap rokok dapat dihambat oleh antioksidan untuk membantu pertahanan tubuh agar radikal bebas tersebut tidak sampai menimbulkan kerusakan pada paru-paru.

Antoksidan alami dapat diperoleh dari bawang putih (*Allium sativum* L.). Antioksidan yang dimiliki bawang putih ini tentunya tidak terlepas dari kandungan senyawa dari bawang putih yang memiliki aktivitas antioksidan, kandungan senyawa kimia bawang putih yang berperan sebagai antioksidan yaitu alkaloid, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid dan saponin yang dapat menurunkan peningkatan ROS akibat paparan asap rokok samping. Salah satu manfaat bawang putih adalah sebagai antioksidan. Kandungan senyawa tersebut didapatkan dengan melakukan proses penarikan senyawa dengan menggunakan pelarut tertentu. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol yang bersifat polar dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa aktif yang bersifat antioksidan pada suatu bahan.

1.6. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak bawang putih berpengaruh terhadap gambaran histologi paru-paru mencit yang diberi paparan asap rokok.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Mencit

Mencit secara biologis memiliki ciri umum, yaitu berupa rambut berwarna putih atau keabu-abuan dengan warna perut sedikit lebih pucat. Lama hidup mencit satu sampai tiga tahun, dengan masa kebuntingan yang pendek (18-35 hari) dan masa aktifitas reproduksi yang lama (2-14 bulan) sepanjang hidupnya.

Taksonomi mencit (*Mus musculus*) menurut (ITIS, 2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Animalia*
Filum : *Chordata*
Kelas : *Mamalia*
Ordo : *Rodentia*
Famili : *Muridae*
Genus : *Mus*
Spesies : *Mus musculus*

Mus musculus liar makan segala macam makanan (omnivorus) dan mau mencoba makan apapun makanan yang tersedia bahkan bahan yang tidak bisa dimakan. Makanan yang diberikan untuk *Mus musculus* biasanya berbentuk pelet secara tanpa batas (ad libitum). Air minum dapat diberikan dengan botol-botol gelas atau plastik dan *Mus musculus* dapat minum air dari botol tersebut melalui pipa gelas (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).



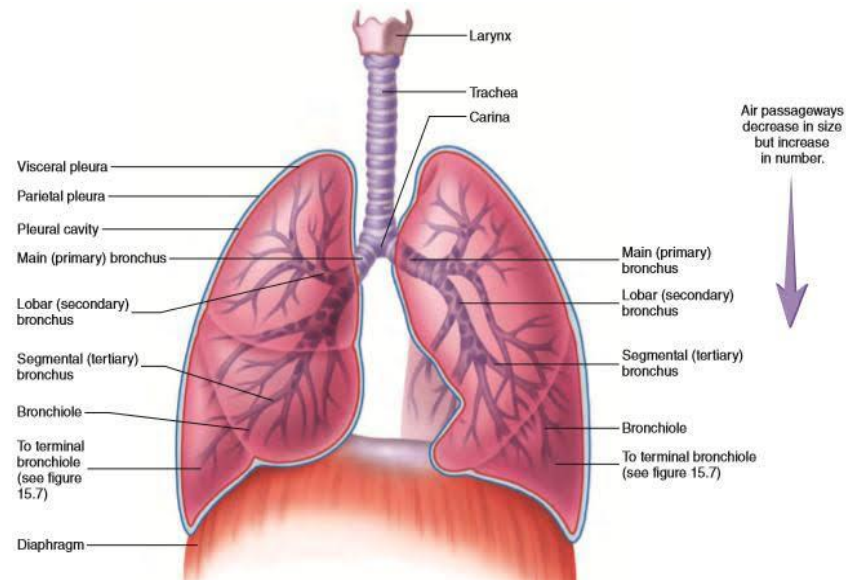
Gambar 1. Morfologi mencit (*Mus musculus*) (Medero, 2008).

2.2. Paru

2.2.1. Anatomi dan Fisiologi Paru

Paru-paru merupakan organ tubuh yang terletak di dalam rongga dada atau thorak di bagian atas, di bagian samping paru-paru dibatasi oleh otot dan rusuk, dan di bagian bawah dibatasi oleh diafragma yang berotot kuat. Paru-paru terdiri dari dua bagian yaitu paru kanan (*pulmo dexter*) dan paru kiri (*pulmo sinister*). Paru kanan memiliki tiga lobus sedangkan paru kiri memiliki dua lobus dan setiap lobus memiliki bronkus lobus. Pada ujung bronkus terdapat komponen mirip saku berdinding yang sangat tipis yaitu alveoli pulmonari. Pada kantung ini berlangsungnya pertukaran oksigen dan karbondioksida antara darah dan udara yang dihirup. Paru menempati sebagian besar volume rongga thoraks (dada) dan struktur-struktur lain di dada, yaitu jantung dan pembuluh-pembuluh terkaitnya, esofagus, timus, dan beberapa saraf (Sherwood, 2014).

Fungsi utama dari paru-paru adalah sebagai tempat pertukaran gas antara darah dan atmosfer. Pertukaran gas bertujuan untuk menyediakan oksigen bagi jaringan tubuh dan mengeluarkan karbon dioksida. Kebutuhan oksigen dan pengeluaran karbon dioksida berubah sesuai dengan tingkat aktivitas dan metabolisme seseorang (Jayanti, 2013).



Gambar 2. Anatomi Paru (Hadiarto, 2015).

2.2.2. Struktur Histologi Paru

Paru-paru bertekstur seperti spons dan tertutup epitelium sehingga permukaan totalnya jauh lebih besar daripada permukaan luar paru-paru itu sendiri (Eroschenko, 2003). Sistem pernapasan membentuk dua bagian, yaitu: bagian konduksi dan bagian respiratorik. Bagian konduksi terdiri atas rongga hidung, nasofaring, laring, trakea, dan bronki, bronkiolus, dan bronkiolus terminalis. Bagian respiratorik (tempat berlangsungnya pertukaran gas) 18 terdiri dari bronkiolus respiratorius, ductus alveolaris, dan alveoli. Sebagian besar bagian konduksi dilapisi oleh epitel bertingkat silindris bersilia (epitel respiratorik).

a. Bronkus Intrapulmonal

Bronkus intrapulmonal biasanya dikenali dari adanya beberapa lempeng tulang rawan yang letaknya berdekatan. Epitelnya adalah epitel bertingkat semu silindris bersilia dengan sel goblet. Sel goblet adalah sel penghasil lendir, berbentuk mirip piala. Sisa dindingnya terdiri dari lamina propria tipis, selapis tipis otot polos, submukosa dengan kelenjar bronkial, lempeng tulang rawan hialin, dan adventisia (Eroschenko, 2003).

b. Bronkiolus

Bronkiolus merupakan segmen saluran konduksi yang terdapat di dalam lobulus paru. Bronkiolus mempunyai silia dan di bagian ujung mempunyai epitelium berbentuk kubus bersilia. Selain silia, bronkiolus juga menghasilkan mukus yang berfungsi sebagai pembersih udara (Taufiqqurohman, 1998).

c. Bronkiolus Terminalis

Bronkiolus terminalis merupakan bagian konduksi saluran napas terkecil yang menampakkan mukosa berombak dengan epitel silindris bersilia dan sudah tidak dijumpai lagi sel goblet. Lamina propria tipis, selapis otot polos yang berkembang baik, dan masih ada adventisia. Pada bronkiolus terminalis terdapat sel kuboid tanpa silia, yang disebut sel clara. Fungsi sel ini adalah mensekresi surfaktan (Eroschenko, 2003).

d. Bronkiolus Respiratorius

Bifurkasi bronkiolus terminalis menghasilkan bronkiolus respiratorius berupa tabung pendek. Bronkiolus ini merupakan peralihan bagian konduksi ke bagian respirasi paru (Bloom and Fawcett, 2002). Mukosa bronkiolus respiratorius strukturnya sama dengan bronkiolus bagian terminal. Hanya di sini terdapat muara beberapa alveoli (Taufiqqurohman, 1998).

e. Duktus Alveolaris

Bagian terminal setiap bronkiolus respiratorius bercabang menjadi beberapa duktus alveolaris. Dinding duktus alveolaris biasanya dibentuk oleh sederetan alveoli yang saling bersebelahan (Eroschenko, 2003).

f. Alveolus

Jumlah alveolus mencapai 300 juta buah. Dengan adanya alveolus, luas permukaan seluruh alveolus diperkirakan mencapai 100 kali lebih luas daripada luas permukaan tubuh (Syamsuri, 2000). Alveoli dilapisi selapis sel alveolar gepeng dan sangat tipis (pneumosit tipe I). Sel ini letaknya rapat pada endotel pelapis kapiler dan membentuk sawar udara-darah untuk respirasi. Selain itu, alveoli juga mengandung sel alveolar besar (pneumosit tipe II).

2.3. Bawang Putih

Bawang putih merupakan tanaman herba parenial yang membentuk umbi lapis. Bawang putih (*Allium sativum*) termasuk genus *afflum* atau di Indonesia lazim disebut bawang putih. Bawang putih termasuk klasifikasi tumbuhan terna berumbi lapis. Bawang putih tumbuh berumpun, berdiri tegak setinggi 30-75 cm, mempunyai batang semu yang terbentuk dari pelepah-pelepah daun. Helaian daunnya mirip pita, berbentuk pipih dan memanjang. Akar bawang putih terdiri dari banyak serabut kecil. Setiap umbi terdiri dari sejumlah anak bawang (siung) yang setiap siungnya terbungkus kulit tipis berwarna putih. Bawang putih berkembang baik pada ketinggian tanah 200-250 meter dpl (Arisandi dan Andriani, 2008).



Gambar 3. Bawang Putih (*Allium sativum* L.) (Thampi *et al.*, 2015)

Klasifikasi ilmiah bawang putih menurut (Rahmawati, 2012) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Super division	: <i>Spermatophyta</i>
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Liliopsida</i>
Order	: <i>Liliales</i>
Family	: <i>Liliaceae</i>
Genus	: <i>Allium</i>
Species	: <i>Allium sativum</i> L.

2.3.1. Kandungan Bawang Putih

Kandungan farmakologi dari tiap zat bawang putih dilihat sebagai berikut:

Tabel 1. Kandungan Farmakologi Bawang Putih (*Allium sativum* L.)

No.	Senyawa Aktif	Efek Farmakologi
1.	Alil-metil-sulfida (AMS)	Antihipertensi, antibakteri
2.	Vinil-ditiin	Antioksidan, kardioprotektif
3.	Alistatin	Fungisida, antibiotik, neuroprotektif
4.	Allicin	Antitumor, antiradikal bebas, neuroprotektif
5.	Scordinin	Antikanker, antipotensif, antibakteri, antihiperkolesterol

Sumber: Syamsiah dan Tajudin, 2003

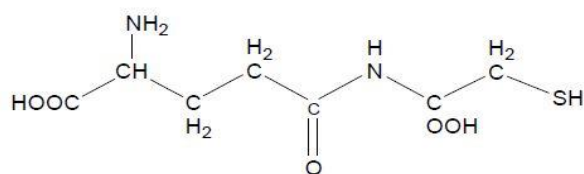
Kandungan kimia lain yang ada di dalam bawang putih per 100 gram pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi kimia bawang putih dalam 100 gram

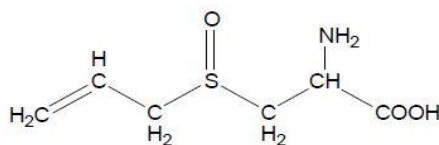
Bahan	Jumlah
Air	66,2 – 71,0 g
Kalori	95,0 – 122,0 kal
Protein	4,5 – 7,0 g
Lemak	0,2 – 0,3 g
Karbohidrat	23,1 – 24,6 g
Kalsium	26,0 – 42,0 mg
Fosfor	15,0 – 109,0 mg
Besi	1,4 – 1,5 mg
Kalium	346,0 – 377,0 mg

Sumber: Syamsiah dan Tajudin, 2003.

Bawang putih termasuk golongan tanaman herba parenial yang membentuk umbi lapis mengandung lebih dari 100 metabolit sekunder yang secara biologis sangat berguna (Yee, 2019). Salah satu bentuk senyawa aktif pada bawang putih adalah *allicin* (diallyl tiosulfonate atau diallyl disulfide) (Lisiswanti dan Haryanto, 2017), berpotensi sebagai antioksidan utama dalam umbi bawang putih yang dapat menekan produksi nitrat oksida (NO) melalui 2 jalur, yakni pada konsentrasi rendah (10 μ M), menghambat kerja enzim cytokine-induced NO synthase (iNOS) (Liu *et al.*, 2014). *Allicin* tidak ditemukan secara keseluruhan utuh dalam tanaman bawang putih, akan tetapi dibentuk oleh kerja enzim allin alkyl-sulfenate- lyase pada asam amino nonprotein S-allylcysteine S-oxide (*alliin*) (Feldberg, 1988). *Allicin* merupakan senyawa yang sangat tidak stabil, sehingga mudah terurai. Jika tidak diekstraksi dengan pelarut yang dapat menstabilkan senyawa tersebut (etanol, minyak, air), *allicin* akan terurai dalam hitungan menit dan akan habis dalam waktu kurang dari 2 jam. Sehingga efek yang ditimbulkan lebih ringan (Block, 1984).



(1) γ -glutamyl-S-alk(en)il-L-sistein



(2) *alliin*

Gambar 4. Struktur senyawa sulfida bawang putih (Song and Milner, 2001).

Senyawa γ -glutamyl-S-alk(en)il-L-sistein (1) merupakan senyawa intermediet biosintesis pembentukan senyawa organosulfur lainnya, termasuk *alliin* (2). Senyawa ini dibentuk dari jalur biosintesis asam amino. Dari γ -glutamyl-S-alk(en)il-L-sistein (1), reaksi enzimatik yang

terjadi akan menghasilkan banyak senyawa turunan, melalui dua cabang reaksi, yaitu jalur pembentukan thiosulfinat dan S-allyl sistein (SAC). Dari jalur pembentukan thiosulfinat akan dihasilkan senyawa allisin.

Selanjutnya dari jalur ini akan dibentuk kelompok allil sulfida, dithiin, ajoene, dan senyawa sulfur lain. Proses reaksi pemecahan γ -glutamyl-S-alk(en)il-L-sistein berlangsung dengan bantuan enzim γ -glutamyl-peptidase oksidase, serta akan menghasilkan *alliin*. Dari jalur pembentukan thiosulfinat akan dihasilkan senyawa *allicin* dengan bantuan enzim allinase. Selanjutnya dari jalur ini akan dibentuk kelompok allil sulfida, dithiin, ajoene, dan senyawa sulfur lain (Song and Milner, 2001).

Pada saat umbi bawang putih diiris-iris dan dihaluskan dalam proses pembuatan ekstrak, enzim allinase akan aktif dan menghidrolisis *alliin* yang menghasilkan senyawa intermediet asam alil sulfenat. Kondensasi asam tersebut menghasilkan *allicin*, asam piruvat, dan ion NH_4^+ . Dari 1 mg *alliin* ekuivalen dengan 0,45 mg *allicin* (Zhang, 1999). Asam amino *alliin* akan segera berubah menjadi *allicin* begitu umbi diremas (Dreidger, 1996). *Allicin* merupakan prekursor pembentukan allil sulfida, misalnya diallil disulfida (DADS), diallil trisulfida (DATS), diallil sulfida (DAS), metallil sulfida, dipropil sulfida, allil merkaptan, allil metil sulfida dan allil sulfida.

Bawang Putih (*Allium sativum*) memiliki konsentrasi senyawa sulfur yang lebih tinggi daripada spesies *Allium* lainnya, yang bertanggung jawab baik untuk bau tajam bawang putih dan banyak efek obat. Salah satu zat aktif utama adalah senyawa biologis *allicin* (diallyl thiosulfinate atau diallyl disulfide) menghasilkan bau bawang putih (aroma) yang khas. Aroma khas dihasilkan ketika senyawa sulfur dan alisin bereaksi dengan enzim allinase. *Allicin* dianggap sebagai antioksidan utama, namun studi terbaru menunjukkan bahwa senyawa lain mungkin memainkan peran yang lebih, seperti senyawa polar fenolik dan steroid, yang menawarkan berbagai sifat farmakologi tanpa bau dan juga panas yang stabil (Gebreyohannes, 2013).

2.3.2. Manfaat-Manfaat Bawang Putih

Berdasarkan penelitian-penelitian ilmiah, bawang putih dapat digunakan sebagai obat tradisional karena memiliki berbagai macam khasiat. Bawang putih memiliki khasiat sebagai antibakteri, antifungi, antihipertensi, antioksidan (Ebadi, 2006). Senyawa bioaktif utama bawang putih adalah *alliin*, alisin, ajoene, kelompok allil sulfida, dan allil sistein. Efek samping dan toksisitas bawang putih tidak ditemukan sehingga, aman untuk dikonsumsi (Hernawan, 2003).

a. Meningkatkan Daya tahan tubuh

Bawang putih mengandung gizi yang sangat banyak. Kandungan tersebut beserta alisin mampu meningkatkan stamina. Scordinin merupakan senyawa kompleks yang berfungsi sebagai antioksidan, berperan dalam memberikan ketahanan tubuh dan pertumbuhannya.

b. Antikanker

Senyawa organosulfur yang mempunyai aktivitas antikanker adalah *allicin*, ajoene, DAS, DATS, DADS, S-allil sistein (SAC), dan S-allilmerkaptosistein (SAMC) (Knowles dan Milner, 2001). *Allicin* mampu menghambat pembentukan nitrosamin atau suatu karsinogen kuat dalam tubuh (Pizorno and Murray, 2000).

c. Antioksidan

Organosulfur dan senyawa fenolik sebagai antioksidan yang terdapat dalam kandungan bawang putih memegang peranan sangat penting untuk mencegah kerusakan sel dan organ dari proses oksidasi (Gawad *et al.*, 2014). Senyawa fenolik dari bawang putih memiliki kelompok berjumlah satu atau lebih yaitu sebagai donor proton hidrogen dan menetralkan radikal bebas. Antioksidan melindungi tubuh dari radikal bebas dan efek Reactive Oxygen Species (ROS). Reactive Oxygen Species (ROS) seperti anion superoksida (O_2^-), hidroksil ($-OH$), peroksil (ROO^-), radikal alkoksil ($RO\cdot$), dan hidrogen peroksida (H_2O_2) inilah yang akan menyerang protein,

lipid dan atau membuat kerusakan DNA sehingga menyebabkan penyakit. Aktivitas antioksidan ekstrak umbi bawang putih, antara lain peningkatan enzim protektif, yaitu glutathion superoksida dismutase, katalase, glutathion peroksidase pada sel endotel pembuluh darah; peningkatan sitoproteksi terhadap radikal bebas dan senyawa asing, seperti benzopyrene, karbon tetraklorida, acetaminophen, isoproterenol, doxorubicin, dan adrymiacin; penghambatan peroksidasi pada lemak jantung, hati, dan ginjal.

2.4. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas. Senyawa ini mampu memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu fungsinya sehingga dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Murray dkk., 2009). Hal yang harus diperhatikan oleh setiap organisme tentang antioksidan adalah, sebaiknya komponen tersebut diasup setiap hari. Dengan demikian, status antioksidan dalam tubuh selalu terjaga dan mampu mencegah pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2007).

Tubuh manusia secara alami memproduksi antioksidan endogen yang berasal dari dalam tubuh yang berfungsi sebagai donor elektron pada ROS. Secara alamiah, di dalam sel tubuh terdapat berbagai antioksidan baik enzimatis maupun nonenzimatis yang berfungsi sebagai pertahanan organel-organel sel dari radikal bebas. Antioksidan enzimatis antara lain: SOD, CAT, dan GPx (Wibawa dkk., 2020).

Enzim SOD yang terdapat pada sitosol dan mitokondria akan mengubah radikal superoksida (O_2^-) yang dihasilkan dari respirasi serta yang berasal dari lingkungan menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang masih bersifat reaktif. Kemudian, peroksida dikatalisis oleh enzim CAT dan GPx. Katalase mampu mengubah satu molekul H_2O_2 menjadi substrat elektron donor dan akseptor,

sehingga 2 molekul H_2O_2 menjadi 2 H_2O dan O_2 . Enzim glutathion peroksidase (GPx) mengkatalisis destruksi H_2O_2 dan lipid hidroperoksida dengan menggunakan glutathion tereduksi (GSH), melindungi lipid membran dan hemoglobin dari serangan oksidasi oleh H_2O_2 sehingga mencegah terjadinya hemolisis yang disebabkan oleh serangan peroksida. Molekul GSH akan dioksidasi menjadi GS-SG. Agar GSH terus tersedia untuk membantu kerja enzim GPx, maka GS-SG ini harus direduksi kembali menjadi GSH oleh enzim glutathion reductase (GRed). H_2O_2 yang tidak dikonversi menjadi H_2O , akan membentuk radikal hidroksil yang bersifat lebih reaktif dan berbahaya karena dapat menyebabkan kerusakan sel melalui peroksidasi lipid, protein, dan deosiribonukleat (DNA). Bila antioksidan endogen tidak mencukupi, maka diperlukan antioksidan eksogen (Werdhasari, 2014).

Antioksidan eksogen adalah antioksidan yang tidak berasal dari tubuh. Antioksidan ini dapat berasal dari asupan makanan dan minuman yang dikonsumsi setiap hari. Antioksidan eksogen antara lain vitamin C, E, pro vitamin A, organosulfur, α -tocopherol, flavonoid, thymoquinone, statin, niasin, phycoyanin, dan lain-lain (Werdhasari, 2014).

2.5. Rokok

Beberapa bahan kimia yang terdapat di dalam rokok di antaranya nikotin, tar, karbon monoksida (CO), dan berbagai logam berat.

a. Nikotin

Nikotin (β -pyridill- α -N-methyl pyrrolidine) merupakan senyawa organik yang terkandung dalam daun tembakau (Tirtosastro dkk., 2012). Nikotin dapat menstimulasi pelepasan acetylcholine, serotonin, hormon-hormon pituitary, dan epinephrine. Selain itu nikotin juga dapat menstimulasi pelepasan dopamine dan norepinephrine. Apabila senyawa ini dihisap, dapat menimbulkan rangsangan psikologis bagi perokok dan membuat

ketergantungan. Ketika seseorang telah mengalami ketergantungan pada nikotin, maka saat withdrawal (putus zat), individu dapat merasa tertekan, cemas, sulit mengendalikan diri, mudah marah, putus asa, depresi, dll. Terdapat korelasi positif antara kadar nikotin dengan tingkat rasa pada hisapan rokok dimana semakin tinggi kadar nikotin, maka semakin dalam rasa isapnya. Begitu juga sebaliknya, semakin rendah kadar nikotin maka rasa isapnya semakin hambar (Liem, 2011).

b. Tar

Tar merupakan zat karsinogenik. Tar biasanya masuk ke dalam rongga sebagai uap padat. Setelah suhu menurun, uap tersebut akan membentuk endapan berwarna coklat pada permukaan gigi. Kadar tar pada rokok sebesar 24-45 mg dan tar yang mengendap sebesar 3-40 mg per batang rokok (Herawati, 2014).

c. Karbon Monoksida (CO)

Dalam keadaan normal, hemoglobin dalam sel-sel darah merah berikatan dengan oksigen yang berguna sebagai respirasi sel. Namun, ketika merokok, karbon monoksida memiliki kecenderungan berikatan kuat dengan hemoglobin dalam sel-sel darah merah. Hal ini mengakibatkan terganggunya proses respirasi sel. Kadar gas karbon monoksida dalam darah perokok dapat mencapai 4-15 %. Sedangkan normalnya, kadar karbon monoksida pada bukan perokok kurang dari 1 % (Inayatillah dkk., 2014).

Asap rokok dapat dibedakan menjadi dua, yaitu asap utama (*mainstream smoke*) atau asap yang dihisap oleh si perokok dan asap samping (*sidestream smoke*) yang merupakan asap yang terus menerus keluar dari ujung rokok (Batubara dkk., 2013). Asap utama memiliki hasil pembakaran lenih sedikit dibandingkan dengan asap sampingan. Asap sampingan memiliki kandungan tar dan nikotin 3 kali lebih besar, karbon monoksida 5 kali lebih besar, nikel 3 kali lebih besar, ammonia 46 kali lebih besar, nitrosamine (zat penimbul kanker) 50 kali lebih besar dibandingkan asap utama (Talumewo dkk., 2012).

2.6. Radikal Bebas

Meningkatnya asupan asap rokok dapat menyebabkan kerusakan jaringan paru-paru (Arkeman, 2006). Asap rokok mengandung radikal bebas, radikal bebas akan merusak molekul yang elektronnya ditarik oleh radikal bebas tersebut. Hal ini menyebabkan terjadinya kerusakan sel, gangguan fungsi sel, bahkan kematian sel. Radikal bebas disebut juga sebagai oksidan, merupakan molekul, atom, atau gugus yang memiliki 1 atau lebih electron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya sehingga sangat reaktif. Radikal bebas paling banyak dalam tubuh adalah radikal bebas turunan oksigen ROS *dan reactive nitrogen species* (RNS). *Reactive oxygen* terdiri dari superoksida ($*O_2$), hidroksil ($*OH$), hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (1O_2), oksida nitrit (NO^*), peroksinitrit ($ONOO^*$) dan asam hipoklorit ($HOCl$). Radikal bebas yang paling banyak adalah superoksida. Superoksida akan diubah menjadi H_2O_2 . Hidrogen akan diubah menjadi $*OH$. Radikal hidroksil ini akan menyebabkan peroksidasi lemak pada membrane sel sehingga mengalami kerusakan (Parwata, 2015).

2.7. Hubungan Asap Rokok dengan Paru

Mekanisme kerusakan paru akibat rokok adalah melalui radikal bebas yang dikeluarkan oleh asap rokok. Radikal bebas yang terdapat di dalam asap rokok dalam jumlah yang sangat tinggi dan memiliki sifat yang tidak stabil sehingga dapat merusak jaringan. Radikal bebas merupakan atom tunggal atau berkelompok yang sedikitnya mempunyai satu orbit terluar yang mempunyai satu elektron tunggal (tidak berpasangan) di mana seharusnya mempunyai elektron berpasangan (Iorio, 2007). Asap rokok yang dihirup masuk ke dalam tubuh melalui sistem pernapasan. Sehingga ketika asap rokok masuk ke dalam tubuh, organ yang terkena dampak secara langsung adalah paru-paru (Idrus, 2018). Merokok dapat menyebabkan perubahan pada struktur jaringan paru dan fungsi saluran pernapasan dan mengakibatkan menurunnya fungsi faal paru. Asap rokok dianggap sebagai antigen oleh tubuh sehingga mengakibatkan

respon inflamasi. Asap rokok merupakan radikal bebas dan apabila masuk secara berlebihan ke dalam tubuh dapat mengakibatkan terjadinya stress oksidatif dan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid dapat mengakibatkan kerusakan sel dan inflamasi (Anni dkk., 2012).

Paparan asap rokok akan mengaktivasi makrofag alveolar dan muncul respon sel epitel saluran pernapasan berupa peningkatan IL-8, TNF- α , macrophage inflammatory protein-1 α (MIP1- α) dan monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) untuk membentuk faktor kemotaktik kemudian terjadi infiltrasi neutrofil. Pelepasan neutrofil dan makrofag akan menginisiasi pelepasan enzim protease superoxide anion (O_2^-) bersama dengan mettaloproteinase (MMPs) dan neutrofil elastase, yang dapat menyebabkan terjadinya inaktivasi antiprotease, kerusakan epitel saluran pernapasan, hipersekresi mukus, fibrosis, peningkatan influx neutrofil dan mediator inflamasi ke jaringan paru (Kumar dkk., 2013). Infiltrasi sel inflamasi tersebut juga dapat memperpanjang terjadinya inflamasi paru sehingga menjadi kronis dan progresif. Sel mediator inflamasi lainnya berupa peningkatan jumlah limfosit T yang di dominasi oleh CD8+ dapat ditemukan pada jaringan paru dan kelenjar limfe paratrakeal. Sel sitotoksik CD8+ beserta IL-4 dan IL-3 menyebabkan hipersekresi mukus dan juga destruksi parenkim paru dengan melepaskan perforin (Kumar dkk., 2013).

Enzim protease akan menghancurkan jaringan ikat di parenkim paru dan mengakibatkan terjadinya elastisitas berlebihan pada paru sehingga terjadi kerusakan dinding alveolar. Hal ini dapat mengakibatkan terjadinya emfisema dan obstruksi saluran pernapasan (akibat hipersekresi mukus) (Saminan, 2016). Selain itu, asap rokok dapat menyebabkan terjadinya inaktivasi α 1-anti tripsin yang berperan sebagai anti protease yang dapat mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan antara protease dan antiprotease sehingga menyebabkan terjadinya degradasi jaringan paru (Manuella dkk., 2011).

Makrofag alveolar merupakan perlawanan terpenting untuk melawan masuknya benda asing ke dalam paru. Makrofag tersebut akan mengangkut partikel debu dan mikroorganisme dan dibuang oleh mucociliary clearance. Makrofag yang terstimulasi akan menginaktifkan α 1-anti tripsin sebagai inhibitor pada paru. Kemudian, neutrofil elastase juga dapat merusak struktur protein paru dan menyebabkan destruksi septum alveolar (Price dkk., 2012). Mucociliary clearance terdiri atas lapisan mukus, refleks batuk, makrofag alveolar, dan penurunan gerakan silia. Lapisan mukus mengandung barier pertahanan, yaitu IgA, PMN, interferon, dan antibodi spesifik. Paparan asap rokok secara terus-menerus lama kelamaan akan mengakibatkan terjadinya kerusakan mucociliary clearance (Kumar dkk., 2013).

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

3.1.1. Waktu

Kegiatan Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – Mei 2021. Dengan rincian 7 hari aklimatisasi, 35 hari pemberian perlakuan, 7 hari pembedahan dan koleksi paru, pembuatan dan pembacaan preparat histologi paru.

3.1.2. Tempat

1. Pemeliharaan dan Pemberian Perlakuan

Pemeliharaan dan pemberian perlakuan berlokasi di Unit Pengelolaan Hewan Percobaan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.

2. Pembedahan dan Koleksi Paru

Proses pembedahan dan koleksi paru berlokasi di Laboratorium Zoologi FMIPA Universitas Lampung.

3. Pembuatan Preparat dan Pembacaan Histologi Paru

Proses pembuatan preparat dan pemeriksaan histologi dilaksanakan di Laboratorium Patologi Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Regional III Provinsi Lampung.

3.2. Subjek Penelitian

3.2.1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan berumur 5 minggu yang diperoleh dari Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Regional III Provinsi Lampung.

3.2.2. Sampel

Sampel penelitian adalah 30 ekor mencit yang diperoleh dengan teknik *consecutive random sampling* yang diberi perlakuan tertentu dan dalam rentang waktu tertentu. Besar sampel dapat dihitung dengan metode rancangan acak lengkap dengan menggunakan rumus Frederer.

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

Keterangan:

t = jumlah kelompok percobaan

n = jumlah sampel setiap kelompok

Pada penelitian ini dibuat 3 jenis perlakuan, sehingga diperoleh estimasi besar sampel sebanyak:

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

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

$$2n - 2 \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 8,5$$

Berdasarkan penghitungan sampel di atas, maka sampel yang digunakan tiap perlakuan sebanyak 9 mencit, untuk mengantisipasi terjadinya *drop out* eksperimen maka dilakukan koreksi menggunakan rumus:

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

Keterangan:

N = besar sampel koreksi

n = besar sampel awal

f = perkiraan proporsi drop out sebesar 10%

$$\begin{aligned} N &= 9/(1-0,1) \\ &= 9/0,9 \\ &= 9+1 \\ &= 10 \end{aligned}$$

Jadi, sampel yang digunakan pada penelitian ini pada tiap perlakuan berjumlah 10 ekor mencit (*Mus musculus*). Maka, jumlah keseluruhan hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan terbagi menjadi 3 jenis perlakuan, yaitu:

- a. Kelompok K0: kontrol positif yaitu kelompok tanpa diberi paparan asap rokok dan tidak diberi ekstrak bawang putih.
- b. Kelompok K1: kontrol negatif yaitu kelompok mencit yang diberi paparan asap rokok dan diberi akuades.
- c. Kelompok P1: kelompok mencit yang diberi paparan asap rokok dan diberi ekstrak bawang putih dengan dosis 1000 mg/kgBB setiap hari.

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang mencit, wadah makan, botol minum mencit, Peralatan yang digunakan untuk uji *in-vivo* pada mencit adalah sonde lambung, timbangan digital, spuit 50 ml, selang rokok. Peralatan yang digunakan untuk ekstraksi kandungan bawang putih adalah blender, *beaker glass*, batang pengaduk, kertas saring, *rotary evaporator*, oven, shaker dan botol sampel. Alat bedah hewan percobaan (skalpel, pinset, gunting, jarum, dan meja lilin), pot organ, seperangkat alat pembuatan preparat histologi, kaca objek, *cover glass*, mikroskop binokuler/cahaya, masker dan handscoon.

3.3.2. Bahan-bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bawang putih, mencit (*Mus musculus*) jantan, rokok kretek, korek api, sekam kandang mencit, pelet komersial, air ledengan, akuades, cloroform, alkohol, formalin, parafin, 1% Na-CMC, xylol, etanol, dan pewarna Hematoxylin Eosin (HE).

3.4. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, yaitu penelitian yang menggunakan perlakuan untuk memanipulasi variabel pada subjek penelitian (Budiarto *et al.*, 2017).

3.5. Identifikasi Variabel

3.5.1. Variabel Bebas

- a. Asap rokok
- b. Ekstrak bawang putih dengan dosis 1000 mg/kgBB mencit. Skala pengukuran untuk variabel bebas adalah skala nominal.

3.5.2. Variabel Terikat

Variabel terikat adalah gambaran histologi paru mencit (*Mus musculus*).

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1. Aklimatisasi Hewan Percobaan

Hewan percobaan dibuatkan kandang, diberi tempat minum dan wadah makan. Mencit dipuaskan selama 20 jam, dimasukkan ke dalam kandang kolektif suhu 20-25°C. Mencit dibagi secara acak ke dalam 3 kelompok dengan masing-masing berisi 10 ekor. Dilakukan penimbangan dan penandaan pada mencit dengan memberi warna pada ekor mencit. Pada bagian atas bak diberi ram kawat untuk mencegah mencit keluar dari kandang. Pakan diberikan pada pagi hari pukul 07.00 WIB dan sore hari

pukul 16.00 WIB. Air minum diberikan secukupnya. Kebersihan kandang dilakukan setiap 3 hari dengan cara mengganti sekam. Tujuan aklimatisasi adalah agar hewan dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Selama 7 hari aklimatisasi mencit diberi pakan standar dan minum secara *adlibitum*.

3.6.2. Pengamatan Berat Badan

Berat badan mencit diamati setiap 4 hari sekali, terhitung pada hari pertama setelah aklimatisasi. Pengamatan dilakukan sebanyak 8 kali yaitu pada hari perlakuan ke-1; ke-5; ke-10; ke-15; ke-20; ke-25; ke-30 dan pada hari sebelum pembedahan yaitu hari ke-35.

3.6.3. Penentuan Dosis dan Pembuatan Ekstrak Bawang Putih

Dalam penelitian, dosis antara 300 mg dan 1.500 mg bawang putih telah dipelajari. WHO merekomendasikan 300 miligram hingga 1.000 miligram ekstrak bawang putih, atau beberapa formulasi lain yang menghasilkan setara dari 2 miligram hingga 5 miligram *allicin* setiap hari. Bawang putih dikupas dan dicuci, kemudian dirajang. Bawang putih yang sudah dirajang kemudian diblender sampai halus, di timbang seberat 2 kg lalu di maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 6 liter dengan perbandingan (1:3), kemudian diaduk menggunakan batang pengaduk, ditutup selama 3 x 24 jam diletakkan di tempat yang terhindar dari cahaya matahari hingga diperoleh maserat. Hasil maserasi selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas saring dan diambil filtratnya. Filtrat yang telah didapatkan akan dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 50° C. Selanjutnya pembuatan pasta bawang putih menggunakan oven dengan suhu 50° C. Ekstrak bawang putih didinginkan ke dalam lemari pendingin untuk memperoleh pasta. Pasta bawang putih tersebut diencerkan dengan akuades dan 1% Na-CMC sehingga diperoleh konsentrasi 1000 mg/kgBB untuk diberikan ke mencit percobaan (Nawangsih, dkk., 2015).

Penelitian ini menggunakan proses pembuatan ekstrak bawang putih secara maserasi dengan pelarut etanol. Pemilihan etanol sebagai pelarut karena kemampuan etanol yang lebih baik dalam menarik bahan aktif, dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder di dalam ekstrak dibandingkan dengan pelarut lainnya, mudah dan relatif murah. (Durairaj, 2009). Etanol mempunyai gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat non polar. Etanol dapat bercampur dengan segala perbandingan panas yang diperlukan untuk perekatan yang lebih sedikit. Etanol adalah pelarut yang bersifat polar, sehingga dapat mengekstrak senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida yang menawarkan berbagai sifat farmakologi tanpa bau dan juga panas yang stabil (Gebreyohannes, 2013).

3.6.4. Pemaparan Asap Rokok

Setelah masa adaptasi terlewati, dilakukan pemaparan asap rokok kretek non filter kepada mencit kelompok K2 dan P1 mendapatkan paparan asap rokok selama 15 menit setiap hari di pagi hari pukul 08.00 WIB selama 35 hari. Pemaparan hewan uji menggunakan rokok kretek non filter dengan kandungan 39 mg tar dan 2,3 mg nikotin. Rokok dibakar dan dikeluarkan asapnya dengan bantuan *air pump* hasil modifikasi dengan spuit dan selang. Mencit yang mendapat perlakuan paparan asap rokok dimasukkan *smoking chamber* dengan melubangi masing-masing sisi dengan ukuran 1x1 cm. Lubang dibuat lebih banyak untuk mencegah terjadinya hipoksia. Lalu, diberi lubang sebagai tempat memaparkan asap rokok. Pemaparan asap rokok pada mencit dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Wadah pemaparan asap rokok

3.6.5. Pemberian Ekstrak Bawang Putih

Pemberian ekstrak bawang putih dilakukan dengan cara mencekakkan langsung ke lambung dengan menggunakan sonde lambung dosis sebanyak 1000 mg/kgBB. Ekstrak bawang putih diberikan sekali sehari selama 35 hari dengan menggunakan sonde. Menurut penelitian sebelumnya didapatkan dosis ekstrak bawang putih efektif, yaitu 1000 mg/KgBB. Oleh karena itu peneliti menggunakan dosis pemberian ekstrak bubuk bawang putih majemuk dosis 1000 mg/kgBB paling efektif dalam menghambat proliferasi sel paru-paru karena mengandung senyawa sulfida terbanyak. Pada pembuatan larutan ditambahkan 1% Na-CMC yang berfungsi sebagai penstabil dan larutan dibuat tergantung pada berat badan rata-rata mencit dan volume pemberian, maka sebelum pemberian larutan dilakukan penimbangan berat badan dan volume pemberian larutan pada tiap mencit adalah 0,4 ml (Daniela dan Brahmana, 2020).

Jumlah keseluruhan ekstrak bawang putih yang digunakan selama penelitian yaitu:

Diketahui: Dosis ekstrak etanol bawang putih yang digunakan = 1000 mg/kgBB

Berat rata-rata mencit = 30 gram

Mencit yang dicekok = 10 mencit

Volume pemberian/mencit = 0,4 ml

Dicari: Berat ekstrak bubuk bawang putih (mg)

Penyelesaian:

$$\text{a. Dosis yang diberikan} = \frac{30 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 1000 \text{ mg} = 30 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \text{b. Volume yang dibutuhkan} &= 0,4 \text{ ml} \times 10 \text{ mencit} \times 35 \text{ hari} \\ &= 140 \text{ ml (pelarut aquades)} \end{aligned}$$

$$\text{c. Ekstrak yang dibutuhkan dalam 140 ml} = \frac{140 \text{ ml}}{0,4 \text{ ml}} \times 30 \text{ mg} = 10.500 \text{ mg}$$

Sehingga dalam 0,4 ml ekstrak bawang putih dengan dosis 1000 mg/kgBB mengandung ekstrak bawang putih sebanyak 35 mg.

Pembuatan larutan => Dilarutkan 10.500 mg ekstrak bubuk bawang putih + 1% Na-CMC (1400 mg) dalam 140 ml akuades hangat.

3.6.6. Pembedahan dan Koleksi Paru

Pada Hari ke-36 tiap ekor mencit pada masing-masing kelompok dilakukan teminasi dengan diberikan cloroform. Setelah mencit dipastikan mati, hewan ditempatkan dengan punggung menempel pada meja atau Styrofoam. Tiap kaki difiksasi dengan jarum. Membuat sayatan disepanjang linea alba mulai dari region mentalis hingga ketepi pectin anterior ossis pubis. Kemudian kulit dipreparir hingga dapat dipatahkan ke samping. Pembukaan rongga dada, tulang rusuk terakhir dipotong kedepan menuju arkus tulang sternum. Pematangan dilakukan pada sisi kanan maupun sisi kiri. Pengeluaran organ dada dilakukan insisi, paru-paru yang dikeluarkan dalam satu kesatuan.

3.6.7. Pembuatan Preparat Histologi

Bagian paru yang diambil adalah paru kanan. Digunakan paru sebelah kanan dikarenakan secara anatomi klinisnya lebih buruk, serta paru kanan memiliki lobus yang lebih banyak sehingga mempermudah pengamatan histologi. Metode pembuatan preparat histologi pada organ paru dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Regional III Provinsi Lampung. Pembuatan preparat histologi dilakukan dalam beberapa tahapan, yaitu:

a. *Fixation*

Spesimen berupa potongan organ paru yang telah dipotong secara representatif kemudian segera difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam. Selanjutnya, dilakukan pencucian dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali

b. Pematangan jaringan

Paru yang berada dalam larutan formalin ditiriskan dan dipotong menggunakan scalpel dengan ketebalan 0,3-0,5 mm. Kemudian disusun dalam *tissue cassette*.

c. Dehidrasi

Proses dehidrasi dilakukan dengan cara merendam potongan jaringan dalam alcohol 70%, 80%, 90%, Etanol I, dan Etanol II secara berurutan dalam stoples selama dua jam.

d. Clearing

Sisa alcohol dibersihkan dengan xylol I dan xylol II masing-masing selama 1 jam untuk setiap 1 kali pembersihan.

e. Vakum

Proses selanjutnya adalah penghilangan udara dari jaringan menggunakan mesin vakum selama 30 menit. Kemudian *tissue cassette* dikeluarkan dan disimpan pada temperatur 60°C.

f. Pencetakan blok parafin

Jaringan dimasukkan ke dalam cetakan yang terbuat dari stainless steel dan disesuaikan posisinya. Kemudian dituangkan parafin cair hingga jaringan terendam dan parafin dibiarkan membeku. Selanjutnya blok parafin dilepas dari cetakan dan disimpan dalam suhu -20°C sebelum dilakukan pemotongan.

g. Pemotongan blok jaringan

Blok parafin yang mengandung jaringan dipotong dengan ketebalan 3-4-5 μm menggunakan mikrotom dengan *disposable knife*. Kemudian hasil potongan diapungkan dalam air hangat yang bersuhu 60°C selama 24 jam untuk merenggangkan agar jaringan tidak terlipat.

h. Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin

Preparat yang akan diwarnai diletakkan dalam rak khusus dan dicelupkan secara berurutan dalam waktu sebagai berikut:

Dalam larutan xylol I selama 5 menit, xylol II selama 5 menit dan xylol III selama 5 menit. Dilakukan dehidrasi dalam:

- Ethanol absolut selama 1 jam,
- alcohol 96% selama 2 menit,
- alcohol 70% selama 2 menit,
- air selama 10 menit.

Dilakukan pulasan inti dengan Hematoksilin selama 15 menit dan

dibilas dengan air mengalir. Dilakukan pewarnaan dengan Eosin selama maksimal 1 menit. Kemudian didehidrasi dengan alkohol 70% selama 2 menit, alkohol 96% selama 2 menit, dan alkohol absolut selama 2 menit. Penjernihan dengan xylol I selama 2 menit dan xylol II selama 2 menit.

i. *Mounting*

Slide ditempatkan di atas kertas tisu pada kertas datar dan ditetesi dengan bahan mounting, yaitu *canada balsem*. Kemudian, ditutup dengan *cover glass* dan cegah terbentuknya gelembung udara.

j. Slide dibaca dengan mikroskop

Selanjutnya diperiksa di bawah mikroskop cahaya (Muntha, 2001).

3.6.8. Pengamatan Histologi

Gambaran mikroskopis jaringan paru dilihat dengan penampang melintang paru mencit perbesaran 400x pada 5 lapang pandang dan diamati destruksi septum alveolar dan infiltrasi sel radang (Hansel dan Barnes, 2004). Skoring dilakukan dengan kriteria sebagai berikut.

a. Skoring destruksi septum alveolar

SKOR 0 : tidak ada perubahan histologis

SKOR 1 : terjadi kerusakan pada kurang dari sepertiga lapang pandang

SKOR 2 : terjadi kerusakan pada sepertiga hingga duapertiga lapang pandang

SKOR 3 : terjadi kerusakan pada lebih dari duapertiga lapang pandang

b. Skoring infiltrasi sel radang

SKOR 0 : tidak ada perubahan histologis

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

SKOR 2 : infiltrasi sel radang kerusakan pada sepertiga hingga duapertiga lapang pandang

SKOR 3 : infiltrasi sel radang pada lebih dari duapertiga lapang pandang

Nilai skor dari kedua parameter kemudian dirataratakan, hasil rata-rata tersebut dikali 100% untuk mendapatkan nilai persen derajat kerusakannya.

Kemudian hasil presentase derajat kerusakan paru yang telah didapat diklasifikasikan berdasarkan tingkat kerusakan paru yang terdiri dari:

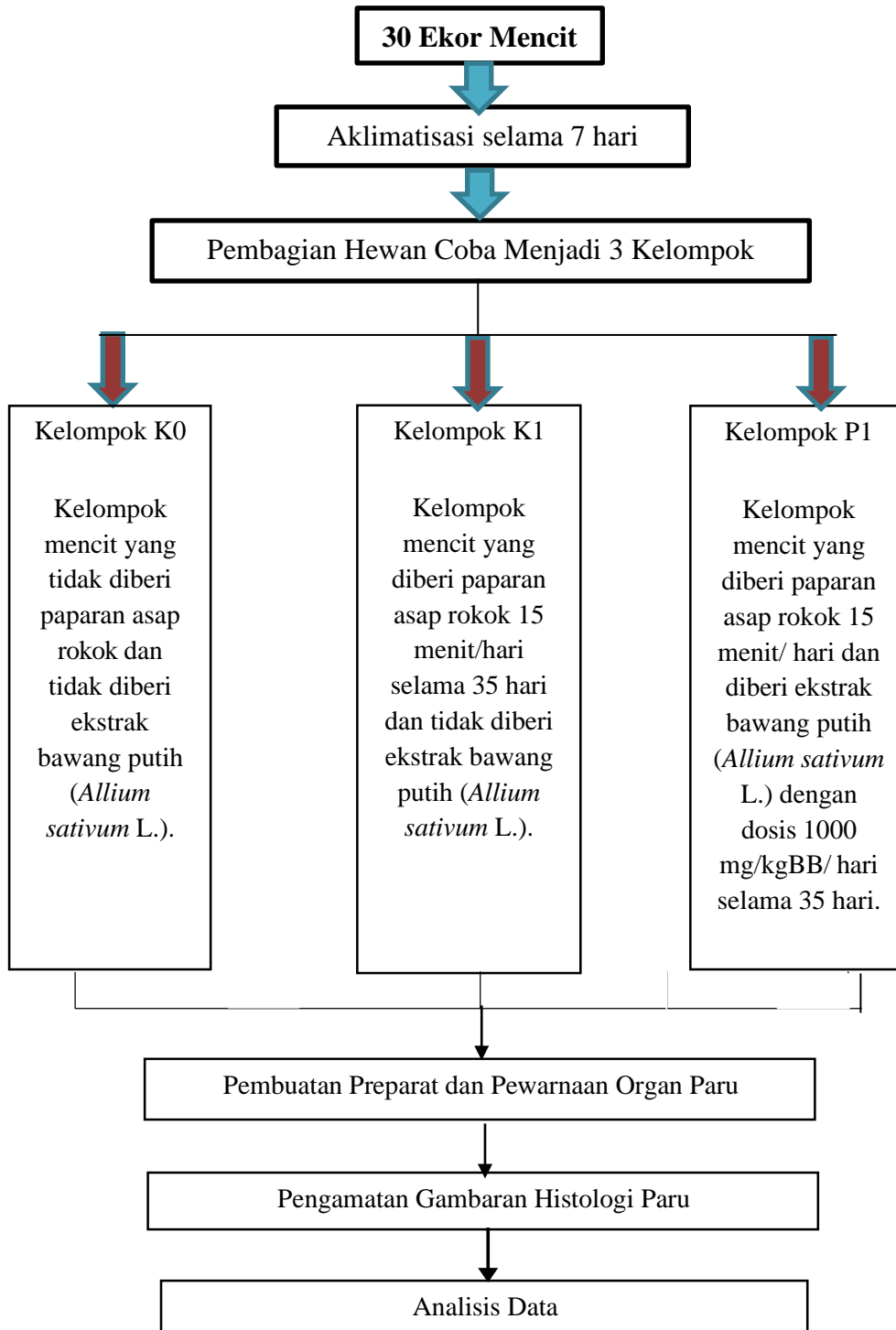
Tabel 4. Penentuan Tingkat Kerusakan Paru (Hansel dan Barnes, 2004)

No.	Presentase Derajat Kerusakan	Tingkat Kerusakan
1.	0%	Tidak terjadi kerusakan
2.	<30%	Kerusakan ringan
3.	30 – 60%	Kerusakan sedang
4.	> 60%	Kerusakan berat

3.7. Rancangan Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan histologi di bawah mikroskop diuji analisis statistik menggunakan software statistik. Hasil penelitian dianalisis apakah memiliki distribusi normal atau tidak secara statistik dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel ≤ 50 . Jika didapatkan data berdistribusi normal serta variasi data homogen maka uji statistik dilanjutkan dengan metode *One Way ANNOVA*, uji statistik dilanjutkan dengan analisis *post hoc test*. Jika varian data tidak berdistribusi normal, maka metode yang dipilih adalah uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Hipotesis akan dianggap bermakna bila $p < 0,05$ uji statistik dilanjutkan dengan analisis *post hoc Mann-Whitney*. Analisis dilakukan menggunakan IBM SPSS 26.

3.8. Alur Penelitian



Gambar 6. Bagan alir penelitian.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan disimpulkan bahwa ekstrak etanol bawang putih (*Allium sativum* L.) dengan dosis 1000 mg/kgBB memiliki efek protektif terhadap histologi paru-paru mencit yang dipaparkan asap rokok dengan waktu pemaparan 15 menit per hari selama 35 hari.

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai efektivitas senyawa antioksidan bawang putih terhadap kerusakan paru-paru maupun organ lainnya dari hasil pemaparan asap rokok menggunakan *air pump* dengan waktu pemaparan yang lebih lama untuk melihat kerusakan yang lebih klinis lagi dan dianalisa secara kuantitatif.
2. Peneliti lain dapat melakukan uji antioksidan secara kuantitatif, seperti DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) terhadap ekstrak etanol bawang putih untuk mengetahui secara lebih rinci kadar antioksidan yang terkandung dalam ekstrak tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarsari, I., Qanytah, dan Sarjana. 2013. *Perubahan aktivitas antioksidan pada bawang putih selama proses pengolahan dan penyimpanan*. Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian. 9(2): 64-73.
- Anni N, Santoso HB, Rusmiati. 2012. *Efek Antioksidan Ekstrak Bulbus Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia) pada Gambaran Histopatologis Paru-Paru Tikus yang Dipapar Asap Rokok*. Bioscintiae 9(1): 60-9
- Arkeman D. 2006. *Efek Vitamin C dan E Terhadap Sel Goblet Saluran Napas pada Tikus akibat Paparan Asap Rokok*. Majalah Universa Medicina. Vol 25 No 2 April-Juni 2006. Jakarta. pp: 62-3.
- Arisandi, Yohana dan Andriani, Yovita. 2008. *Khasiat Tanaman Obat*. Jakarta : Pustaka Buku Murah
- Barnes, J., Anderson, L.A and Phillipson, J.D. 2007. *Herbal Medicines*, 3th ed. London : Pharmaceutical Press
- Batubara dkk., 2013. *Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (Mus Musculus)*. Jurnal e-Biomedik 1(1): 330-337.
- Bender, DA. 2012. *Radikal bebas dan nutrien antioksidan*. Dalam Mrurray R, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil A, penyunting. Biokimia harper. Edisi 39. Jakarta: EGC

- Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. *Oxidative stress and antioxidant defense*. 2012. *World Allergy Organ J*. 5 (1) : 9-19
- Block, E. and S. AHMAD. 1984. *(E.Z)-Ajoene: a potent antithrombotic agent from garlic*. *J. Am. Chem. Soc.* 106: 8295 – 8296.
- Bloom W, Fawcett D., 2002. *Buku Ajar Histologi*. 12th ed. Jakarta: EGC. Pp: 632-635.
- Budiarto, A.A., Wibowo, A.P., Putri, S.A., Shabrina, N.N., Ngestiningsih, D., & Tjahjono, K. 2017. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Rimpang Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) dan Jintan Hitam (Nigella Sativa) terhadap Profil Lipid Tikus Sprague Dawley Dislipidemia*. *Majalah Kedokteran Bandung*. 49(1): 8-14.
- Daniela, C., Brahmana, D. S. 2020. *Efektivitas Senyawa Sulfida Pada Bawang Putih Terhadap Resiko Kanker Paru-Paru*. Makassar: Media Farmasi Poltekkes Makassar.
- Dreidger, S. 1996. *Ode to garlic: The stinky rose can be good for you*. *Maclean's*. 109: 62-64.
- Durairaj S, Srinivasan S, Lhaksamanaperumalsamy P. *In vitro antibacterial activity and stability of garlic extract at different pH and temperature*. *Electronic Journal of Biology* 5(1): 5-10. 2009.
- Ebadi, M. 2006. *Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine 2nd ed*. New York: Taylor dan Francis
- Eriksen M, Mackay J, Schluger N, GomeshtapehFI, Drope J. 2015. *The tobacco atlas*. Edisi ke-5. USA: The american cancer society.
- Eroschenko, V. P. 2008. *DiFiore's Atlas of Histology With Functional Correlations*. In *Vasa* (11th ed.). Lipincott William & Wilkin.

- Fauzan., 2003. *Penentuan Kadar Nikotin Dalam Asap Rokok*. Jurnal Ekologi Kesehatan. pp: 273-274.
- Gawad M.A, Aziz M.A., Sayed M.E., Wakil E.E. & Lateef E.A. *In vitro antioxidant, total phenolic and flavonoid contents of six allium species growing in Egypt*. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 3(4): 343-346. 2014.
- Gebreyohannes, G., Gebreyohannes, M., 2013, *Medical Values of Garlic: A Review*, *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, vol. 5(9): 400-402.
- Hadiarto. (2015). *Anatomi dan Fisiologi Paru-Paru*. Cv Agung Suseto: Jakarta.
- Hansel TT & Barnes PJ. 2004. *An Atlas of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. *Researchgate.Net*. London: Parthenon Publishing Group.
- Herawati MH. 2014. *Bahan yang Menggunakan Zat Adiktif pada Produk Rokok dan Dampaknya terhadap Kesehatan*. Yogyakarta: Puslitbang Biomedis dan Farmasi Badan Litbangkes Kemenkes RI
- Hernawan, U.E., dan Setyawan, A. D., *Senyawa Organosulfur Bawang Putih (Allium sativum) dan Aktivitas Biologinya*, *Biofarmasi*, Vol 1 No 2, 2003, hlm 74.
- Holladay, S. 1997. *Garlic: The Great Protector*.
<http://www.botanical.com/botanical/article/garlic.html>
- Idrus HRA, Iswahyudi, Wahdaningsih S. 2018. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bawang Mekah (Eleutherine americana Merr.) terhadap Gambaran Histopatologi Paru Tikus (Rattus Norvegicus) Wistar Jantan Pasca Paparan Asap Rokok*. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 1 (2): 51-60
- Inayatillah IR, Syahrudin E, Susanto AD. 2014. *Kadar Karbon Monoksida Udara Ekspirasi pada Perokok dan Bukan Perokok serta Faktor-Faktor yang Mempengaruhinya*. *Jurnal Respirasi Indonesia* 34 (4): 180-90

- Integrated Taxonomic Information System (ITIS). 2015. *Mus musculus* L.
http://www.its.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=180366 [Diakses pada 2 Februari 2021].
- Iorio, E.L. 2007. *The Measurement of Oxidative Stress. International Observatory of Oxidative Stress, Free Radicals and Antioxidant Systems*. Special supplement to Bulletin
- Kemkes RI. 2018. *Riset Kesehatan Dasar 2018*. Jakarta: Kemkes RI.
- Kimura, S., Tung, Y., Pan, M., & Su, N. (2016). *Science Direct Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application* Kimura, S., Tung, Y., Pan, M., & Su, N. (2016). *Science Direct Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 62–70.
- Knowles, L. M. dan J. A. Milner. 2001. *Possible mechanism by which allyl sulfides suppresses neoplastic cell proliferation*. *Journal of Nutrition*. 131: 1061S1066S.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2013. *Buku ajar patologi robbins*. Edisi ke-7. Jakarta: EGC
- Liem A. 2011. *Pengaruh Nikotin terhadap Aktivitas dan Fungsi Otak serta Hubungannya dengan Gangguan Psikologis pada Pecandu Rokok*. *Buletin Psikologi* 18(2): 37-50
- Lisiswanti, R., & Haryanto, F. T. 2017. *Allicin pada Bawang Putih (Allium sativum L.) sebagai Terapi Alternatif Diabetes Melitus Tipe 2*. *Majority*, 6:31-35.
- Liu, C., Yang, X., Yao, Y., Huang, W., Sun, W. and Ma, Y. 2014. *Determination of Antioxidant Activity in Garlic (Allium sativum) Extracts Subjected to Boiling Process In Vitro*. *Journal of Food and Nutrition Research*, 11:383–387.

- Manuella L, Alan L, Thiago SF, Roberto SDM, Luis CP, Samuel SP. 2011. *Mate Tea Ameliorates Emphysema in Cigarette Smoke-Exposed Mice*. *Experimental Lung Research*. 37(4): 246-57
- Medero. (2008). *Mouse Lecture & Wet Lab*. [Online]. Tersedia: http://www.uprh.edu/~RISE/activities/mouse/files/page11_1.jpg [2 Februari 2021]
- Mitchell RN., Kumar V., Abbas AK., Fausto N., 2009. *BS Dasar Patologis Penyakit*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Mondong, F. R., M. S. Sangi, dan M. Kumaunang. 2015. *Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun patikan emas (Euphorbia prunifolia Jacq.) dan bawang laut (Proiphys amboinensis (L.) Herb)*. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. 4(1): 81-87.
- Mousumi, Sen., Dastidar, M.G., (2010). *Adsorption Desorption Studies on Cr(VI) Using Non-Living Fungal Biomass*. *Asian Journal of Chemistry*, 22(3):2331-2338.
- Muntha M. 2001. *Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan Dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E)*. *Temu Teknis Fungsional Non Peneliti 2001*. 156-153.
- Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. 2019. *Biokimia Harper Edisi 31*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Mustofa S. 2013. *Pengaruh pemberian ekstrak tempe terhadap fungsi hati dan kerusakan sel hati tikus putih yang diinduksi parasetamol*. *JuKe Unila*. 3(1):44-52.
- Nawangsih, E. F., U. H. Safitri, D. Apliani, F. Nur'aini, dan N. D. Noviyanti. 2015. *GAS-API (garlic as apoptosis inducer): Studi In Vivo Kemampuan Ekstrak Etanolik Bawang Putih (Allium sativum L.) Dalam Menginduksi Sel Apoptosis Pada Tumor Praganas (Displasia) Lidah*. *BIMKGI*. 3(2): 20-27.

- Palupi, H. Dyah. 2006. *Pengaruh Pemberian Jus Buah Tomat (Lycopersicum esculentum Mill) Terhadap Viabilitas Spermatozoa Mencit Balb/C Jantan yang Diberi Paparan Asap Rokok*. Karya Tulis Ilmiah. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Parwata IMOA. 2015. *Buku Ajar Uji Bioaktivitas: Antioksidan*. Bali: Universitas Udayana.
- Pizorno, J.E. and M.T. Murray. 2000. *A Textbook of Natural Medicine: Allium sativum*. Edisi ke-2. Washington: Bastyr University.
- Prasanto, D., Riyanti, E., & Gartika, M. (2017). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Putih (Allium sativum)*. ODONTO: Dental Journal, 4(2), 122. <https://doi.org/10.30659/odj.4.2.122-128>
- Price, Sylvia Anderson dan Wilson, Lorraine McCarty. 2012. *Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit*. Edisi 6 Volume 1. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. halaman 1320-31
- Rahmawati, R. 2012. *Keampuhan Bawang Putih Tunggal (Bawang Lanang)*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Saminan. 2016. *Efek Obstruksi pada Saluran Pernapasan terhadap Daya Kembang Paru*. Jurnal Kedokteran Syiah Kuala 16(1): 34-9
- Schwartz I.F et al, 2002. *Garlic Attenuates Nitric Oxide Production In Rat Cardiac Myocytes Through Inhibition Of Inducible Nitric Oxide Synthase And The Arginine Transporter CAT-2 (Cationic Amino Acid Transporter-2)*. Clinical Science 102: 487–493.
- Sherwood L. 2014. *Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem*. Edisi 8. Jakarta: EGC
- Smith, B. J. dan S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis Indonesia*. University Press, Jakarta.

- Song, K. and J. A. Milner. 2001. *The influence of heating on the anticancer properties of garlic*. Journal of Nutrition 131: 1054S–1057S
- Suryadinata RV. 2018. *Pengaruh Radikal Bebas terhadap Proses Inflamasi pada Penyakit Paru Obstruktif (PPOK)*. [Skripsi]. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Surabaya
- Syamsiah, I, S, dan Tajudin, 2003. *Khasiat & Manfaat Bawang Putih*. Jakarta. Agromedia Pustaka.
- Syamsuri I. 2000. Biologi 2000. Jakarta: Erlangga. P: 123. Talumewo RF, Sompie, Mamahit, Narasiang. 2012. *Rancang Bangun Alat Pengkondisi Udara pada Ruang Menggunakan Sensor CO dan Temperatur*. [Skripsi]. Manado: Fakultas Teknik Universitas Sam Ratulangi
- Taufiqqurohman M.A. 1998. *Sistem Pernafasan*. Surakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia. Pp: 11-6.
- Thampi, Nivetha and Veronica. 2015. *In Vitro Time-Kill and Antiradical Assays on Green Onion and Garlic Against Specific Diarrheagenic Pathogens*. *The Scitech Journal*
- Werdhasari A. 2014. *Peran Antioksidan Bagi Kesehatan*. Jurnal Biotek Medisiana Indonesia 3(2): 59-68
- Wibawa JC, Wati LH, Arifin MZ. 2020. *Mekanisme Vitamin C Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Aktivitas Fisik*. Journal of Sport Science and Education 5(1): 57-63
- Winarsi, H. 2007. *Antoksidan Dan Radikal Bebas*. Kanisius, Yogyakarta.
- Wiryanthini D, Aman IGM, Bagaida NA. 2012. *Pemberian Ekstrak Biji Kakao (Theobroma cacao L.) Menurunkan Kadar Malondialdehyde Dan Meningkatkan Kadar Nox Darah Tikus Putih (Ratus norvegicus) Yang Diinduksi Stres Psikososial*. Jurnal Ilmiah Kedokteran 43(3): 146-152

- WHO. 2016. *Tobacco Smoking*. <http://apps.who.int/gho/data/no de.sdg.3-aviz?lang=en>. Diakses tanggal 2 Februari 2021
- Yee, D. 2019. *Investigation of Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Allium Wallichii Kunth (Garlic) Bulb*. American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS), 54:30-41.
- Yuniarto, K., J. Sumarsono, S. Maryati, dan A. Alamsyah. 2010. *Penentuan laju kerusakan minyak dan bawang putih kering dalam operasi penggorengan hampa (tinjauan aspek teknis)*. Jurnal Teknologi Pertanian. 11(2): 101-108.
- Zhang, X. 1999. *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants: Bulbus Allii Sativii*. Geneva: World Health Organization.