

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KAYU PUTIH  
(*Melaleuca cajuputi*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI  
ESOFAGUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG  
DIINDUKSI ASAP ROKOK**

**SKRIPSI**

**Oleh**

**Amira Nabila**



**UNIVERSITAS LAMPUNG  
2024**

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KAYU PUTIH (*Melaleuca cajuputi*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ESOFAGUS  
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG  
DIINDUKSI ASAP ROKOK**

**Oleh**

**Amira Nabila**

**SKRIPSI**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA KEDOKTERAN**

**Pada**

**Fakultas Kedokteran  
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2024**

Judul Skripsi : **EFEK PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KAYU PUTIH (*Melaleuca cajuputi*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ESOFAGUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI ASAP ROKOK**

Nama Mahasiswa : **AMIRA NABILA**

Nomor Pokok Mahasiswa : **2058011021**

Program Studi : **Pendidikan Dokter**

Fakultas : **Kedokteran**

**MENYETUJUI**

**1. Komisi Pembimbing**

Pembimbing I



**dr. Agustyas Tjiptaningrum, Sp. PK**  
NIP. 197208292002122001

Pembimbing II



**Dr. dr. Indri Windarti, Sp. PA**  
NIP. 197901282006042001

**2. Dekan Fakultas Kedokteran**



**Dr. dr. Evi Kurniawaty, M. Sc**  
NIP. 1976012020031222001

## MENGESAHKAN

## 1. Tes Penguji


Ketua : dr. Agustyas Tjiptaningrum, Sp. PK



Sekretaris : Dr. dr. Indri Windarti, Sp. PA



Penguji  
Bukan Pembimbing : dr. Intanri Kurniati, Sp. PK



## 2. Dekan Fakultas Kedokteran

  
Dr. dr. Evi Kurniawaty, M. Sc  
NIP. 1976012020031222001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 16 Januari 2024

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“EFEK PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KAYU PUTIH (*Melaleuca cajuputi*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ESOFAGUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI ASAP ROKOK”** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai dengan tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiat.
2. Hak intelektualitas atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

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

Bandar Lampung, 16 Januari 2023

Pembuat Pernyataan,



Amira Nabila

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jakarta pada tanggal 25 Mei 2001 sebagai anak kedua dari pasangan Bapak Kusumo Riyanto dan Ibu Sri Wulan Diyah Ayu Suprihati. Penulis memiliki riwayat Pendidikan sebagai berikut: Taman Kanak-Kanak (TK) di TK Amalina pada tahun 2006-2008, Sekolah Dasar (SD) di SD Islam Darunnajah Jakarta pada tahun 2008-2012, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di MTsN 3 Jakarta pada tahun 2014-2017, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 70 Jakarta pada tahun 2017-2019. Pada tahun 2020 penulis melanjutkan sarjana di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Sebagai mahasiswa, penulis aktif dalam kegiatan organisasi di Lembaga Kemahasiswaan (LK) BEM Fakultas Kedokteran Unila sebagai ketua dinas Eksternal, Minat, dan Bakat periode 2023/2024 dan mempunyai pengalaman menjadi *staff of Public Relation* pada Organisasi Ikatan Senat Mahasiswa Indonesia (ISMKI Nasional) periode 2022/2023.

## SANWACANA

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. yang telah melimpahkan segala Rahmat dan Karunia-Nya. Salawat serta salam semoga senantiasa tercurah kepada Rasulullah Muhammad SAW, sehingga skripsi dengan judul “Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kayu Putih (*Melaleuca cajuputi*) Terhadap Gambaran Histopatologi Esofagus Tikus Putih (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Asap Rokok” dapat terselesaikan.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, bantuan, dorongan, kritik dan saran dari berbagai pihak. Dengan ini penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S. Ked., M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Indri Windarti, Sp. PA., selaku Kepala Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung Sekaligus Pembimbing II atas kesediannya meluangkan waktu, membimbing dengan penuh kesabaran, membantu penelitian, memberikan ilmu, nasihat, kritik, dan saran yang sangat bermanfaat selama proses penyelesaian skripsi ini.
4. Dr. dr. Khairun Nisa Berawi, M. Kes., AIFO., selaku Kepala Program Studi Pendidikan Dokter dan pembimbing akademik atas nasihat, motivasi, kritik, dan saran kepada penulis selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
5. dr. Agustyas Tjiptaningrum, S. Ked Sp. PK., selaku pembimbing I atas kesediannya meluangkan waktu, membimbing dengan penuh kesabaran,

membantu penelitian, memberikan ilmu, nasihat, kritik, dan saran yang sangat bermanfaat selama proses penyelesaian skripsi ini.

6. dr. Intanri Kurniati, S. Ked., Sp. PK., selaku pembahas atas kesediannya meluangkan waktu, membimbing dengan penuh kesabaran, memberikan ilmu, nasihat, kritik, dan saran yang sangat bermanfaat selama proses penyelesaian skripsi ini.
7. Pak Bayu, mbak Lienda, bu Nur, mas Nur yang telah mengajari, membantu, dan mengarahkan selama proses pembuatan ekstrak, perhitungan dosis, penggunaan *Animal House*, hingga pembacaan preparat histopatologi.
8. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan selama proses perkuliahan.
9. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu proses penyusunan skripsi dan membantu penulis selama menjalankan studi.
10. Kedua orang tua luar biasa, terkasih, dan tersayang, Mama Sri Wulan Diyah Ayu Suprihati dan Ayah Kusumo Riyanto yang senantiasa menjadi semangat dan motivasi terbesar bagi penulis untuk menjalankan pendidikan hingga saat ini. Terima kasih atas doa, ridho, dukungan, semangat, nasihat, kerja keras, dan kasih sayang yang tidak pernah terputus sehingga kelancaran dan kemudahan senantiasa menemani perjalanan hidup dan juga studi penulis di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
11. Kakak dan adik tersayang, mas Arif dan Hani, yang selalu memberikan doa, semangat dan dukungan berlimpah kepada penulis selama studi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
12. Keluarga Yogya, pakde Jan, bude Dewi, mas Rian, dan mas Nando yang senantiasa membantu, mengajarkan ilmu akademik dan non-akademik yang membuat peneliti tumbuh dengan kepribadian mandiri dan lebih baik.
13. Teman-teman penelitian, Lingga yang senantiasa selalu membantu, memberi keceriaan, dan menemani penulis; Dinda yang membantu memperlancar komunikasi; dan Karelin yang ikut andil dalam setiap penelitian.



14. Sahabat-sahabat SMA, Nesi dan Nabol yang selalu mendukung, memberi semangat, dan mendengarkan keluh kesah penulis dalam setiap langkah perjalanan.
15. Sahabat-sahabat Cari Kursi, Diva, Cucur, dan Piti yang selalu membagi semangat, motivasi, dukungan dan ilmu sehingga perjalanan studi penulis terasa lebih mudah dan menyenangkan.
16. Sahabat-sahabat Lychee, Hana, Abil, Madina, Shab, Fathian, dan Cila yang selalu membagi dukungan, nasihat, waktu, keceriaan, dan canda tawa yang menghiasi perjalanan studi penulis.
17. Keluarga Besar BEM FK Unila yang telah memberikan banyak sekali cerita tak terlupakan dan pengalaman tak terbayarkan bagi penulis. Terima kasih untuk setiap kesempatan, pembelajaran dan keceriaan yang selalu diberikan kepada penulis. Terima kasih untuk rasa bangga yang diberikan karena telah menjadi bagian dari nama baik BEM FK Unila.
18. Teman-teman dan adik-adik Eksmikrat Kabinet Aksantara yang selalu menghibur penulis dengan keceriaan, kasih sayang, dan memahami kesibukan penulis ketika acara berlangsung.
19. Keluarga Cibinong, almarhum om Yogo, tante Tutik, Lia, Erika, Ammar, yang menghibur, menasehati, dan memberikan saran dalam Langkah kehidupan penulis.
20. Keluarga Bhayangkara, pakde Edi, pakde Bowo, bude Yeni, mbak Tari, mbak Mili, mas Mirza, yang membantu dalam memperlancar penelitian dan studi penulis.
21. Eyangti dan seluruh keluarga besar yang selalu memberikan dukungan dan doa kepada penulis selama studi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
22. Sultan Mahathir Bastha, yang selalu siap mengajari, membantu, memotivasi, memberikan suasana dan sarana terbaik untuk belajar, menemani serta mendengarkan disetiap senang sedih dengan sabar, dan telah menyediakan waktu dikala padatnya kegiatan perkuliahan, koas, dan organisasi.

23. Semua pihak yang turut membantu dan terlibat dalam perjalanan studi penulis dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, karena kesempurnaan itu hanya milik Allah SWT. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran untuk masukkan kedepannya. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi orang banyak dan dapat menambah pengetahuan serta informasi bagi pembaca. Aamiin.

Bandar Lampung, 08 Januari 2024

Penulis  
Amira Nabila

**ABSTRACT****EFFECTS OF ADMINISTRATION OF WHITE WOOD (*Melaleuca cajuputi*)  
LEAF ETHANOL EXTRACT ON CIGARETTE SMOKE-INDUCED  
HISTOPATHOLOGICAL FEATURES OF THE WHITE RATS (*Rattus  
norvegicus*) ESOPHAGUS****By****Amira Nabila**

**Background:** The tobacco epidemic is one of the greatest public health threats the world has ever faced, killing more than 8 million people each year. Free radicals from inhaled cigarette smoke will produce detrimental modifications to cell components such as lipids, proteins and DNA. *Melaleuca cajuputi* has antioxidant and anti-inflammatory effects on the human respiratory and digestive tract and can reduce proinflammatory cytokines. The general aim of this study was to analyze the effect of administering *Melaleuca cajuputi* ethanol extract on the histopathological features of the esophagus induced by cigarette smoke.

**Method:** This research used a quantitative experimental analytical design with a true experiment post test–only control group design method with a sample of 40 mice divided into 5 groups and given intervention for 15 days. Histopathological assessment was carried out by looking at inflammatory cells and elongation of the esophageal papillae in five fields of view.

**Results:** Data analysis using Fisher's test showed P. sig <0.05 for KN vs K+, KN vs P1, and KN vs P3. And in the other group pairs, the result was p. sig>0.05.

**Conclusion:** There is an effect of giving *Melaleuca cajuputi* ethanol extract at a dose of 100mg/KgBB compared to a dose of 50mg/KgBB.

**Keywords:** *Melaleuca cajuputi*, Cigarettes, Esophagus, Esophagitis, Ibuprofen.

## ABSTRAK

### EFEK PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KAYU PUTIH (*Melaleuca cajuputi*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI ESOFAGUS TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI ASAP ROKOK

Oleh

Amira Nabila

**Latar Belakang:** Epidemii tembakau adalah salah satu ancaman kesehatan masyarakat terbesar yang pernah dihadapi dunia yang telah menewaskan lebih dari 8 juta orang setiap tahunnya. Radikal bebas dari asap rokok yang dihirup akan menghasilkan modifikasi yang merugikan pada komponen sel seperti lipid, protein dan DNA. *Melaleuca cajuputi* memiliki efek antioksidan dan antiinflamasi pada saluran napas dan pencernaan manusia dan dapat menurunkan sitokin pro inflamasi. Tujuan umum penelitian ini adalah untuk menganalisis efek pemberian ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* terhadap gambaran histopatologi esofagus yang diinduksi asap rokok.

**Metode:** Penelitian ini menggunakan desain analitik kuantitatif eksperimental dengan metode *true experiment post test–only control group design* dengan sampel 40 ekor tikus dibagi menjadi 5 kelompok dan diberi intervensi selama 15 hari. Penilaian histopatologi dilakukan dengan melihat sel inflamasi dan elongasi papila esofagus pada lima lapang pandang.

**Hasil:** Analisis data menggunakan uji *Fisher* didapatkan *P. sig* <0,05 pada KN vs K+, KN vs P1, dan KN vs P3. Pada pasangan kelompok lainnya didapatkan hasil *p. sig* >0,05.

**Kesimpulan:** Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* dengan dosis 100mg/KgBB dibandingkan dengan dosis 50mg/KgBB.

**Kata Kunci:** *Melaleuca cajuputi*, Rokok, Esofagus, Esofagitis, Ibuprofen

## DAFTAR ISI

Halaman	n
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvii</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang Masalah .....	1
1.2. Perumusan Masalah .....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum .....	4
1.3.2. Tujuan Khusus .....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>6</b>
2.1. Rokok .....	6
2.1.1. Definisi Rokok .....	6
2.1.2. Kandungan rokok .....	7
2.2.3. ROS ( <i>Reactive Oxygen Species</i> )/ Radikal Bebas .....	10
2.2.4. Akibat rokok terhadap kesehatan .....	12
2.2. Sistem Pencernaan Esofagus dan Lambung Manusia .....	14
2.3. Mekanisme Rokok Terhadap Esofagus .....	17
2.4. Esofagitis .....	18
2.4.1. Definisi.....	18
2.4.2. Gejala Klinis.....	18
2.4.3. Diagnosis.....	19
2.4.4. Tatalaksana.....	20
2.5. Daun Kayu Putih <i>Melaleuca cajuputi</i> .....	20
2.5.1. Pengertian.....	20
2.5.2. Fungsi <i>Melaleuca Cajuputi</i> .....	21
2.5.3. Ibuprofen Sebagai Pembanding Ekstrak <i>Melaleuca cajuputi</i> .....	23
Kerangka Teori.....	24
2.6. Kerangka Konsep .....	25
2.7. Hipotesis.....	25
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>26</b>
3.1. Desain Penelitian.....	26
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian .....	26
3.3. Populasi dan Sampel .....	26
3.3.1. Populasi .....	26
3.3.2. Sampel.....	26
3.4. Kelompok Perlakua.....	29
3.5. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel .....	29

3.5.1. Identifikasi Variabel.....	29
3.5.2. Definisi Operasional Variabel.....	30
3.6. Alat dan Bahan Penelitian.....	31
3.7. Prosedur Penelitian.....	32
3.7.1. Aklimatisasi Hewan Coba.....	32
3.7.2. Pemberian dan Perhitungan Kadar Asap Rokok.....	32
3.7.3. Pembuatan Ekstrak Daun Kayu Putih.....	33
3.7.4. Pemberian Ekstrak Daun <i>Melaleuca cajuputi</i> .....	33
3.7.5. Terminasi Hewan Coba.....	34
3.7.6. Pembuatan Preparat Histologi.....	35
3.8. Alur Penelitian.....	37
3.9. Teknik Analisis Data.....	38
3.9.1. Analisis Univariat.....	38
3.9.2. Analisis Bivariat.....	38
3.10. <i>Ethical clearance</i> .....	38
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>40</b>
4.1. Hasil Penelitian.....	40
4.1.1. Gambaran Umum Penelitian.....	40
4.1.2. Pembacaan Gambaran Histopatologi.....	41
4.1.3. Analisis Univariat.....	45
4.1.4. Analisis Bivariat Hasil Perhitungan.....	47
4.2. Pembahasan.....	49
4.3. Keterbatasan Penelitian.....	55
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>56</b>
5.1. Kesimpulan.....	56
5.2. Saran.....	57
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>58</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>66</b>

**DAFTAR TABEL**

<b>Halaman</b>	<b>n</b>
Tabel 1. Definisi Operasional.....	38
Tabel 4. 1. Hasil GCMS.....	41
Tabel 4. 2. Hasil Frekuensi Elongasi Papila Esofagus Tikus.....	46
Tabel 4. 3. Hasil Frekuensi Sel Inflamasi Esofagus Tikus .....	45
Tabel 4. 6. Hubungan Elongasi Papila dengan Kelompok Perlakuan.....	47
Tabel 4. 7. Hubungan Sel Inflamasi dengan Kelompok Perlakuan .....	47
Tabel 4. 8. Hasil SPSS pada Elongasi Papila Esofagus .....	48
Tabel 4. 9. Hasil SPSS pada Sel Inflamasi Esofagus.....	48

## DAFTAR GAMBAR

<b>Halaman</b>	<b>n</b>
Gambar 1. Metabolisme ROS .....	11
Gambar 2. Pembentukan ROS inflamasi .....	11
Gambar 3. Esofagus .....	14
Gambar 4. Histologi Esofagus .....	15
Gambar 5. Lapisan esofagus. 1. mukosa 2. submukosa.....	15
Gambar 6. Lambung .....	16
Gambar 7. Esofagus Normal .....	19
Gambar 8. Endoskopi Esofagitis.....	19
Gambar 9. Kerangka Teori .....	24
Gambar 10. Kerangka Konsep .....	25
Gambar 11. Smoking Chamber.....	32
Gambar 12. Alur Penelitian.....	37
Gambar 13. Gambaran Esofagus KN.....	42
Gambar 14. Gambaran Esofagus K(+) menunjukkan elongasi papilla dan munculnya sel inflamasi .....	42
Gambar 15. Gambaran Esofagus P1 menunjukkan tidak ada elongasi papila .....	43
Gambar 16. Gambaran Esofagus P1 menunjukkan elongasi papila .....	43
Gambar 17. Gambaran Esofagus P2 menunjukkan tidak ada elongasi papilla .....	44
Gambar 18. Gambaran Esofagus P2 menunjukkan elongasi papila .....	44
Gambar 19. Gambaran Esofagus K P3 menunjukkan elongasi papila .....	45



**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Halaman</b>	<b>n</b>
Lampiran 1. Surat Izin Peminjaman Animal House .....	67
Lampiran 2. <i>Ethical Clearence</i> .....	68
Lampiran 3. Hasil Gambaran Histopatologi terhadap Sel Inflamasi Esofagus.....	69
Lampiran 4. Hasil Gambaran Histopatologi terhadap Elongasi Papila Esofagus.....	70
Lampiran 5. Perhitungan Bivariat .....	71
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian .....	81

## **BAB I PENDAHULUAN**

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

Sebanyak 2,5 milyar orang dengan dua pertiganya berada di negara berkembang perokok di dunia telah diperkirakan oleh WHO (World Health Organization). Indonesia termasuk negara berkembang yang mempunyai jumlah perokok dan produksi rokok yang tinggi (Kemenkes, 2022).

Epidemi tembakau adalah salah satu ancaman kesehatan masyarakat terbesar yang pernah dihadapi dunia dan telah menewaskan lebih dari 8 juta orang setiap tahunnya. Lebih dari 7 juta kematian tersebut disebabkan oleh penggunaan tembakau secara langsung, sementara sekitar 1,3 juta lainnya disebabkan oleh paparan perokok pasif terhadap orang yang bukan perokok (WHO, 2023).

Berdasarkan data WHO (2013), Indonesia memiliki prevalensi penduduk usia dewasa yang merokok setiap hari sebesar 29% yang menempati urutan pertama se-Asia Tenggara. Sejalan dengan data hasil survey Global Adults Tobacco Survey (GATS) pada tahun 2011, Indonesia memiliki jumlah perokok aktif terbanyak dengan perkiraan perokok laki-laki sebesar 67% (57,6 juta) dan perkiraan perokok wanita sebesar 2,7% (2,3 juta). Pada tahun 2011, perkiraan merokok lebih tinggi pada daerah pedesaan (37,7%) dibandingkan dengan daerah perkotaan (31,9%). Pada tahun 2021 GATS dilakukan kembali dan ditemukan adanya penurunan menjadi 69,1 juta perokok (WHO, 2021).

Kandungan racun dalam rokok yang utama adalah nikotin, tardan, dan karbon monoksida (CO). Nikotin mempunyai efek adiktif dan juga psikoaktif. Tar

merupakan zat karsinogenik yang dapat menyebabkan kanker pada sistem pernapasan. Karbon monoksida menyebabkan adanya pengikatan dengan Hb dan dapat terjadi gangguan kesehatan. Sebanyak 85 % asap rokok yang berasal dari rokok yang terbakar dapat dihirup bebas oleh orang disekitarnya (Rizaldi *et al*, 2022). Rokok yang terhirup akan mampu membentuk radikal bebas di dalam tubuh (Herdiani *et al*, 2018). Radikal bebas pada asap rokok bersifat tidak stabil dan reaktif, hal ini dikarenakan molekul biologinya memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya (Rizaldi *et al*, 2022).

Radikal bebas dari asap rokok yang dihirup akan menghasilkan modifikasi yang merugikan pada komponen sel seperti DNA, lipid, dan protein. Keadaan patologis terjadi ketika jumlah radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh terjadi ketidakseimbangan. Peningkatan jumlah radikal bebas dalam tubuh nantinya memicu terjadi stress oksidatif dan merangsang reaksi peroksidasi pada sel, sehingga dapat menimbulkan kerusakan dan kematian pada sel tubuh dan memicu berbagai macam penyakit seperti pada paru, gagal jantung, parkinson, *atherosclerosis*, *gaster intestinal* metaplasia, dan penyakit lainnya. (Suryadinata, 2018)

Asap rokok dapat berdampak pada saluran pencernaan, yaitu mendorong pergerakan makrofag, netrofil, dan limfosit. Partikel dan asap rokok yang masuk akan mengaktifkan mediator-mediator inflamasi (Suryadinata *et al*, 2016). Mediator inflamasi dapat menimbulkan serangkaian reaksi yang disebut inflamasi. Reaksi inflamasi nantinya akan menghasilkan sitokin. Sitokin didefinisikan sebagai polipeptida yang disekresikan oleh leukosit. (Akrom & Hidayati, 2021). Dengan adanya respon pro inflamasi pada esofagus akan mengakibatkan kerusakan mukosa pada esofagus (Azer & Reddivari, 2023).

Antioksidan adalah suatu senyawa yang mampu meminimalisir terjadinya reaksi radikal bebas dengan menunda atau mencegah dalam oksidasi lipid (Handayani *et al*, 2014). Mekanisme antioksidan eksogen dalam menangkal radikal bebas adalah dengan bekerja sebagai penunda, pencegah, dan menghilangkan kerusakan oksidatif dari molekul target dengan pengkhelatan radikal bebas langsung menyumbangkan atom hidrogen, mencegah oksidasi ion logam, inhibitor/menurunkan kadar enzim yang membantu pembentukan radikal bebas, dan menstimulasi antioksidan internal (Arnanda & Nuwarda, 2019).

*Melaleuca cajuputi* memiliki beberapa manfaat antara lain adalah dapat digunakan untuk kebutuhan medis sebagai sumber obat alami. Minyak cajuputi ini memiliki fungsi sebagai antioksidan, antifungal, memiliki efek sedatif yang dapat dijadikan sebagai terapi relaksasi, anti-protozoa, aktivitas adulticidal dan repellen, aktivitas antihyaluronidase. Efek antioksidan tanaman ini bersifat efisien karena adanya kandungan 1,8-sineol (Efruan, 2016).

Kandungan 1,8-sineol pada *Melaleuca cajuputi* memiliki efek antioksidan dan antiinflamasi pada saluran napas dan pencernaan manusia. Beberapa penelitian telah dilakukan dan didapatkan bahwa 1,8-sineol dapat menurunkan sitokin pro inflamasi. Namun, belum ada penelitian yang meneliti *Melaleuca capujuti* dalam menghambat tanda-tanda inflamasi akibat rokok secara histopatologi pada esofagus (Sudradjat, 2020).

Penjelasan diatas merupakan hal yang melatarbelakangi penelitian mengenai analisis efek pemberian ekstrak etanol minyak cajuputi terhadap gambaran histopatologi esofagus yang diinduksi asap rokok.

## 1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan dari latar belakang diatas dapat dirumuskan pertanyaan penelitian apakah terdapat efek pemberian ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* terhadap gambaran histopatologi esofagus yang diinduksi asap rokok?

## 1.3. Tujuan Penelitian

### 1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk menganalisis efek pemberian ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* terhadap gambaran histopatologi esofagus yang diinduksi asap rokok.

### 1.3.2. Tujuan Khusus

1. Menganalisis efek induksi asap rokok terhadap sel inflamasi esofagus tikus putih
2. Menganalisis efek induksi asap rokok terhadap elongasi papila esofagus tikus putih
3. Menganalisis efek pemberian ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* dosis 50 mg/KgBB terhadap sel inflamasi esofagus yang diinduksi asap rokok.
4. Menganalisis efek pemberian ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* dosis 50 mg/KgBB terhadap elongasi papila esofagus yang diinduksi asap rokok.
5. Menganalisis efek pemberian ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* dosis 100 mg/KgBB terhadap sel inflamasi esofagus yang diinduksi asap rokok.
6. Menganalisis efek pemberian ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* dosis 100 mg/KgBB terhadap elongasi papila esofagus yang diinduksi asap rokok.
7. Menganalisis efek pemberian ibuprofen terhadap sel inflamasi

esofagus yang diinduksi asap rokok.

8. Menganalisis efek pemberian ibuprofen terhadap elongasi papila esofagus yang diinduksi asap rokok.

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

##### **1.4.1. Institusi**

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa peningkatan publikasi efek *Melaleuca cajuputi* terhadap gambaran histopatologi esofagus yang diinduksi asap rokok.

##### **1.4.2. Peneliti**

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat mengimplementasikan teori dan ilmu yang telah didapatkan serta dapat menjadi skripsi yang berkualitas sehingga mampu meluluskan peneliti dengan nilai yang memuaskan.

##### **1.4.3. Masyarakat**

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan tentang alternatif pemanfaatan minyak cajuputi sebagai antiinflamasi dalam kehidupan sehari-hari.

## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1. Rokok**

#### **2.1.1. Definisi Rokok**

Rokok menyertakan bahan adiktif yang sangat merugikan untuk kesehatan manusia. Bahan adiktif ini merupakan substansi yang jika dikonsumsi, dapat menimbulkan ketergantungan dan risiko terkena berbagai penyakit serius, termasuk masalah pembuluh darah, stroke, penyakit paru obstruktif kronis, kanker paru-paru, kanker mulut, impotensi, serta masalah kesehatan pada kehamilan dan janin. (Santoso, 2020).

Risiko asap rokok tidak hanya merugikan bagi perokok, tetapi juga berbahaya bagi orang di sekitarnya (perokok pasif). Asap rokok terdiri dari dua komponen utama, yakni asap rokok primer yang mengandung 25% bahan berbahaya, dan asap rokok sampingan (side stream) yang mengandung 75% bahan berbahaya. Dalam asap rokok terdapat lebih dari 4000 jenis senyawa kimia, dengan sekitar 400 jenis di antaranya bersifat toksik (berbahaya), dan 69 jenis termasuk dalam kategori zat penyebab kanker (karsinogenik) (Mutia, 2018).

Asap rokok pasif merupakan campuran gas dan partikel halus yang kompleks, dilepaskan selama pembakaran rokok. Bagi individu yang tidak merokok dan terpapar asap rokok pasif, risikonya sebanding dengan mereka yang merokok. Benzo (A) Pyrene, suatu karsinogen, terdapat dalam asap rokok dan dapat memicu kanker; senyawa ini sering ditemui pada non-perokok yang berinteraksi dengan perokok aktif.

Tidak ada tingkat paparan aman untuk asap rokok dari orang lain. Bahaya asap rokok terutama terjadi pada bayi dalam kandungan perokok dan individu yang berada di ruang yang sebelumnya ditempati oleh perokok. Efek segera setelah terpapar asap rokok dari orang lain meliputi batuk, bersin, sesak napas, dan pusing, sementara dampak jangka panjang dapat menyebabkan masalah kesehatan yang serius. (Mutia, 2018).

### **2.1.2. Kandungan rokok**

Betapa besarnya bahaya rokok dapat dilihat dari banyaknya senyawa dalam asap tembakau. Setidaknya ada 5.000 senyawa berbeda dalam asap saja, beberapa di antaranya beracun bagi tubuh. Kandungan racun dalam rokok dapat merusak sel-sel tubuh. Selain itu, senyawa dalam asap tembakau juga bersifat karsinogenik, yaitu bersifat karsinogenik. Rokok mengandung 250 racun berbeda dan 70 jenis zat karsinogenik. Kandungan tersebut berasal dari bahan baku utama rokok yaitu tembakau (Kemenkes 2022).

Seperti disebutkan di atas, jumlah tembakau yang berbahaya bagi tubuh sangatlah penting. Beberapa senyawa berbahaya dalam tembakau antara lain:

#### **1. Karbon monoksida**

Salah satu komponen tembakau adalah karbon monoksida, gas beracun tanpa rasa. Jika menghirup terlalu banyak karbon monoksida, sel darah merah Anda akan mengikat lebih banyak karbon monoksida daripada oksigen (Kemenkes, 2022).

Paparan karbon monoksida berakibat karboksihemoglobin (COHb) pada darah. Selain berakibat kerbosiemoglobin, geja-gejala kesehatan lain juga dapat terjadi seperti pusing, sakit



kepala, sesak napas, tekanan darah tinggi, dan mata berair (Rizaldi *et al*, 2022).

## 2. Nikotin

Nikotin adalah senyawa alkaloid utama dalam tembakau. Nikotin bersifat racun bagi saraf dan mempunyai efek merileks dan menenangkan tubuh mengakibatkan timbul ketagihan bagi perokok. Kadar 4-6 mg yang dihisap oleh orang dewasa setiap hari sudah dapat membuat seseorang ketagihan. Nikotin ketika terserap oleh tubuh juga dapat memicu produksi lebih banyak adrenalin, hal ini membuat tekanan darah, detak jantung, dan pernapasan meningkat (Aji *et al*, 2015).

## 3. Tar

Kandungan karsinogenik tembakau lainnya adalah tar. Tar yang dihirup oleh perokok tetap berada di paru-paru. Endapan tar ini berisiko tinggi menyebabkan penyakit paru-paru, seperti kanker paru-paru dan emfisema (Kemenkes, 2022).

Selain itu, ketika tar memasuki aliran darah dan meningkatkan risiko diabetes, penyakit jantung, dan gangguan kesuburan. Tar dapat dilihat melalui tanda kuning atau coklat yang tertinggal di gigi dan jari. Karena tar masuk langsung ke mulut, zat beracun ini juga bisa menyebabkan masalah gusi dan kanker mulut (Kemenkes, 2022).

## 4. Hidrogen sianida

Senyawa beracun lain yang menjadi dasar tembakau adalah hidrogen sianida. Hidrogen sianida juga digunakan dalam industri tekstil, plastik, dan kertas, dan umumnya digunakan sebagai bahan asap pengendalian hama (Kemenkes, 2022).

Senyawa ini dapat mencegah tubuh menggunakan oksigen dengan baik dan dapat merusak otak, jantung, pembuluh darah, dan paru-paru. Efek dari senyawa tersebut dapat menyebabkan kelelahan, sakit kepala, dan mual, bahkan kehilangan kesadaran (Kemenkes, 2022).

5. Benzena

Benzena merupakan hasil sisa pembakaran tembakau. Eksposur berkepanjangan terhadap benzena dapat mengurangi jumlah sel darah merah, merusak sumsum tulang, meningkatkan risiko anemia, dan menyebabkan pendarahan. Selain itu, benzena juga dapat merugikan sel darah putih, mengurangi daya tahan tubuh, dan meningkatkan risiko terkena leukemia (Kemenkes, 2022).

6. Formaldehida

Residu dari pembakaran tembakau adalah formaldehida. Pada periode singkat, formaldehida dapat menyebabkan iritasi pada mata, hidung, dan tenggorokan. Pada periode panjang, eksposur formaldehida dapat meningkatkan risiko terkena kanker orofaringeal (Kemenkes, 2022).

7. Arsenik

Eksposur tinggi terhadap arsenik dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya kanker kulit, kanker paru-paru, kanker saluran kemih, kanker ginjal, dan kanker hati. Arsenik ditemukan dalam tembakau melalui penggunaan pestisida dalam pertanian tembakau (Kemenkes, 2022).

8. Kadmium

Kadmium yang ada dalam asap rokok akan diserap oleh paru-paru. Tingkat kadmium yang tinggi dalam tubuh dapat menyebabkan muntah, diare, penyakit ginjal, tulang rapuh dan peningkatan risiko terkena kanker paru-paru (Kemenkes, 2022).

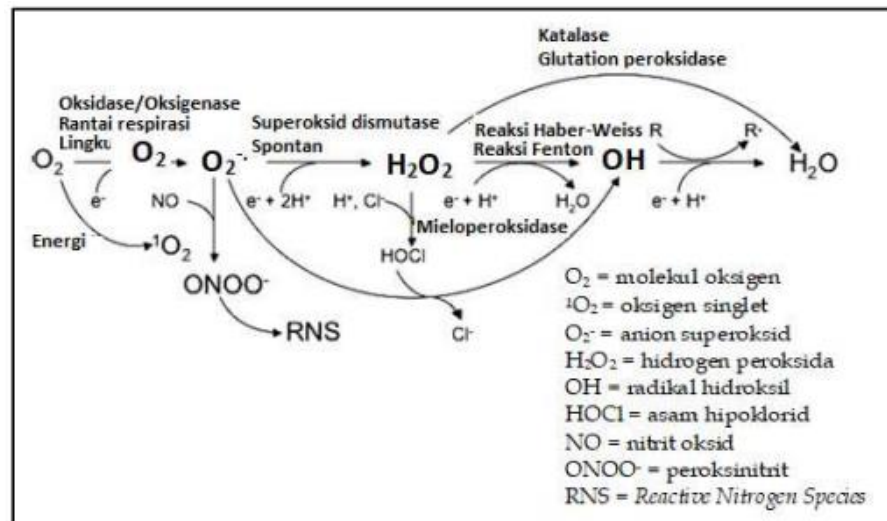
### 9. Amonia

Amonia merupakan gas beracun yang tidak berwarna dan memiliki bau yang tajam. Di sektor tembakau, amonia digunakan untuk meningkatkan efek adiktif dari nikotin. Pernapasan dan eksposur singkat terhadap amonia dapat mengakibatkan kesulitan bernapas, iritasi mata, dan rasa sakit pada tenggorokan. Sementara itu, dampak jangka panjangnya dapat mencakup risiko pneumonia dan kanker orofaringeal (Kemenkes, 2022).

#### 2.2.3. ROS (*Reactive Oxygen Species*)/ Radikal Bebas

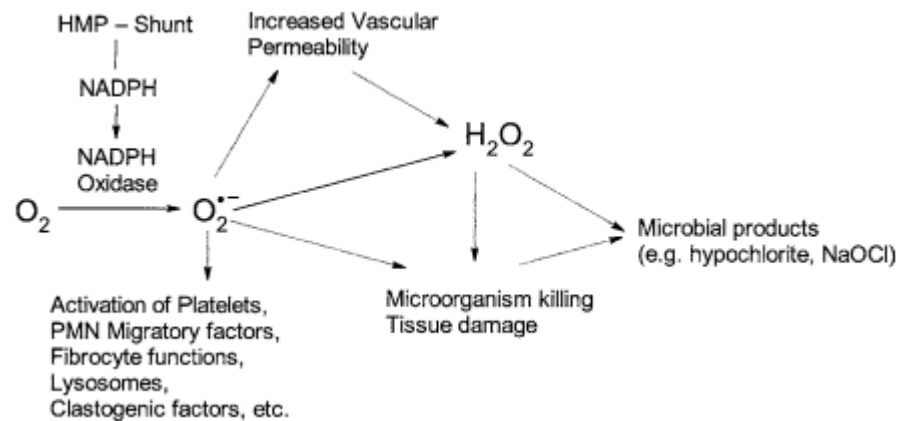
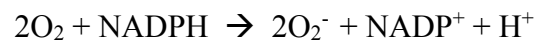
Radikal bebas yang paling melimpah dalam sistem biologis tubuh adalah *reactive oxygen species* (ROS) atau radikal bebas turunan oksigen. ROS sebagian besar berasal dari respons fisiologis (ROS endogen) yang merupakan hasil normal dari metabolisme sel, dan sejumlah kecil berasal dari paparan luar tubuh (ROS eksogen) seperti polutan lingkungan, radiasi, serta infeksi bakteri, jamur, dan virus yang dapat menyebabkan inflamasi (Parwata, 2015).

ROS meliputi superoksida ( $O_2^-$ ), hidroksil ( $-OH$ ), peroksil (ROO), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), oksigen ( $O_2$ ), oksida nitrit ( $NO^-$ ), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ), dan asam hipoklorit (HOCl). Superoksida, yang paling melimpah dalam tubuh, akan diubah menjadi hidrogen peroksida. Pada tahap propagasi, hidrogen peroksida kemudian diubah menjadi radikal hidroksil, yang dapat menyebabkan peroksidasi lemak pada membran sel, mengakibatkan kerusakan sel. Jika proses ini berlanjut tanpa henti, dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara antioksidan endogen dan radikal bebas yang dikenal sebagai stres oksidatif (Susilawati, 2021).



Gambar 1. Metabolisme ROS (Susilawati, 2019).

Radikal bebas juga dapat dibentuk selama proses inflamasi, di mana NADPH mengalami perubahan menjadi NADP dengan bantuan katalis NADPH oksidase. Pada tahap perubahan NADPH ini, terjadi kebocoran oksigen ( $O_2$ ) yang kemudian mengalami transformasi menjadi radikal superoksida ( $O_2^-$ ). Radikal ini dapat merangsang pembentukan sitokin proinflamasi seperti  $TNF-\alpha$  dan IL-6 (Parwata, 2015).



Gambar 2. Pembentukan ROS inflamasi (Parwata, 2015).

#### **2.2.4. Akibat rokok terhadap kesehatan**

Merokok adalah perbuatan menghisap segulung tembakau dibungkus dengan kertas yang dibakar dan mengeluarkannya dari dalam tubuh dengan suhu 90°C untuk ujung rokok yang dibakar dan 30°C untuk ujung rokok yang berada di sela-sela bibir perokok. Hal tersebut dapat menghasilkan asap yang dapat dihirup oleh orang di sekitarnya dan dapat memberikan efek negatif baik bagi perokok maupun orang di sekitarnya (Saminan, 2016).

Merokok dapat berpengaruh buruk bagi kesehatan, diantaranya:

1. Menyebabkan stroke dan serangan jantung

Merokok dapat meningkatkan risiko stroke sekitar 60%, yakni sekitar 28.560 kasus pada pria dan 40%, sekitar 19.040 kasus pada wanita. Hasil studi awal yang dilakukan oleh peneliti di RS Haji. Surabaya pada Oktober hingga Desember 2013 menunjukkan peningkatan jumlah pasien stroke dari 423 menjadi 540 di poli saraf, melibatkan pasien lama dan baru. Dari 20 pasien yang diamati, 13 di antaranya adalah laki-laki, dan ketika ditanyakan tentang riwayat penyakit, 10 diantaranya ternyata memiliki riwayat merokok sejak usia muda (Utama & Nainggolan, 2022).

Asap rokok mengandung berbagai zat berbahaya yang umumnya disebut sebagai oksidator. Zat-zat ini dapat menyebabkan kerusakan pada dinding arteri. Kerusakan ini pada gilirannya dapat menjadi tempat penumpukan lemak, sel trombosit, kolesterol, dan penebalan lapisan otot polos dinding arteri, yang dikenal sebagai aterotrombotik. Kondisi ini menyebabkan penyempitan diameter rongga arteri dan dapat menyebabkan kelemahan pada dinding pembuluh darah arteri. Aterotrombotik mengakibatkan pembuluh

darah tersumbat ke beberapa organ tubuh, termasuk otak, yang pada akhirnya dapat menyebabkan stroke (Utama & Nainggolan, 2022).

2. Menyebabkan penyakit paru kronis

Pelepasan IL-1, IL-8, G-CSF, dan MCP-1 dari sel epitel bronkus terjadi karena stimulasi dari asap rokok, hal ini menunjukkan adanya mediator peradangan pada epitel saluran napas pada PPOK. Sel epitel saluran napas pada perokok dengan PPOK mengeluarkan lebih banyak TGF- $\beta$ 1 daripada yang tidak merokok, yang kemudian terjadi perubahan bentuk dan fibrosis saluran napas. Mediator yang dihasilkan oleh keduanya merupakan bagian dari reaksi sistemik pada PPOK, dan diperkirakan bahwa mediator ini masuk ke dalam peredaran darah dan memicu reaksi peradangan sistemik (Rusmas, 2019).

3. Pada stingfer esofagus

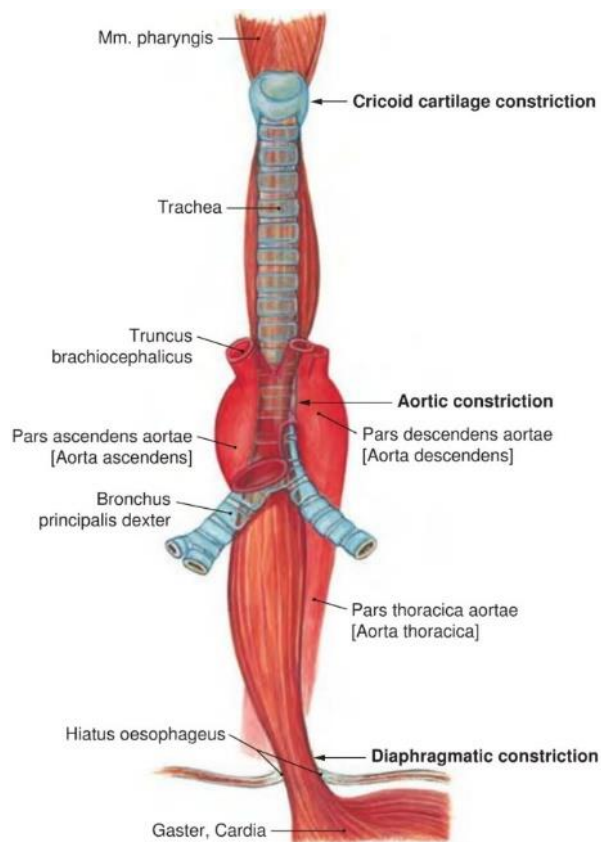
Dalam penelitian Caitlin G (2022), ditemukan bahwa merokok mempengaruhi elisitasi refleks penutupan faringoglottal. Temuan ini sesuai dengan laporan Caitlin sebelumnya tentang efek merusak dari merokok pada refleks lain yang berasal dari faring yaitu, refleks kontraktil *oesophago-upper oesophageal sphincter* (UOS) dan refleks menelan faring. Refleks penutupan faringoglottal adalah salah satu dari sejumlah refleks supraesofageal yang telah dipercaya untuk membantu mencegah aspirasi isi lambung (Caitlin G *et al*, 2022).

Efek merokok/nikotin pada bagian saluran pencernaan bagian atas dapat terjadi adanya perubahan seperti menunda pengosongan lambung, menurunkan tekanan sfingter esofagus bagian bawah, dan mengganggu pembersihan asam esofagus. Perubahan ini dapat

menjadi predisposisi penyakit refluks gastroesofagus. Jarak yang dekat antara saluran masuk saluran pernapasan dan pencernaan bersama dengan interaksi timbal balik dari dua saluran di faring dapat mempengaruhi saluran udara terhadap risiko aspirasi ketika refluks lambung mencapai faring. Mikroaspirasi dianggap sebagai salah satu mekanisme dimana yang menyebabkan gangguan paru dan laring kronis. Dengan adanya gangguan fungsi paru, integritas refleks supraesofaeal yang berpotensi melindungi terhadap aspirasi dapat rusak. Dalam hal ini, telah dibuktikan bahwa pengaruhnya dapat berasal dari merokok (Caitlin G *et al*, 2022).

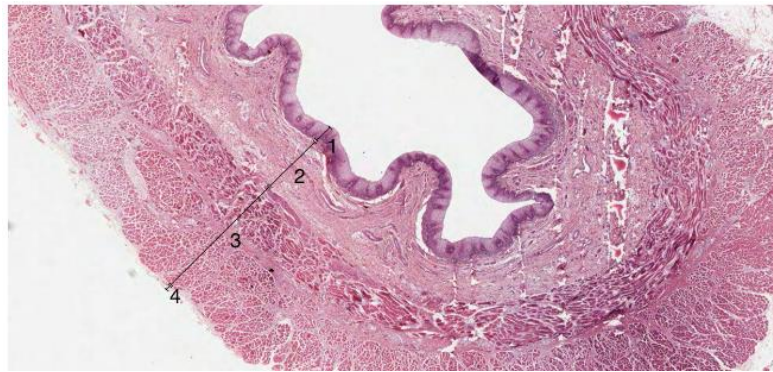
## 2.2. Sistem Pencernaan Esofagus dan Lambung Manusia

### 2.2.1. Esofagus

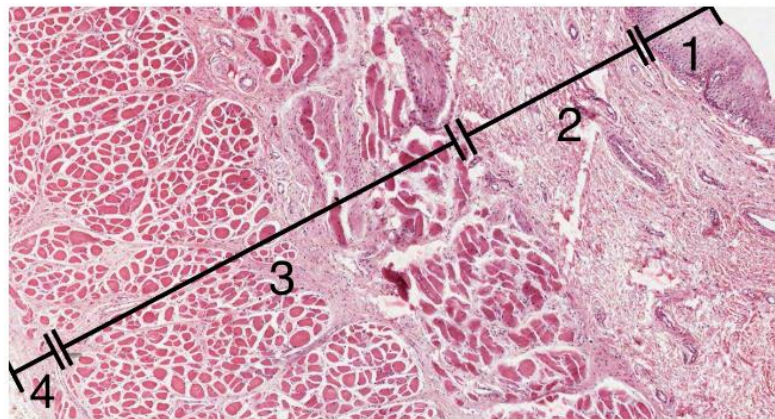


Gambar 3. Esofagus (Waschle *et al.*, 2019)

Esofagus merupakan tabung berotot pada vertebrata. Esofagus dilalui makanan dari mulut ke dalam lambung. Esofagus umum disebut dengan kerongkongan. Panjang kerongkongan berkisar 20 cm dan lebar berkisar 2 cm. Pada esofagus terdapat gerak peristaltik yaitu gerakan bergelombang, menyempit, melebar dan meremas-remas makanan sehingga dapat masuk ke dalam lambung. Zat makanan tidak mengalami pencernaan pada esofagus (Kemenkes RI, 2019)



Gambar 4. Histologi Esofagus (Weisenberg, 2023).



Gambar 5. Lapisan esofagus. 1. mukosa 2. submukosa  
3. muskularis eksterna 4. Adventitia (Weisenberg, 2023).

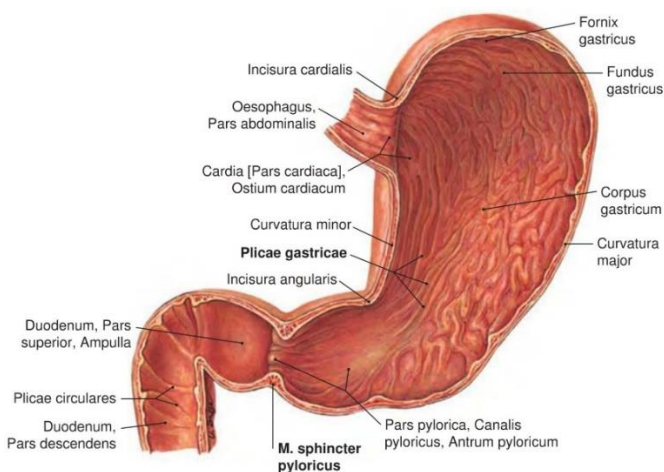
Dinding esofagus dari bagian terdalam ke luar terdiri dari tunika mukosa, submukosa, tunika muskularis, dan tunika adventitia. Tunika



mukosa dilapisi oleh epitel gepeng berlapis dan bagian lamina propia distal terdapat glandula kardiaka esofageal, pada sub mukosa terdapat glandula esofageal propia bersifat glandula mukosa, pada tunika muskularis terdapat otot sirkular diikuti dengan otot longitudinal, sedangkan tunika adventitia berisi jaringan ikat longgar (Husairi *et al*, 2020).

### 2.2.2. Gaster (Lambung)

Lambung terletak tepat dibawah diafragma di dalam rongga abdomen atas. Secara fisiologis, lambung dapat dibagi dalam 2 bagian utama yaitu korpus (badan) dan antrum. Lambung mengekskresikan cairan pencernaan yang disebut getah lambung. Mukosa lambung mempunyai dua jenis kelenjar tubulosa yaitu kelenjar gastrik dan kelenjar pilorus. Kelenjar gastrik yang terletak di dalam mukosa korpus dan fundus mengekskresikan getah pencernaan sedangkan kelenjar pilorus yang terletak pada bagian antrum lambung mengekskresikan mukus untuk melapisi permukaan membran mukosa agar terlindungi dari pencernaan oleh HCL (Husairi *et al*, 2020).



Gambar 6. Lambung (Waschle *et al.*, 2019)

Getah lambung akan bercampur makanan dan melalui proses pengadukan di lambung dan dinamakan dengan kimus. Getah lambung akan mencerna makanan secara kimiawi karena mengandung zat-zat seperti Asam lambung (HCL) berfungsi mengubah sifat protein, mematikan bakteri yang terdapat di dalam makanan, dan mengaktifkan enzim pepsinogen menjadi pepsin. Enzim pepsin berfungsi merombak protein menjadi pepton. Enzim renin berfungsi mengubah kaseinogen menjadi kasein. Selain itu, terdapat hormon gastrin yang berfungsi untuk membentuk enzim tripsin dengan mengaktifkan tripsinogen (Irdalisa, Paidi, Djukri, 2019).

### **2.3. Mekanisme Rokok Terhadap Esofagus**

Paparan asap rokok dapat menimbulkan respon inflamasi di saluran napas (Angelis *et al*, 2014). Selain saluran napas, rokok juga sangat berpengaruh pada saluran pencernaan, diantaranya dapat melemahkan katup esofagus dan pilorus, meningkatkan refluks, mengubah kondisi alami dalam lambung, menghambat sekresi bikarbonat pankreas, mempercepat pengosongan cairan lambung, dan menurunkan pH duodenum (Purbaningsih, 2020).

Rokok mengandung bermacam-macam zat yang sangat reaktif terhadap lambung, seperti nikotin dan kadmium merupakan zat beracun dalam rokok yang dapat berakibat pada kerusakan atau lesi pada lambung (Naisali *et al*, 2017).

Menghisap asap rokok dapat menyebabkan aktivitas otot di bawah esofagus semakin meningkat mengakibatkan otot saluran pernapasan bagian bawah akan lemah secara perlahan sehingga proses pencernaan menjadi terhambat (Sugianto R, 2019). Terjadinya relaksasi abnormal dari LES (*lower esophageal sphincter*) mengakibatkan *prolong tarnsien* relaksasi LES sehingga ketika adanya kenaikan tekanan intra abdominal (olahraga, hamil,

obesitas atau posisi tiduran) dapat mendorong HCL di dalam lambung untuk refluks. Refluks asam dari gaster yang terus menerus pada jaringan esofagus mengakibatkan peningkatan sel proinflamasi dan sitokin. Mediator inflamasi dapat menimbulkan serangkaian reaksi yang disebut inflamasi. Sitokin didefinisikan sebagai polipeptida yang disekresikan oleh leukosit. Yang termasuk pada sitokin respon inflamasi adalah IL-1, IL-6, IL-8, IL-1, IL-17, IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ , dan IFN  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  (Akrom & Hidayati, 2021).

Dengan adanya respon inflamasi pada esofagus akan mengakibatkan kerusakan pada epitel skuamosa esofagus. Kerusakan atau inflamasi pada esofagus disebut dengan esofagitis. Perkembangan dari esofagitis adalah adanya ulserasi pada esofagus yang nantinya akan mengakibatkan deposit kolagen berakhir dengan *esophageal stricture disease* (Azer & Reddivari, 2023).

## **2.4. Esofagitis**

### **2.4.1. Definisi**

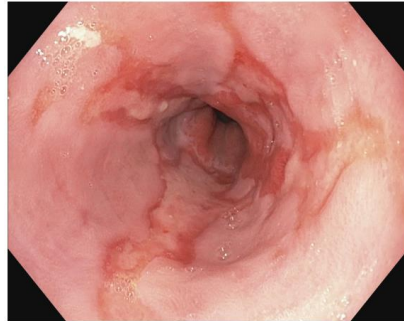
Esofagitis adalah inflamasi pada esofagus akibat refluks gastroesofagus yang secara berulang atau terus-menerus. Refluks gastroesofagus adalah masuknya isi lambung ke dalam *esophagus* secara *involunter*. Pada proses inflamasi ini dapat disertai dengan perubahan mukosa esofagus seperti erosi atau hiperplasia epitel (Latenriolle, 2018).

### **2.4.2. Gejala Klinis**

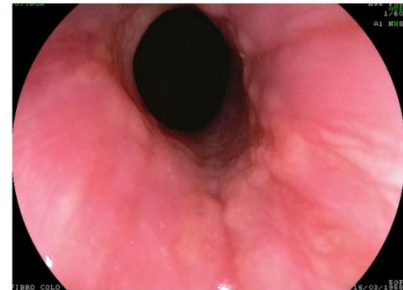
Gejala klinis pada penderita esofagitis adalah mulas, regurgitasi asam, nyeri pada epigastrium menjalar pada leher. Sensasi terbakar juga termasuk pada gejala klinis esophagitis dipicu dengan posisi berbaring atau olahraga. Gejala lainnya paa esophagitis adalah disfagia, peningkatan sekresi air liur (*water brash*), dan rasa mengganjal di tenggorokan (Azer & Reddivari, 2023).

### 2.4.3. Diagnosis

Diagnosis refluks esofagitis dapat ditegakkan dengan kombinasi gejala yang muncul, pengujian objektif dengan endoskopi, pemantauan refluks rawat jalan, dan respon terhadap terapi PPI. Sebagian besar pasien datang dengan gejala khas mulas dan regurgitasi lambung dan tidak memerlukan pemeriksaan penunjang untuk menegakkan diagnosis. Pasien yang datang dengan nyeri dada harus diperiksa untuk menyingkirkan penyebab nyeri dada pada penyakit jantung sebelum dimulainya evaluasi gastrointestinal, sedangkan pasien dengan gejala atipikal harus menjalani evaluasi diagnostik dengan endoskopi dan pemantauan pH sebelum uji coba PPI. Pasien dengan disfagia harus menjalani pemeriksaan endoskopi untuk menyingkirkan komplikasi refluks (Azer & Reddivari, 2023).



Gambar 8. Endoskopi Esofagitis (Pogorelov *et al*, 2017)



Gambar 7. Esofagus Normal (Alamy, 2009)

Gambaran pasien dengan esofagitis ketika di endoskopi terdapat adanya erosi tidak merarata, ber-stria, atau sirkular pada mukosa distal esofagus. Pada Gambar 5 terdapat gambaran *red mucosal tongues projecting up in the white esophageal lining* (Pogorelov *et al*, 2017).

#### 2.4.4. Tatalaksana

Penatalaksanaan esofagitis terdiri dari medikamentosa dan nonmedikamentosa. Medikamentosa terdiri dari dua pendekatan, yaitu *step down* dan *step up*. *Step down* dimulai dengan obat-obatan kurang kuat seperti reseptor H<sub>2</sub> atau prokinetik sedangkan medikamentosa *step up* dimulai dengan PPI dan dapat dilanjutkan dengan terapi pemeliharaan dengan dosis yang lebih rendah atau dapat diberikan reseptor H<sub>2</sub> atau prokinetik ketika sudah berhasil. Pengobatan non-medikamentosa dapat dengan memodifikasi pola hidup seperti meninggikan posisi kepala, punggung, dan pinggang saat tidur, berhenti merokok dan tidak mengonsumsi alkohol, serta mengurangi asupan lemak dan jumlah makanan karena akan mengakibatkan distensi lambung (Latenriolle M, 2018).

### 2.5. Daun Kayu Putih *Melaleuca cajuputi*

#### 2.5.1. Pengertian

Salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang penting bagi industri minyak atsiri di Indonesia adalah Tanaman kayu putih (*Melaleuca cajuputi*). Sebagai salah satu tanaman penghasil produk hasil hutan bukan kayu, tanaman kayu putih memiliki prospek baik untuk dikembangkan (Alam *et al*, 2019).

*Melaleuca cajuputi essential oil* diperoleh dari penyulingan daun kayu putih melaleuca dan ranting pohon kayu putih melaleuca (*M. cajuputi*). Komponen utama *M. cajuputi* sama dengan kayu putih, dari minyak sulingannya, adalah b-pinene, cineol, terpinolene, 4,11,11-tetramethyl-8-methylene, b-linalool, a-terpineol, caryophyllene, a-caryophyllene, iso-caryophyllene, p-cymene, 1,4 terpineol,  $\alpha$ -terpineol, thymol, citral, dan dehydro1,1,4,7-tetramethyl elemol (Sutrisno *et al.*, 2018). Senyawa tersebut memiliki aktivitas antivirus terhadap virus herpes simpleks tipe 1 secara *in vitro* (My *et al.*, 2020). Minyak kayu putih telah digunakan

sebagai obat tradisional di negara-negara Asia seperti Indonesia, Vietnam, dan Thailand, untuk mengobati batuk, pilek, bronkitis, gejala pilek, dan radang selaput lendir saluran pernapasan bagian atas. (Desdiani *et al*, 2022).

### **2.5.2. Fungsi *Melaleuca Cajuputi***

*Melaleuca cajuputi* mengandung senyawa polifenol, dimana senyawa ini meliputi flavonoid, kunion, saponin dan alkaloid. Polifenol dikenal mempunyai peran yang sangat kuat dalam mengatasi antioksidan (radikal bebas) (Achmadiyah, 2020). Senyawa polifenol dapat mengatasi radikal bebas yang ada pada tubuh dengan cara menangkap radikal bebas yang tidak stabil dengan menyumbangkan satu elektronnya sehingga bermanfaat untuk mencegah ataupun meringankan berbagai penyakit akibat radikal bebas, seperti penyakit pada paru, jantung koroner, stroke, inflamasi, dan penyakit neurodegenerasi. Senyawa polifenol juga dapat mengurangi peradangan yang dimediasi oleh stress oksidatif dengan melemahkan aktivasi NF $\kappa$ B yang diinduksi sitokin proinflamasi sehingga menghambat stimulasi mediator inflamasi seperti TNF-  $\alpha$ , IL-6, IL-8 and IL-1 $\beta$ . Sedangkan mekanisme antiinflamasi saponin adalah dengan menghambat pembentukan eksudat dan menghambat kenaikan permeabilitas vaskular (Achmadiyah, 2020; Fitritani *et al*, 2011 Zhang & Tsao, 2016).

Mekanisme flavonoid dalam menghambat proses terjadinya inflamasi melalui dua cara, yaitu dengan menghambat permeabilitas kapiler dan menghambat metabolisme asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan sel endothelial (Fitriyani *et al*, 2011). Aktivitas farmakologi dari flavonoid sebagai anti-inflamasi adalah dimulai dengan zat asing masuk ke dalam tubuh, tu buh bereaksi mengeluarkan senyawa prostaglandin, leukotriene, interleukin, nitrit oksida, dan

sitokin proinflamasi. Inflamasi terjadi akibat integrasi enzim COX-1 dan COX-2 dengan prostaglandin, stimulasi rasa sakit dihasilkan oleh enzim COX-2, apabila enzim berikatan dengan protein kinase serin-treonin akan menyebabkan aktivasi sel yang melibatkan sistem imun (Alfaridz F & Amalia R, 2018). Flavonoid mampu mengurangi induksi protein proinflamasi seperti iNOS dan COX-2 sebagai respon terhadap stimulasi dengan lipopolisakarida. Flavonoid mampu secara signifikan mengurangi produksi dan sekresi oksida nitrat, IL-1 $\beta$  dan TNF- $\alpha$  dinilai dari tingkat aktivasi c-Jun-N-terminal kinase (JNK), *p38-mitogen activated protein kinase* (p38-MAPK), ekstraseluler signal regulated kinase 1/2 (ERK1/2) dan Akt yang menurun secara signifikan dan berkorelasi dengan berkurangnya aktivasi *nuclear factor- $\kappa$ B* (NF- $\kappa$ B), dan mencegah translokasinya ke nukleus yang dapat memediasi transkripsi gen pro-inflamasi (Poulose *et al*, 2012).

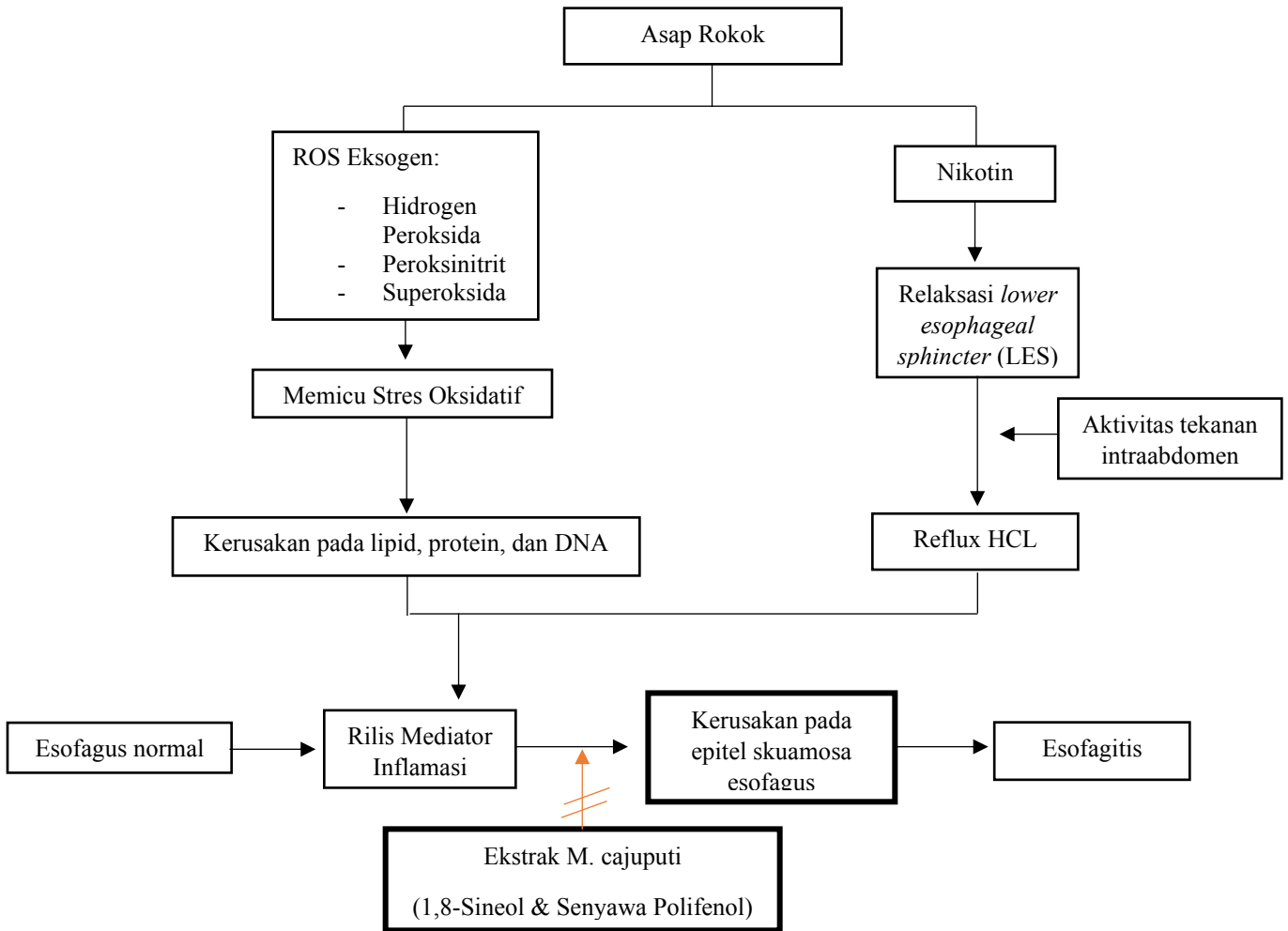
*Melaleuca cajuputi* mempunyai bahan aktif utama *Eucalyptol* atau *1,8-cineole* yang merupakan senyawa monoterpen berkhasiat sebagai anti inflamasi dan antioksidan. 1,8-sineol sebagai antiinflamasi telah dibuktikan dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, dan ekspresi dari NOS-2, COX-2 dan NF- $\kappa$ B t sedangkan 1,8-sineol sebagai antioksidan terhadap ROS (*reactive oxygen species*) dapat mempertahankan jumlah sel-sel dan morfologinya dengan cara menghambat produksi ROS intraseluler dan meningkatkan enzim antioksidan seperti katalase (CAT), superoksid dismutase (SOD), 3eductase53eperoksidase (GPx), glutation 53eductase (GR) dan heme-oksigenase 1 (HO-1) sehingga apoptosis berkurang karena adanya pengurangan aktivitas ROS yang disebabkan oleh H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Sudrajat, 2020).

### 2.5.3. Ibuprofen Sebagai Pembanding Ekstrak *Melaleuca cajuputi*

Untuk membandingkan efek penggunaan ekstrak *Melaleuca cajuputi* terhadap anti inflamasi diberikan ibuprofen sebagai obat yang umum dipakai sebagai analgetik dan antiinflamasi dikarenakan penelitian ilmiah memberikan bukti aktivitas biologis yang belum pernah dimanfaatkan secara tradisional oleh tanaman tersebut, walaupun penggunaan ibuprofen berkaitan dengan efek samping gastrointestinal namun efek samping tersebut belum terjadi sebelum terdiagnosis esofagitis (Andreson *et al*, 2006). Maka dari itu, akan lebih baik menggunakan produk tanaman alami yang mempunyai sifat anti-inflamasi namun dengan efek samping yang minimum (Miguel *et al*, 2021).



## Kerangka Teori

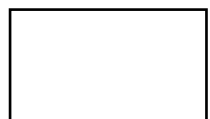


Gambar 9. Kerangka Teori (Angelis *et al*, 2014; Purbaningsih, 2020; Naisali *et al*, 2017; Akrom & Hidayati, 2021; Azer & Reddivari., 2023)

### Keterangan:



: Variabel yang diteliti

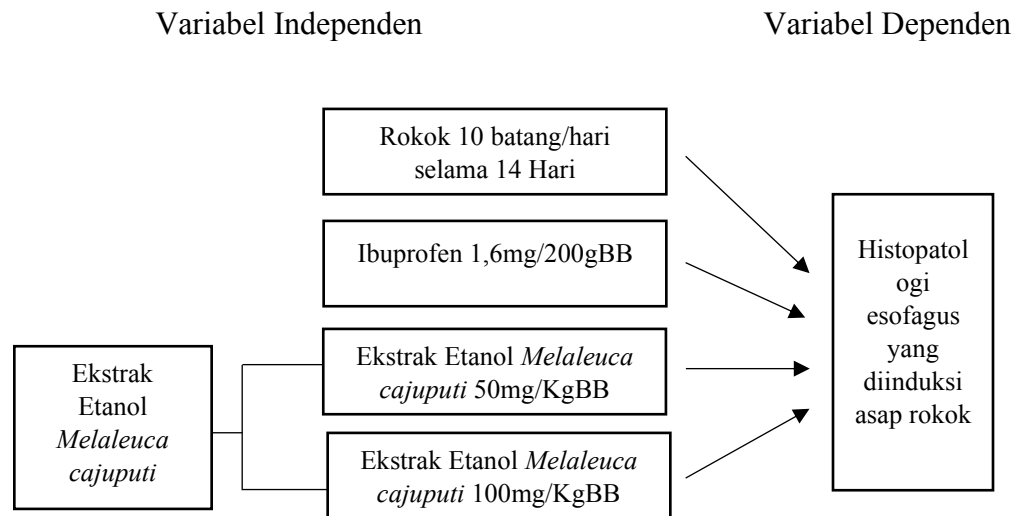


: Variabel yang tidak diteliti



: Variabel yang dihambat

## 2.6. Kerangka Konsep



Gambar 10. Kerangka Konsep

## 2.7. Hipotesis

a)  $H_0$ :

- 1) Tidak terdapat pengaruh ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* terhadap gambaran esofagus tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diinduksi asap rokok.

b)  $H_a$ :

- 1) Terdapat pengaruh ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* terhadap gambaran esofagus tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diinduksi asap rokok.

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1. Desain Penelitian**

Peneliti menggunakan desain analitik kuantitatif eksperimental dengan metode *true experiment post test–only control group design*, dimana peneliti akan mencari analisis efek etanol daun kayu putih terhadap gambaran histopatologi esofagus yang diinduksi asap rokok.

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

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Oktober–Desember 2023 di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Hewan dipelihara di *Animal House* FK Unila. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium FMIPA Unila. Analisis histopatologi esofagus dilakukan di laboratorium Histo-PA FK Unila.

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

#### **3.3.1. Populasi**

Populasi penelitian ini merupakan tikus putih (*Rattus novergicus*) dewasa jantan galur Sprague-Dawley berumur 2,5-3 bulan dengan berat 150–200gram yang diperoleh dari PTC (Palembang Tikus Centre).

#### **3.3.2. Sampel**

Sampel pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) dewasa jantan galur *Sprague-Dawley*.

Besar sampel dihitung menggunakan rumus Frederer dengan rumus:

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

Keterangan:

t = jumlah kelompok percobaan

n = jumlah pengulangan atau jumlah sampel setiap kelompok

Penelitian ini menggunakan 4 kelompok perlakuan sehingga t = 5, maka didapatkan:

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

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Jumlah sampel yang didapatkan dari perhitungan diatas adalah 4,75 yang dibulatkan menjadi 5 yang berarti membutuhkan 5 tikus dalam setiap kelompok. Untuk menghindari *drop out* maka akan ditambahkan tikus dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

N = besar sampel koreksi

n = besar sampel awal

F = perkiraan proporsi *drop out* sebesar 30%

Berdasarkan rumus di atas maka dapat diperoleh estimasi besar sampel sebanyak:

$$N = \frac{5}{(1-f)}$$

$$N = \frac{5}{(1-30\%)}$$

$$N = \frac{5}{(1-0,3)}$$

$$N = \frac{5}{0,7}$$

$$N = 7,14 \sim 8$$

Pada hasil perhitungan di atas didapatkan hasil sampel yang digunakan pada setiap 5 kelompok adalah 8 ekor tikus dan pada penelitian ini terdapat 5 kelompok, sehingga penelitian ini akan menggunakan total sampel sebanyak 40 ekor tikus putih.

Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *Simple Random Sampling*. Adapun kriteria yang digunakan dalam penelitian ini adalah kriteria inklusi dan eksklusi.

a. Kriteria Inklusi

- 1) Tikus putih (*Rattus novergicus*)
- 2) Usia 2,5-3 bulan
- 3) Tikus dengan jenis kelamin jantan dikarenakan hormon testosterone mempunyai mekanisme pertahanan stress oksidatif dengan meningkatkan antioksidan lebih tinggi dan penurunan apoptosis yang significant dari pada tikus dengan jenis kelamin betina (Pratiwi *et al*, 2022).
- 4) Berat badan 150-200 gram
- 5) Tikus sehat dengan kriteria tikus sehat bulu bersih, halus, mengkilat, bola mata berwarna merah muda dan terlihat jernih, hidung dan mulut tidak terdapat berlendir atau mengeluarkan air liur, konsistensi feses tikus normal dan padat, tidak cair, hewan

bergerak aktif, berat badan selama adaptasi tidak boleh kurang dari 10% dari berat awal.

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Adanya penurunan berat badan >10% setelah masa adaptasi.
- 2) Tikus mati selama masa pemberian perlakuan.

### 3.4. Kelompok Perlakuan

1. Kelompok Kontrol Normal (KN), yaitu kelompok tikus yang tidak diberi asap rokok dan ekstrak daun kayu putih.
2. Kelompok Kontrol Positif (K+), yaitu kelompok tikus yang diberi asap rokok selama 14 hari dengan 10 batang tiap harinya tidak diberi ekstrak daun kayu putih dan ibuprofen.
3. Kelompok Perlakuan 1 (P1), yaitu kelompok tikus yang diberi asap rokok selama 14 hari dengan 10 batang tiap harinya dan diberi ekstrak daun kayu putih 50 mg/kgBB.
4. Kelompok Perlakuan 2 (P2), yaitu kelompok tikus yang diberi asap rokok selama 14 hari dengan 10 batang tiap harinya dan diberi ekstrak daun kayu putih 100 mg/kgBB.
5. Kelompok Perlakuan 3 (P3), yaitu kelompok tikus yang diberi asap rokok selama 14 hari dengan 10 batang tiap harinya dan diberi ibuprofen 1,6 mg/200grBB.

### 3.5. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

#### 3.5.1. Identifikasi Variabel

##### 3.5.1.1. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variable dalam penelitian ini adalah ekstrak *Melaleuca cajuputi*.

### 3.5.1.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi esofagus tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley* yang diinduksi asap rokok.

### 3.5.2. Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional variabel penelitian berarti sebuah definisi berdasarkan pada karakteristik yang dapat atau akan diobservasi yang menguraikan perilaku yang dapat diamati dan dapat diuji serta ditentukan kebenarannya (Nurchahyo dan Khasanah, 2016). Definisi operasional pada penelitian ini akan dijelaskan pada tabel berikut.

Tabel 1. Definisi Operasional (Gertsen & Huber, 2022; Yin, 2020)

No	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Ekstrak daun kayu putih ( <i>Melaleuca cajuputi</i> ) dan Ibuprofen	<i>Melaleuca cajuputi</i> adalah Ekstrak yang mempunyai kandungan anti-inflamasi yang telah dibuktikan dapat mengurangi ekspresi lebih dari sitokin pro inflamasi (Yin, 2020). Ibuprofen adalah NSAID/ <i>non-steroidal antiinflammatory drug</i> yang umum digunakan sebagai analgesik dan antiinflamasi serta sebagai pembanding ekstrak <i>Melaleuca cajuputi</i> (Logu et al, 2019).	Timbangan	Menggunakan alat ukur neraca, gelas ukur, dan pipet. Didapatkan dosis, P1: 50 mg/kgBB <i>Melaleuca cajuputi</i> P2: 100 mg/kgBB <i>Melaleuca cajuputi</i> P3: 1,6 mg/200gBB Ibuprofen	Ordinal 0: tidak diberi ekstrak daun kayu putih. 1: diberi ekstrak daun kayu putih dengan dosis 50 mg/kgBB, 2: diberi ekstrak daun kayu putih dengan dosis 100 mg/kgBB. 3: diberi ibuprofen dengan dosis 1,6 mg /200grBB
2	Histopatologi sel inflamasi esofagus tikus putih	Gambaran kerusakan esofagus secara mikroskopis dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya	Mikroskop cahaya	Penilaian esofagitis secara mikroskopis menurut Gertsen dan Huber (2022) dapat dilihat dengan adanya sel inflamasi: 0: tidak ada 1: ada	Nominal

3	Histopatologi elongasi papila esofagus tikus putih	Gambaran kerusakan esofagus secara mikroskopis dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya.	Mikroskop Cahaya	Penilaian esofagitis secara mikroskopis menurut Gertsen dan Huber (2022) dapat dilihat dengan adanya elongasi papila: 0: tidak ada 1: ada	Nominal
---	--	---	------------------	---	---------

---

### 3.6. Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.6.1. Alat Penelitian

Peralatan yang diperlukan yaitu:

- 1) Neraca analitik
- 2) Kandang tikus dengan ukuran sesuai dengan jumlah tikus perkelompok
- 3) Botol minum tikus sebanyak 1 hingga 2 buah
- 4) Tempat makan tikus
- 5) Minor set, untuk membedah tikus
- 6) Mikrotom
- 7) Mikroskop
- 8) Alat pembuatan preparat histologi: *tissue cassette*, inkubator, kertas tisu, oven, kapas, spiritus, kaca objek *rotary microtome*, *disposable knife*, *slide*.

#### 3.6.2. Bahan Penelitian

Bahan yang diperlukan untuk penelitian yaitu:

- 1) Tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur Sprague-Dawley
- 2) Ekstrak *Melaleuca cajuputi*
- 3) Pakan berprotein tinggi dan minum tikus
- 4) Etanol 96%
- 5) Bahan untuk pembuatan preparat histologi: formalin 10%, aquades, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 95%, alkohol absolut, etanol, xylol, pewarna hematosilin dan eosin, parafin.



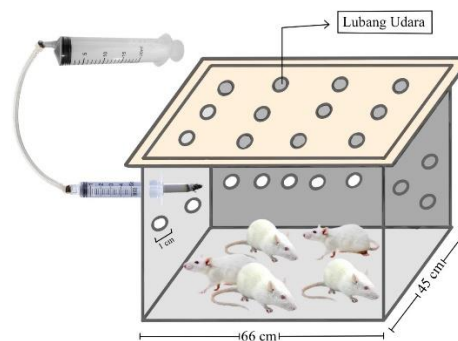
### 3.7. Prosedur Penelitian

#### 3.7.1. Aklimatisasi Hewan Coba

Adaptasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley sebanyak 40 ekor dilakukan selama 14 hari di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sebelum diberi perlakuan. Tujuan diberikannya adaptasi ini adalah untuk menyeragamkan cara hidup dan makanan sebelum diberi perlakuan. Tikus ditempatkan secara acak ke dalam 5 kelompok sesuai jumlah kelompok perlakuan dalam penelitian ini (Meidina, 2022).

#### 3.7.2. Pemberian dan Perhitungan Kadar Asap Rokok

Pemberian asap rokok pada perlakuan KN, K(+), P1, P2, P3 dihitung menggunakan referensi dari studi Jamil *et al* (2018) dimana adanya hubungan antara merokok dengan IL-6 pada tubuh. IL-6 akan meningkat ketika adanya inflamasi di tubuh salah satunya dapat diakibatkan oleh asap rokok. Penelitian oleh Yu *et al* (2018) mengungkapkan bahwa TNF- $\alpha$  dan IL-16 dapat dikaitkan dengan gangguan fungsi paru. Dengan ini, IL-6 dapat dijadikan penanda biokimia untuk menilai kerusakan inflamasi akibat asap rokok. Oleh karena itu, dalam penelitian ini juga akan menggunakan jumlah rokok sebanyak 10 batang per hari selama 14 hari (Jamil *et al*, 2016).



Gambar 11. *Smoking Chamber*

Penginduksian asap rokok dilakukan pada *Smoking chamber* dengan banyak lubang udara untuk mencegah terjadinya hipoksia (Zettira OZ, 2018). Ukuran kandang mengikuti syarat dan ketentuan dalam *Guidelines for Housing of Rats in Scientific Institution* oleh Upa *et al* (2017) dimana minimal untuk 6 ekor tikus adalah 1.800 cm<sup>2</sup>, pada penelitian ini digunakan 8 ekor tikus yang berarti membutuhkan kandang minimal sebesar 2.400 cm<sup>2</sup>. Kandang nantinya akan diberikan selang yang ujungnya disambungkan dengan spuit 3cc dan spuit 20cc.

### **3.7.3. Pembuatan Ekstrak Daun Kayu Putih**

Ekstrak daun kayu putih diambil dari CV Berkah Jaya berlokasi di Kabupaten Lampung Tengah. Pembuatan ekstrak daun kayu putih diawali dengan bahan baku dikeringkan dengan sirkulasi udara cukup baik. Pengeringan dilakukan selama tiga hari dan sesekali dibolak balik dengan tujuan agar pengeringannya merata (Aryani, 2020). Setelah mengering secara merata, bahan baku dihaluskan kemudian direndam dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:1 selama 72 jam sambil diaduk setiap 3 jam. Pelarut yang akan digunakan dalam ekstraksi adalah etanol 96% karena menurut Irvan *et al* (2015) dapat menghasilkan rendemen *Melaleuca cajuputi* yang tertinggi, dimana semakin tinggi rendemen semakin baik pula kualitas ekstraknya. Hasil campuran kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 55 derajat C dan terakhir minyak astiri dimurnikan menggunakan bahan kimia MgSO<sub>4</sub> (*magnesium sulfat*) yang berfungsi sebagai pengikat air dan kotoran yang masih tercampur pada minyak (Aryani 2020; Hakim, 2019).

### **3.7.4. Pemberian Ekstrak Daun *Melaleuca cajuputi***

Dosis *Melaleuca cajuputi* yang digunakan untuk Kelompok P1 adalah 50 mg/KgBB dan KP2 adalah 100 mg/KgBB didasarkan penelitian oleh

Fitriyani *et al* (2011) mengungkapkan pada ekstrak yang mempunyai kandungan utama sama yaitu flavonoid, saponin, tannin dengan dosis 50 mg/KgBB dan 100 mg/KgBB sudah dapat mereduksi inflamasi dan dosis 50mg/KgBB mempunyai efek antiinflamasi yang paling besar. Penelitian oleh Caldas (2016) didapatkan bahwa dosis 250, 500, atau 1000 mg/KgBB tidak memproduksi tanda-tanda toksisitas ataupun kematian. Ekstrak nantinya akan dilarutkan etanol dengan konsentrasi 96% yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab inflamasi. Dosis diberikan secara *ad libitum* satu kali sehari menggunakan sonde lambung dengan dosis yang sudah ditentukan (Yin, 2020; Caldas, 2016; Irvan *et al*, 2015).

Hal ini berarti sebagai berikut:

a. Dosis untuk P1

Pada tikus dengan berat 200gram maka dosis per ekor tikus sebesar:

$$200 \text{ g} = 0,2 \text{ kg, maka } 50 \text{ mg/KgBB} \times 0,2 \text{ Kg} = 10 \text{ mg/tikus.}$$

b. Dosis untuk P2

Pada tikus dengan berat 200gram maka dosis per ekor tikus sebesar:

$$200 \text{ g} = 0,2 \text{ kg, maka } 100 \text{ mg/KgBB} \times 0,2 \text{ Kg} = 50 \text{ mg/tikus.}$$

### 3.7.5. Terminasi Hewan Coba

Pada akhir masa perlakuan, tikus putih galur Dawley akan diterminasi (eutanasi) yang diawali dengan pemberian anastesi terlebih dahulu kepada hewan coba. Teknik eutanasia harus menyebabkan hilangnya kesadaran dan kematian tanpa rasa sakit. Teknik terminasi hewan uji dapat berupa dislokasi leher, anastesi secara inhalasi atau penyuntikan, dan cara pengeluaran darah melalui vena jugularis atau arteri karotis. Terminasi hewan coba dengan diberikan anesthesia serta euthanasia dengan menggunakan Ketamine-xylazine. Setelah itu, dilakukan terminasi dengan metode cervical dislocation. setelah dipastikan mati, dilakukan pengambilan dan pembuatan preparat esofagus (Kementrian Pertanian, 2016).

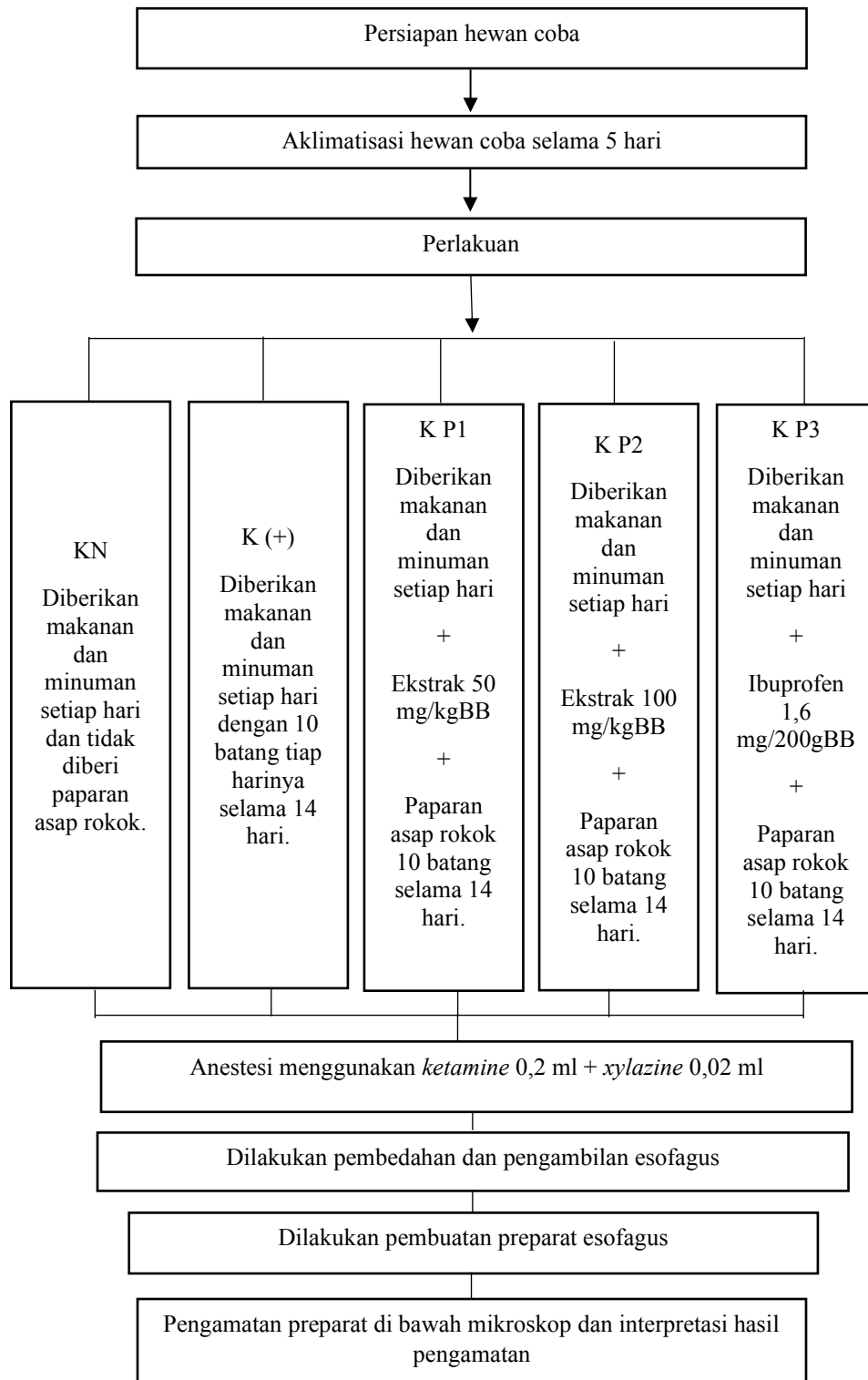
### 3.7.6. Pembuatan Preparat Histologi

Preparat dibuat menggunakan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E) yang kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya. Proses pembuatan preparat histologi:

1. Spesimen berupa potongan organ esofagus yang telah dipotong pada saat pembedahan organ diberikan dengan formalin 10% dan didiamkan selama 24 jam.
2. Organ dipotong dengan ukuran  $\pm 3$  mm. Potongan esofagus tersebut lalu dimasukkan ke dalam tabung kecil dan dicuci dengan air mengalir.
3. Organ yang berada di dalam tabung kecil didehidrasi dengan Alkohol 70% selama 2 jam, alkohol 80% 2 jam, alkohol 96% selama 24 jam, alkohol 96% selama 30 menit, alkohol absolut selama 1 jam diulang selama 3 kali dan dilakukan penjernihan menggunakan xylol selama 1 jam diulang 2 kali.
4. Kemudian potongan organ dimasukan dalam tabung kecil lain berisi paraffin cair dan dipanaskan dalam suhu 50-60 derajat selama 1 jam dan kemudian di pindahkan ke tabung kecil berisi paraffin cair dan dipanaskan kembali dalam suhu 50-60 derajat selama 1 jam.
5. Paraffin cair kemudian dituangkan ke dalam tissue cassette dan didinginkan dalam suhu ruangan.
6. Blok kemudian didinginkan di lemari es selama 1-2 jam, kemudian dilakukan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron. Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*. Lembaran potongan dipilah yang paling baik dan terkena seluruh jaringan yang akan digunakan, kemudian diapungkan dalam air yang dipanaskan dengan suhu yang tidak terlalu panas dan tidak terlalu dingin. Lembaran diambil dengan menggunakan gerakan menyendok kemudian *slide* diberi nama dan didiamkan pada suhu ruangan selama 24-48 jam.

7. Setelah dikeringkan, dilakukan deparafinisasi dengan memasukkan *slide* pada larutan xylol III selama 5 menit, xylol II selama 5 menit, xylol I selama 5 menit dan dilanjutkan dengan alkohol bertingkat, alkohol absolut 3 menit, alkohol 96% 3 menit, alkohol 70% 3 menit, dan dibilas menggunakan air mengalir 3 menit. Pewarnaan inti menggunakan hemaktosilin yang bersifat basa, dicelupkan selama 7 menit kemudian dibilas air mengalir selama 10 menit. Kemudian celupkan pada eosin yang bersifat asam selama 3 menit dan setelah itu dibilas kembali dengan air mengalir selama 10 menit. Setelah selesai didehidrasi kembali dengan alkohol 70% selama 3 menit, alkohol 96% 3 menit, dan alkohol absolut 3 menit, dilanjutkan pemberian xylol I selama 5 menit, xylol II selama 5 menit, dan xylol III selama 5 menit.
8. Setelah pewarnaan selesai, *slide* dikeringkat dan ditetesi dengan bahan mounting, yaitu entelan, dan ditutup dengan *cover glass*. Cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.
9. Pembacaan preparat *slide* diperiksa di bawah mikroskop cahaya.

### 3.8. Alur Penelitian



Gambar 12. Alur Penelitian

### 3.9. Teknik Analisis Data

#### 3.9.1. Analisis Univariat

Setiap variabel yang diperoleh dari hasil penelitian dilakukan analisis univariat menghitung distribusi frekuensi dan proporsi masing-masing variabel. Variabel yang digunakan adalah kelompok perlakuan, elongasi papilla, dan sel inflamasi esofagus.

#### 3.9.2. Analisis Bivariat

Analisis bivariat dilakukan untuk menentukan hubungan antara variabel yang ada, dikarenakan variabel bersifat kategorik maka dilakukan uji *Chi-square BxK* untuk mengetahui hubungan antar variabel independent dan dependent dengan tingkat kemaknaan  $p < 0,05$  dengan syarat nilai ekspektasi kurang dari 5 dan tidak boleh lebih dari 20%. Jika tidak memenuhi syarat, dilakukan uji pemisahan atau penggabungan sel kemudian dilakukan uji *Fisher* untuk mengetahui perbedaan setiap variabel.

### 3.10. Ethical clearance

*Ethical clearance* penelitian ini sudah didapatkan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung bernomor 3428/UN26.18/PP.05.02.00/2023. Penelitian ini menerapkan prinsip dasar etik pelaksanaan penelitian penggunaan hewan coba, yaitu:

1. Tiga pilar prinsip etik penelitian
  - a. Menghormati hewan coba yang digunakan.
  - b. Bermanfaat dikemudian hari baik untuk manusia ataupun makhluk hidup lain.
  - c. Adil ketika memanfaatkan hewan coba.

2. Prinsip etik penggunaan hewan coba 3R, yaitu:
  - a. *Replacement*, prinsip menghindari penggunaan hewan di dalam penelitian.
  - b. *Reduction*, prinsip mendapatkan hasil yang optimal namun dengan jumlah hewan coba yang seminimal mungkin.
  - c. *Refinement*, memperlakukan hewan coba dengan rasa manusiawi sehingga mengurangi stres dan rasa sakit pada hewan coba.
  
3. Prinsip etik pemeliharaan dan perlakuan terhadap hewan coba
  - a. Bebas dari lapas dan haus.
  - b. Bebas dari penyakit, nyeri, dan luka
  - c. Bebas dari rasa tidak nyaman
  - d. Bebas dari takut dan kesulitan
  - e. Menunjukkan tingkah laku alami



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Tidak terdapat efek induksi asap rokok terhadap sel inflamasi esofagus tikus putih
2. Terdapat efek induksi asap rokok terhadap elongasi papila esofagus tikus putih
3. Tidak terdapat efek pemberian ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* dosis 50 mg/KgBB terhadap sel inflamasi esofagus yang diinduksi asap rokok.
4. Tidak terdapat efek pemberian ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* dosis 50 mg/KgBB terhadap elongasi papila esofagus yang diinduksi asap rokok.
5. Tidak terdapat efek pemberian ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* dosis 100 mg/KgBB terhadap sel inflamasi esofagus yang diinduksi asap rokok.
6. Terdapat efek pemberian ekstrak etanol *Melaleuca cajuputi* dosis 100 mg/KgBB terhadap elongasi papila esofagus yang diinduksi asap rokok.
7. Tidak terdapat efek pemberian ibuprofen terhadap sel inflamasi esofagus yang diinduksi asap rokok.
8. Tidak terdapat efek pemberian ibuprofen terhadap elongasi papila esofagus yang diinduksi asap rokok.

## 5.2. Saran

Saran untuk peneliti dari penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan intervensi asap rokok yang dibuat kronis dengan jangka waktu yang lebih dari 15 hari agar kehadiran sel inflamasi dan elongasi papila dapat meningkat
2. Perlu dilakukan pemberian ekstrak *Melaleuca cajuputi* dengan dosis bertingkat yang lebih besar untuk mengetahui dosis efektif yang mempengaruhi

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmadiyah, R, D. 2020. Uji Aktivasi Antioksidan Ekstrak Metanol Buah dan Bunga Galam (*Melaleuca cajuputi* subs. *cuingiana* (Turcz.) Barlow) dengan Metode DPPH. [Tesis]. Banjarmasin: Universitas Lambung Mangkurat.
- Airlangga, P. S., Rahardjo, P. 2022. Buku Ajar Anestesiologi dan Terapi Intensif Fisiologi Pernafasan. Semarang: Airlangga University Press.
- Akrom., Hidayati, T. 2021. Imunologi Radang. Azkiya Publishing: Jakarta.
- Alamy. 2006. Normal Esophagus: Gastroscopy. New York: BSIP SA
- Alfaridz F, Amalia R. 2018. Review Jurnal Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi Dari Senyawa Aktif Flavonoid. *Jurnal Farmaka*. 16(3): 1-9.
- Amri, A., Maulinda, L., Amin, A. 2015. Isolasi Nikotin dari Puntung Rokok Sebagai Insektisida. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 4(1): 100-120.
- Andrade C. 2022. The practical importance of half-life in psychopharmacology. *J Clin Psychiatry*. 83(4).
- Angelis N, Porpodis K, Zarogoulidis P, Spyrtos D, Kioumis I, Papaiwannou A, *et al*. 2014. Airway Inflammation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Journal of Thoracic Disease*. 6 (1): 167–172.
- Arnanda QP, Nuwarda RF. 2019. Review Article: Penggunaan Radiofarmaka Teknesium-99m dari Senyawa Glutation dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker. 17(2): 236-243.
- Aryani, F. 2020. Pemyulingan Minyak Kayu Putih (*Melaleuca cajuputi*) dengan Suhu yang berbeda. *Jurnal Buletin LOUPE*. 16(02): 51-57.
- Azer, S, A., Reddivari, A, K, R. 2023. Reflux Esophagitis. Florida: StatPearls Publishing.
- Bahrn M, Mamada SS, Lallo S, Sumarheni. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Temu Putih (*Curcuma zoaria* (Berg.) Roscoe) Terhadap Kadar Enzim LDH Tikus

- Putih (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Asap Rokok. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 23(2): 67-70.
- Blowman, K., Magalhães, M., Lemos, M. F. L., Cabral, C., Pires, I. M. 2018. Anticancer Properties of Essential Oils and Other Natural Products. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 3149362.
- Boucherat O, Boczkowski J, Jeannotte L, Delacourt C. 2013. Cellular and molecular mechanisms of goblet cell metaplasia in the respiratory airways. *Experimental Lung Research*. 39: 4–5.
- Cahyani KIS, Sarihati IGAD, Arjani IDAS, Kurniawan SB, Bekti HS. 2020. Gambaran Serum Interleukin-6 Pada Perokok Aktif. 8(2): 108-120.
- Caitlin G, Cornelius ME, Jamal A, Cheng YJ, Homa DM. 2022. Cigarette Smoking Among US Adults with Selected Chronic Diseases Associated with Smoking. CDC.
- Caldas, G. F., Limeira, M. M., Araújo, A. V., Albuquerque, G. S., Silva-Neto, J. D., Silva, T. G., Costa-Silva, J. H., *et al.* 2016. Repeated-doses and reproductive toxicity studies of the monoterpene 1,8-cineole (eucalyptol) in Wistar rats. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 97, 297–306.
- Desdiani, D., Fadilah, F., Sutarto, A, P. 2022. The effects of melaleuca cajuput oil (Melaleuca cajuputi) herbal treatment on clinical, laboratory, and radiological improvement and length of hospital stay in COVID-19 patients. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 12(6): 122-127.
- Efruan, G. K., Martosupono, M., & Rondonuwu, F. S. 2016. Bioaktivitas senyawa 1, 8-sineol pada minyak atsiri. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Fahri, I., Dianiati, K. S., Yunus, F., Pulmonologi, D., & Paru, I. K. R. F. S. 2009. Efek Peradangan Sistemik Pada PPOK Terhadap Sistem Kardiovaskular. *Jurnal Respirologi Indonesia*. 29(3): 1-13.
- Falih, S, M, J., Al-Saray, S, T., Alfaris, AA., Ali, A, A. (2022). Efek sinergis minyak kayu putih dan asam retinoat terhadap sel kanker esofagus manusia SK-GT-4. *Mesir J Med Hum Genet*. 23(70): 1-12.

- Fernandez, G, J. 2017. Sistem Pernapasan. Bali: Universitas Udayana.
- Fitriyani, A., Winarti, L., Muslichah, S., Nuri, N. (2011). Anti-inflammatory Activity of Piper crocatum Ruiz & Pav. Leaves metanolic extract in rats. *Majalah Obat Tradisional*. 16(1): 34-42.
- Husairi, A., Sanyoto, D, D., Yuliana, I., Panghiyangani, R., Asnawati, Triawanti. 2020. Sistem Pencernaan Tinjauan Anatomi, Histologi, Biologi, Fisiologi Dan Biokimia. Purwekerto: CV IRD.
- Idris R, Hadi H. 2006. Pengaruh Asap Rokok Kretek Terhadap Imunitas Seluler Tikus Betina Strain Lmr. *Jurnal Keperawatan Indonesia*. 10(2): 41-47.
- Irdalisa, Paidi, Djukri. 2019. Modul Sistem Pencernaan Pada Manusia. Tadulako: Universitas Tadulako.
- Irvan, Manday PB, Sasmitra J. 2015. Ekstraksi 1,8-Cineole dari Minyak Daun Eucalyptus Urophylla Dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal Teknik Kimia*. 4(3): 52-57.
- Jamil A, Rahid A, Naveed AK. 2018. Effect of Smoking on Interleukin-6 Sparague Dawley Rats. *Pak Armed Forces Med*. 68(3) 658-663.
- Kabrahamubun, B, E., Rahawarin, H., Taihuttu, Y, M, J., Siananu, J., Kushaduan, I., Hataul, I, I. (2022). Pengaruh Inhalasi Minyak Kayu Putih (Melaleuca Leucadendron) Terhadap Gambaran Histologi Lambung Mencit Jantan (Mus Musculus) Yang Diinduksi Stres Akut. *Pattimura Medical Review*. 4(2): 64-72.
- Kemenkes RI. 2019. Modul Teori Anatomi Fisiologi. Palangka Raya: Kemenkes RI
- Kemenkes. 2022. Kandungan Rokok yang Berbahaya Bagi Kesehatan. [https://yankes.kemkes.go.id/view\\_artikel/406/kandungan-rokok-yang-berbahaya-bagi-kesehatan](https://yankes.kemkes.go.id/view_artikel/406/kandungan-rokok-yang-berbahaya-bagi-kesehatan)
- Kementerian Kesehatan RI. 2013. Info DATIN: Hari tanpa tembakau sedunia. p.12. Jakarta: Kemenkes RI.
- Kementrian Pertanian. 2016. Penggunaan dan penanganan hewan coba rodensia dalam penelitian sesuai dengan kesejahteraan hewan. Bogor: Pusat Penelitian Dan Pengembangan Peternakan Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian.

- Latenriolle, M. 2018. Proporsi Penderita Esofagitis Berdasarkan Pemeriksaan Endoskopi di Rumah Sakit Haji Jakarta Tahun 2015-2018. UIN Syarif Hidayatullah: Jakarta Selatan.
- Lisdiana, Nuraini. 2018. Potensi Augenol Sebagai Agen Proteksi Kerusakan Struktur Paru Akibat Paparan Asap Rokok. *Jurnal MIPA*. 41(2): 87-95.
- Logu FD, Puma SL, Landini L, Tuccinardi T, Poli G, Preti D, et al. (2019). The Acyl-Glucuronide Metabolite of Ibuprofen Has Analgesic And Anti-Inflammatory Effects Via The TRPA1 Channel. *Pharmacological Research*. 142: 127-139.
- Maharani R., Fernandes A. (2021). Profil Fitokimia Dan GCMS Daun Sirih Hitam (Piper betle L.) Dari Sekitar KHDTK Labanan, Kabupaten Berau. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 25 (1): 11-14.
- Mediansyah A., Rahmanisa S. 2017. Hubungan Ibuprofen terhadap Ulkus Gaster. *Jurnal Majority*. 6(1): 6-10.
- Mertajaya IM, Anggraini Y, Leniwita H. 2019. Modul Ilmu Biomedik Dasar. Jakarta: Universitas Kristen Indonesia.
- Miguel MG, da Silva CI, Farah L, Castro Braga F, & Figueiredo AC. (2020). Effect of Essential Oils on the Release of TNF- $\alpha$  and CCL2 by LPS-Stimulated THP-1 Cells. *Plants (Basel, Switzerland)*. 10(1): 50.
- Mutia V. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 95% Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*) Terhadap Histopatologi Paru pada Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) Galur *Sprague dawley* yang Terpapar Asap Rokok. Lampung: Universitas Lampung.
- Naisali, M, N., Putri, R, S, M., Nurmaningsari, T. 2017. Hubungan Perilaku Merokok dengan Kejadian Gastritis pada Mahasiswa Teknik Sipil Universitas Tribuhuwana Tungadewi Malang. *Nursing News Journal*. 2(1): 304-317.
- Nejat Pish-Kenari, F., Qujeq, D., & Maghsoudi, H. (2018). Some of the effective factors in the pathogenesis of gastro-oesophageal reflux disease. *Journal of cellular and molecular medicine*, 22(12), 6401–6404.

- Oktarina DR, Susilawati Y, Halimah E. (2021). The Potential of Phyllanthus Genus Plants as Immunomodulatory and Anti Inflammatory. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*. 1(2):47-77.
- Parwata, I, M, O, A. 2015. Antioksidan. Bali: Universitas Udayana.
- Pogorelov, K., Schmidt, P. T., Riegler, M., Halvorsen, P., Randel, K. R., Griwodz, C., et al. 2017. KVASIR. Proceedings of the 8th ACM on Multimedia Systems Conference – MMSys. 17.
- Poljsak B, Fink R. 2014. The Protective of Antioxidants In The Defense Against ROS/RNS-Mediated Environmental Pollution. Slovenia: Hindawi Publishing.
- Poulose, B. K., Shelton, J., Phillips, S., Moore, D., Nealon, W., Penson, D., et al. 2012. Epidemiology and cost of ventral hernia repair: making the case for hernia research. *Hernia: the journal of hernias and abdominal wall surgery*. 16(2). 179–183.
- Prabowo, S, D., Ibrahim, A., Sulistiarni R. 2016. Perubahan Profil Farmakokinetika Ibuprofen yang Diberikan dengan Kombinasi Vitamin C pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus L.*). *J. Trop. Pharm. Chem*. 3(3): 170-178.
- Pratiwi EC, Trinovita E, Teomon AI. 2022. Literature Review. Hubungan Model Hewan Coba (Faktor Jenis Kelamin dan Hormon) pada Sensitivitas Induksi Streptozotocin Sebagai Agen Diabetogenik. *Jurnal Surya Medika*. (7)2: 132-141.
- Proshkina, E., Plyusnin, S., Babak, T., Lashmanova, E., Maganova, F., Koval, L., et al. 2020. Terpenoids as Potential Geroprotectors. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 9(6): 529.
- Purbaningsih, E, S. 2020. Analisis Faktor Gaya Hidup yang Berhubungan dengan Risiko Kejadian Gastritis Berulang. *Jurbal Syntax Idea*. 2(5): 50-60.
- Qabaha, K., Ras, S. A., Abbadi, J., & Al-Rimawi, F. (2016). Anti-Inflammatory Activity of *Eucalyptus* Spp. And *Pistascia Lentiscus* Leaf Extracts. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicine: AJTCAM*. 13(5): 1–6.

- Rahayuningsih A. 2017. Hubungan Pengetahuan dengan Sikap Suami Tentang Pengaruh Paparan Asap Rokok Terhadap Kehamilan di RSUD Wates. Yogyakarta: Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan.
- Rainsford, K.D. 2012. Ibuprofen: Pharmacology, Therapeutics and Side Effects. London: Springer.
- Rieder F, Biancani P, Harnett K, Yerian L, dan Falk GW. 2010. Inflammatory mediators in gastroesophageal reflux disease: impact on esophageal motility, fibrosis, and carcinogenesis. *American journal of physiology*. 298(5): 571–581.
- Rizaldi MA, Azizah R, Latif MT, Sulistyorini L, Salindra BP. 2022. Literatur Review: Dampak Paparan Gas Karbon Monoksida Terhadap Kesehatan Masyarakat yang Rentan dan Beresiko Tinggi. *Jurnal kesehatan lingkungan indonesia*. 21(3): 253–265.
- Russi EW, Karrer W, Brutsche M, Eich C, Fitting JW, Frey M, *et al.* 2013. Diagnosis and Management of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: The Swiss Guidelines. *Respiration*. 85: 160–174.
- Samiran. (2016). Efek Perilaku Merokok Terhadap Saluran Pernapasan. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 16(3): 1-4.
- Santoso P, Cahyaningsih E, Darmayanti GAPE. 2020. Pengaruh Pemberian ekstrak n-Butanol Buah Dewandari (*Eugenia uniflora L*) Terhadap Gambaran Hsitopatologi Paru Mencit (*Mus musculus*) Jantan yang Terpapar Asap Rokok. *Jurnal Ilmiah Medicamento*. 6(1): 23-27.
- Schneider NI, Plieschnegger W, Gepper M, Wigglinghaus B, Hoess GM, Eherer A, *et al.* (2014). Validation study of the Esohisto consensus guidelines for the recognition of microscopic esophagitis (histoGERD Trial). *Human Pathology*. 45(5): 994–1002.
- Souza RF. (2016). From Reflux Esophagitis to Esophageal Adenocarcinoma. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)* 34(5): 483–490.
- Souza RF. (2017) Reflux esophagitis and its role in the pathogenesis of Barrett's metaplasia. *J Gastroenterol*. 52: 767–776.



- Sudradjat SE. 2020. Minyak Kayu Putih, Obat Alami dengan Banyak Khasiat: Tinjauan Sistematis. *Jurnal Kedokteran Meditek*. 26(2): 51–59.
- Sugianto R. 2019. Faktor-Faktor Penyebab Merokok di Kawasan Tanpa Rokok Rumah Sakit Umum Daerah Abdul Wahab Sjahranie Kota Samarinda. *Ejournal Sosiatri-Sosiologi*. 7(1): 58-71.
- Suryadinata RV. 2016. Pengaruh Perubahan Hiperplasia Sel Goblet Selama 28 Hari Paparan Asap Rokok Dengan Pemberian Antioksidan Superoxide Dismutase. 11(1): 60-68.
- Susilawati IDA. 2021. Sumber Reactive Oxygen Species (ROS) Vaskular. 18(1): 1-10.
- Thrift AP, Jove AG, Liu Y, Tan MC, El-Serag HB. 2022. Associations of duration, intensity, and quantity of smoking with risk of gastric intestinal metaplasia. *Journal of clinical gastroenterology*, 56(1): 71-76.
- Upa, F. T., Saroyo, S., & Katili, D. Y. (2017). Komposisi Pakan Tikus Ekor Putih (*Maxomys hellwandii*) di Kandang. *Jurnal Ilmiah Sains*, 17(1), 7–12.
- Utama YA, Nainggolan SS. 2022. Faktor Resiko yang Mempengaruhi Kejadian Stroke: Sebuah Tinjauan Sistematis. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*. 22(1): 549-553.
- Vlahos R, Bozinovski S. 2014. Recent advances in pre-clinical mouse models of COPD. *Clinical Science*. 126(4): 253 – 265.
- Wang, G., Pan, C., Cao, K., Zhang, J., Geng, H., Wu, K., Wen, J., & Liu, C. (2022). Impacts of Cigarette Smoking on the Tumor Immune Microenvironment in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Cancer*, 13(2), 413–425.
- Weisenberg E. 2023. Esophagus Pathology Outlines website. <https://www.pathologyoutlines.com/topic/esophagusnormalhistology.html>
- WHO. 2023. Tobacco. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/faanoct-sheets/detail/tobacco>
- Xu J, Hu ZQ, Wang C, Yin ZQ, Wei Q, Zhou LJ, *et al*. 2014. Acute and subacute toxicity study of 1,8-cineole in mice. *Int J Clin Pathol*. 7(4): 1495– 1501.

- Yin C, Liu B, Wang P, Li X, Li Y, Zheng X, Tai Y, Wang C, Liu B. 2020. Eucalyptol alleviates inflammation and pain responses in a mouse model of gout arthritis. *Br J Pharmacol*. 177(9):2042-2057.
- Yu N, Sun YT, Su X M, He M, Dai B, Kang J. 2018. Treatment with eucalyptol mitigates cigarette smoke-induced lung injury through suppressing ICAM-1 gene expression. *Bioscience Reports*. 38(4): 1-10.
- Yulia N. 2020. Modul Anatomi Fisiologi. Jakarta: Universitas Esa Unggul.
- Zettira OZ. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Bekatul Beras Merah Terhadap Perubahan Diameter Lumen Arteri Koronaria Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Jantan Galur Sprague dawley yang diinsuksi paparan asap rokok kretek. [Skripsi]. Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Zhang, H. and Tsao, R. 2016. Dietary Polyphenols, Oxidative Stress and Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects. *Current Opinion in Food Science*. 8:33-42.