

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum
citriodorum*) TERHADAP KADAR TNF- α TIKUS SETELAH
PAPARAN ASAP ROKOK**

SKRIPSI

OLEH:

TIARA YUDHA PUSPITA
NIM. 16910034



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum citriodorum*) TERHADAP KADAR TNF- α TIKUS SETELAH PAPARAN ASAP ROKOK

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Universitas Islam Negeri

Maulana Malik Ibrahim Malang

**Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S. Ked)**

Oleh:

TIARA YUDHA PUSPITA

NIM. 16910034

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KEMANGI
(*Ocimum citriodorum*) TERHADAP KADAR TNF- α TIKUS
SETELAH PAPARAN ASAP ROKOK**

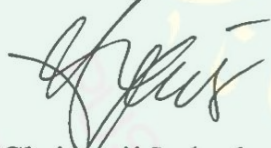
SKRIPSI

Oleh:

TIARA YUDHA PUSPITA
NIM. 16910034

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal 2 Juni 2020

Pembimbing I,



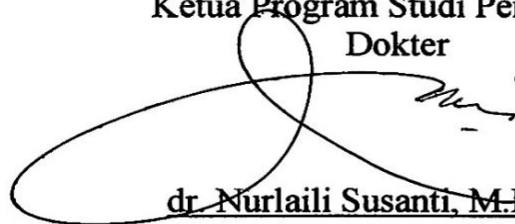
Dr. Christyaji Indradmojo
NIP. 19770611 200912 1 004

Pembimbing II,



drg. Risma Aprinda K., M.Si
NIP. 19821005 200912 2 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan
Dokter



dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed
NIP. 19831024 201101 2 007

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KEMANGI
(*Ocimum citriodorum*) TERHADAP KADAR TNF- α TIKUS
SETELAH PAPARAN ASAP ROKOK**

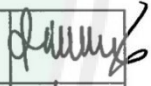
SKRIPSI

Oleh:

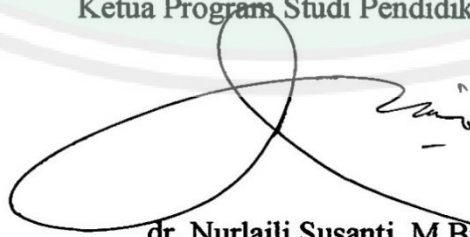
TIARA YUDHA PUSPITA

NIM. 16910034

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan
Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Kedokteran (S.Ked)
Tanggal: 3 Juni 2020

Penguji Utama	<u>dr. Ermin Rachmawati, M.Biomed</u> NIP. 19820924 200801 2 010	
Ketua Penguji	<u>drg. Risma Aprinda Kristanti, M.Si</u> NIP. 19821005 200912 2 001	
Sekretaris Penguji	<u>dr. Christyaji Indradmojo</u> NIP. 19770611 200912 1 004	
Penguji Integrasi Keislaman	<u>drg. Anik Listiyana, M.Biomed</u> NIP. 19800805 200912 2 001	

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter


dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed
NIP. 19831024 201101 2 007

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Tiara Yudha Puspita

NIM : 16910034

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 29 Mei 2020

Yang membuat pernyataan,



Tiara Yudha Puspita

NIM. 16910034

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum Wr. Wb

Puji syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini dengan judul : “Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap kadar TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok” sebagai langkah awal untuk menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih seiring do'a dan harapan, *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada seluruh pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. DR. H. Abd. Haris, M.Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp.B., Sp. BP-RE (K) dan dilanjutkan oleh Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati Prabowowati Wadjib, M. Kes, Sp. Rad (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
3. dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed, selaku ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
4. dr. Christyaji Indradmojo dan drg. Risma Aprinda K., M.Si selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan ilmu, bimbingan dan arahan yang sangat berarti bagi penulis.

5. dr. Ermin Rachmawati, M.Biomed dan drg. Anik Listiyana, M.Biomed selaku dosen penguji skripsi, yang telah banyak memberikan ilmu, bimbingan dan arahan yang sangat berarti bagi penulis
6. Segenap sivitas akademika Program Studi Pendidikan Dokter, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
7. Ayah, Mama dan Adik-adikku tercinta yang senantiasa memberikan doa, restu serta dukungan secara moril dan materiil yang tiada hentinya untuk menuntut ilmu dan menyelesaikan skripsi ini
8. Sahabat-sahabatku, Aldita, Silvi, Shanaz, Faiza, Safira, Tsalsa, Rizka dan Rozi yang selalu ada untuk penulis dan senantiasa saling memberikan semangat serta motivasi untuk menyelesaikan studi bersama-sama
9. Teman-teman NEONATUS 2016 yang selalu menyemangati dan menjadi tempat berbagi canda dan tawa selama hari-hari menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
10. Serta semua pihak yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan yang memerlukan kritik serta saran untuk penyempurnaan skripsi ini dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 29 Mei 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i> (TNF- α)	10
2.2 Inflamasi	12
2.2.1 Definisi Inflamasi	12
2.2.2 Klasifikasi Inflamasi.....	13
2.2.3 Etiologi Inflamasi	15
2.2.4 Mekanisme Inflamasi.....	16

2.2.5 Resolusi Inflamasi	22
2.2.6 Penanda Inflamasi.....	23
2.3 Mekanisme Inflamasi oleh Asap Rokok	24
2.4 Rokok	28
2.4.1 Definisi Rokok.....	28
2.4.2 Jenis Rokok.....	29
2.4.3 Komponen Kimia Rokok.....	30
2.5 Asap Rokok	31
2.6 <i>Reactive Oxygen Species</i>	35
2.6.1 Definisi <i>Reactive Oxygen Species</i>	35
2.6.2 Pembentukan <i>Reactive Oxygen Species</i>	36
2.6.3 Dampak <i>Reactive Oxygen Species</i>	40
2.7 Antioksidan	43
2.7.1 Jenis Antioksidan.....	43
2.7.2 Mekanisme Kerja Antioksidan	45
2.8 Kemangi (<i>Ocimum citriodorum</i>).....	49
2.8.1 Taksonomi dan Morfologi Kemangi	50
2.8.2 Kandungan Kemangi	52
2.8.3 Manfaat Kemangi	54
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	56
3.1 Kerangka Konsep	56
3.2 Hipotesis	58
BAB IV METODE PENELITIAN	59
4.1 Desain Penelitian.....	59

4.2	Tempat dan Waktu Penelitian	59
4.2.1	Tempat Penelitian	59
4.2.2	Waktu Penelitian.....	59
4.3	Populasi Penelitian.....	59
4.4	Sampel Penelitian.....	60
4.4.1	Kriteria Inklusi	62
4.4.2	Kriteria Eksklusi	62
4.5	Jenis Variabel	63
4.6	Alat dan Bahan Penelitian.....	63
4.6.1	Alat Penelitian	63
4.6.1.1	Alat dalam Pembuatan Ekstrak.....	63
4.6.1.2	Alat Selama Perlakuan.....	64
4.6.1.3	Alat untuk Pemeriksaan Imunohistokimia.....	64
4.6.2	Bahan Penelitian	65
4.6.2.1	Bahan dalam Pembuatan Ekstrak.....	65
4.6.2.2	Bahan selama Perlakuan.....	65
4.6.2.3	Bahan Uji TNF- α	65
4.7	Definisi Operasional.....	66
4.8	Prosedur Penelitian	66
4.8.1	Persiapan dan Pengelompokkan Hewan Coba	66
4.8.2	Ekstraksi Daun Kemangi (<i>O. citriodorum</i>)	67
4.8.3	Dasar Penentuan Dosis	68
4.8.4	Pemaparan Asap Rokok.....	68
4.8.5	Pemberian Ekstrak Daun Kemangi.....	69

4.8.6 Pemberian Vitamin E	73
4.8.7 Terminasi Hewan Coba	73
4.8.8 Pembedahan dan Preparasi Organ Paru Hewan Coba	73
4.8.9 Pengamatan Imunohistokimia TNF- α	74
4.9 Alur Penelitian	76
4.10 Analisis Data	77
4.11 Etik Penelitian	78
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	79
5.1 Hasil Penelitian	79
5.1.1 Karakteristik Hewan Coba	79
5.1.2 Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (<i>Ocimum citriodorum</i>) terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok	81
5.1.2.1 Analisis Deskriptif Rata-Rata Ekspresi TNF- α pada Tikus Setelah Paparan Asap Rokok Berdasarkan Pemberian Ekstrak Daun Kemangi	81
5.1.2.2 Uji Normalitas Perbedaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (<i>Ocimum citriodorum</i>) terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok	85
5.1.2.3 Uji Homogenitas Ragam Perbedaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (<i>Ocimum citriodorum</i>) terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok	85

5.1.2.4 Uji Beda Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (<i>Ocimum citriodorum</i>) terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok.....	86
5.1.2.5 Uji Lanjutan Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (<i>Ocimum citriodorum</i>) terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok	87
5.1.3 Analisis Hubungan Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (<i>Ocimum citriodorum</i>) terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok	89
5.2 Pembahasan	90
5.2.1 Karakteristik Hewan Coba.....	92
5.2.2 Pengaruh Paparan Asap Rokok Terhadap Ekspresi TNF- α	93
5.2.3 Pengaruh Pemberian Vitamin E dan Ekstrak Daun Kemangi Terhadap Ekspresi TNF- α	95
5.2.4 Perbedaan Pengaruh Pemberian Vitamin E dan Ekstrak Daun Kemangi terhadap Ekspresi TNF- α	99
5.3 Integrasi Penelitian dengan Kajian dalam Alquran dan Hadits	102
5.4 Keterbatasan Penelitian.....	108
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	110
6.1 Kesimpulan	110
6.2 Saran	110
DAFTAR PUSTAKA.....	112
LAMPIRAN.....	121

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Perbandingan Jenis-Jenis Inflamasi	15
Tabel 2.2 Etiologi Inflamasi.....	16
Tabel 2.3 Sitokin dan Fungsinya.....	24
Tabel 2.4 Jenis-jenis ROS	36
Tabel 2.5 Oksidan Endogen Utama	39
Tabel 2.6 Perbandingan <i>O. americanum</i> , <i>O. basilicum</i> dan <i>O. citriodorum</i>	52
Tabel 4.1 Definisi Operasional	66
Tabel 5.1 Persentase Sel yang Mengekspresikan TNF- α pada Paru Tikus.....	83
Tabel 5.2 Nilai Deskriptif TNF- α	83
Tabel 5.3 Hasil Pengujian Normalitas Data	85
Tabel 5.4 Hasil Pengujian Homogenitas Data	85
Tabel 5.5 Hasil One Way ANOVA Ekspresi TNF- α	87
Tabel 5.6 Hasil Uji Post Hoc Tamhane.....	88
Tabel 5.7 Hasil Korelasi Dosis Ekstrak Daun Kemangi dengan Ekspresi TNF- α	89

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Mekanisme Pembentukan ROS dan RNS saat Proses Inflamasi	11
Gambar 2.2 Mekanisme Apoptosis Sel dan Mekanisme Pertahanan Sel.....	12
Gambar 2.3 Patogenesis dan Gejala Suatu Peradangan	13
Gambar 2.4 Jalur NF- κ B	19
Gambar 2.5 Jalur MAPK.....	19
Gambar 2.6 Jalur JAK-STAT	20
Gambar 2.7 Mekanisme Inflamasi yang Diinduksi oleh Rokok.....	25
Gambar 2.8 Efek Stres Oksidatif pada Transduksi Sinyal di Sel.....	26
Gambar 2.9 Komponen Racun Rokok	32
Gambar 2.10 Susunan Elektron ROS.....	36
Gambar 2.11 Mekanisme Pembentukan ROS dalam Mitokondria.....	40
Gambar 2.12 Sumber ROS yang Menyerang DNA	42
Gambar 2.13 Struktur Vitamin C	47
Gambar 2.14 Struktur Vitamin E	48
Gambar 2.15 Struktur Kimia Flavonoid.....	49
Gambar 2.16 Mekanisme Flavonoid dalam Melindungi Reaksi ROS	49
Gambar 2.17 Kemangi	51
Gambar 2.18 Variasi Bentuk Daun <i>Ocimum citriodorum</i>	52
Gambar 5.1 Grafik Rata-Rata Berat Badan Sampel Hewan Coba.....	80
Gambar 5.2 Grafik Rata-Rata Berat Badan Sampel Hewan Coba Tiap Minggu...	80
Gambar 5.3 Ekspresi TNF- α Jaringan Paru Tikus dengan Pewarnaan Imunohistokimia (400x)	82
Gambar 5.4 Ekspresi TNF- α tiap Perlakuan	84

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: <i>Ethical Clearance</i> dari KEPK FKIK UIN Maliki Malang.	121
Lampiran 2: Hasil Determinasi Daun Kemangi (<i>Ocimum citriodorum</i>)	122
Lampiran 3: Hasil Pengukuran TNF- α	123
Lampiran 4: Hasil Pengukuran Berat Badan Sampel Hewan Coba	124
Lampiran 5: Analisis Statistik Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (<i>Ocimum citriodorum</i>) Terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok	127
Lampiran 6: Dokumentasi Penelitian.....	130

ABSTRAK

Puspita, Tiara Yudha. 2020. PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KEMANGI (*OCIMUM CITRIODORUM*) TERHADAP KADAR TNF- α TIKUS SETELAH PAPAN ASAP ROKOK. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing: (I) dr. Christyaji Indradmojo (II) drg. Risma Aprinda K., M. Si

Kata kunci: asap rokok, *Ocimum citriodorum*, radikal bebas, *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α)

Radikal bebas yang berasal dari asap rokok dapat menyebabkan makrofag pada saluran pernafasan teraktivasi dan menginduksi sekresi dari sitokin proinflamasi, salah satunya adalah TNF- α . Daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) memiliki senyawa flavonoid yang dapat bekerja sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas sehingga dapat mencegah terjadinya inflamasi jaringan paru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun *O. citriodorum* terhadap kadar TNF- α tikus setelah paparan asap rokok. Siplisia daun kemangi diekstraksi dengan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) menggunakan etanol 96%. 30 ekor tikus putih jantan dibagi dalam 6 kelompok sebagai berikut: kelompok normal tanpa perlakuan, kelompok kontrol positif (+) dengan paparan asap rokok dan diberi terapi vitamin e, kelompok kontrol negatif (-) dengan paparan asap rokok tanpa diberi terapi, kelompok perlakuan dengan paparan asap rokok dan ekstrak daun *O. citriodorum* dengan dosis 50; 100; 200 mg/kgBB/hari. Semua tikus diberi paparan asap rokok selama 14 hari menggunakan 3 batang rokok kretek selama 1 jam setiap hari. Pada hari ke-22, dilakukan pengukuran kadar TNF- α menggunakan metode imunohistokimia. Kadar TNF- α dianalisa menggunakan *One-Way ANOVA* dan uji korelasi *Pearson Product Moment*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada pemberian ekstrak daun kemangi terhadap ekspresi TNF- α dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) dan koefisien korelasi (r -value) = -0,558 yang berarti korelasinya berbanding terbalik yang artinya semakin tinggi dosis ekstrak daun kemangi maka semakin rendah ekspresi TNF- α . Dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) dapat menurunkan ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok dan semakin besar konsentrasi ekstrak daun kemangi yang diberikan maka ekspresi TNF- α semakin menurun. Dosis 200 mg/kgBB dalam penelitian ini merupakan dosis yang optimal untuk menurunkan ekspresi TNF- α pada paru tikus setelah paparan asap rokok.

ABSTRACT

Puspita, Tiara Yudha. 2020. THE EFFECT OF LEMON BASIL (*OCIMUM CITRIODORUM*) LEAVES EXTRACT TO RAT TNF- α LEVELS AFTER EXPOSURE TO CIGARETTE SMOKE. Thesis. Medical Department, Medical and Health Sciences Faculty, The Islamic State University Maulana Malik Ibrahim of Malang.

Advisor: (I) dr. Christyaji Indradmojo (II) drg. Risma Aprinda K., M. Si

Keywords: cigarette smoke, *Ocimum citriodorum*, free radicals, Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α)

Free radicals released from cigarette smoke can affect macrophages in the respiratory tract being activated and induce secretion of proinflammatory cytokines, one of them is TNF- α . Lemon basil (*Ocimum citriodorum*) leaf contains a flavonoid compound that can act as an antioxidant by donating its hydrogen atom to free radicals so inflammation of lung tissue can be prevented. The purpose of this study is to examine the effect of lemon basil (*Ocimum citriodorum*) leaf extract to rat TNF- α levels after exposure to cigarette smoke. A total of 30 male white rats divided into six groups as follows: normal group without treatment, positive control group (+) which exposed to cigarette smoke with vitamin E therapy, negative control group (-) which exposed to cigarette smoke without therapy, treatment group which exposed to cigarette smoke with lemon basil leaf extract therapy dose 50; 100; and 200 mg/kg/day. Five groups were given exposure to cigarette smoke for 14 days using 3 cigarettes for 1 hour every day. On the 22nd day, TNF- α levels were measured using an immunohistochemical method. TNF- α levels were analyzed using One Way ANOVA and Pearson Product Moment correlation test. The result showed that there is a significant difference on the use of lemon basil leaf extract as antioxidant to TNF- α expression with p-value 0,000 ($p < 0,05$) and r-value -0,558, which means the correlation is inversely proportional, meaning that the higher dose of lemon basil leaf extract the lower TNF- α expression. It can be concluded that lemon basil (*Ocimum citriodorum*) leaf extract can reduce rat TNF- α expression after exposure to cigarette smoke and the greater concentration of lemon basil leaf extract is given, the lower TNF- α expression. The dose of 200 mg/kg/day is the optimal dose to decrease TNF- α expression in rat lung after exposure to cigarette smoke.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Merokok menjadi suatu gaya hidup di masyarakat dan sangat berpengaruh dalam kesehatan manusia yang menjadi salah satu faktor penyebab penyakit kardiovaskuler dan penyebab kematian terbesar di dunia yang dapat dicegah (Herdiani dan Putri, 2018). Beberapa penyakit yang diakibatkan oleh merokok adalah kanker paru, stroke, penyakit paru obstruktif kronik, penyakit jantung koroner, dan gangguan pembuluh darah (Suryantisa, 2018). Menurut data WHO tahun 2008 (dalam Salawati, 2016), dalam dekade 2020-2030, tembakau akan menjadi penyebab kematian 10 juta orang per tahun dan sebagian besar terjadi di negara-negara berkembang.

Indonesia termasuk tiga negara dengan konsumsi rokok terbesar di dunia setelah Cina dan India (Suryantisa, 2018). Menurut data Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 oleh Kementerian Kesehatan RI (2018), prevalensi konsumsi tembakau (hisap dan kunyah) pada penduduk usia ≥ 15 tahun sebesar 62,9% pada laki-laki dan 4,8% pada perempuan. Sedangkan jika dilihat berdasarkan umur, jumlah perokok aktif terendah terdapat pada kelompok usia 15-24 tahun kemudian mencapai puncaknya pada kelompok usia 35-54 tahun dan kembali menurun pada kelompok usia 55 tahun ke atas (Suryantisa, 2018).

Merokok dalam bentuk aktif maupun pasif dapat mengakibatkan seseorang terkena penyakit kardiovaskular melalui beberapa proses yang saling bergantung satu sama lainnya seperti stres oksidatif, perubahan haemodinamik dan sistem otonom, disfungsi endotel, thrombosis, inflamasi, hiperlipidemia dan efek lainnya

(Papathanasiou *et al.*, 2014). Menurut pakar kesehatan, filter pada ujung batang rokok menyebabkan hanya 25% saja bahaya asap rokok yang didapatkan oleh perokok aktif sedangkan sebesar 75% bahaya asap rokok didapatkan oleh perokok pasif karena terpapar asap rokok secara langsung (Suryantisa, 2018). Asap rokok yang didapatkan oleh perokok pasif adalah *second hand smoke* (SHS) atau Asap Rokok Orang Lain (AROL) (Nurjanah *et al.*, 2014).

Pada tahun 2007, sebanyak 91 juta masyarakat Indonesia semua umur (40,5%) terpapar asap rokok di dalam rumah. Sedangkan pada tahun 2010 jumlahnya naik menjadi 92 juta penduduk perokok pasif. Pada tahun 2013, jumlah masyarakat perokok pasif mencapai 96 juta jiwa dengan kurang lebih 19 juta diantaranya adalah anak-anak berusia 5-14 tahun (Suryantisa, 2018). Pada tahun 2014, Indonesia Global Youth Tobacco Survey (GYTS) menemukan bahwa 3 dari 5 pelajar berusia 13-15 tahun (57,3%) terpapar oleh asap rokok orang di rumahnya (WHO, 2015).

Berdasarkan data Riskesdas (2013), sebanyak 25.000 orang Indonesia meninggal dunia karena paparan asap rokok orang lain. Paparan SHS ini mampu memberikan dampak negatif pada kehamilan, seperti mampu menyebabkan berat badan bayi lahir rendah (BBLR) dan bayi prematur, sindroma kematian bayi mendadak, menghambat pertumbuhan janin dalam rahim serta dapat menyebabkan keguguran spontan (Nurjanah *et al.*, 2014) Oleh karena itu, tidak hanya perokok aktif yang merasakan dampak dari bahaya merokok, perokok pasif juga berisiko untuk terkena beberapa penyakit yang disebabkan oleh asap rokok yang dihirupnya.

Asap rokok yang dihasilkan ketika merokok mengandung radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam jumlah yang sangat tinggi dan dapat merusak jaringan karena sifatnya yang tidak stabil (Herdiani dan Putri, 2018). ROS merupakan molekul yang berumur pendek, tidak stabil, sangat reaktif dan dapat dengan mudah bereaksi dengan molekul lain untuk menjadi stabil dengan cara menangkap elektron lain (Suryadinata, 2018). Diperkirakan terdapat 10^{14} - 10^{16} molekul radikal bebas yang dilepaskan ke dalam tubuh manusia saat satu kali menghisap rokok sehingga menyebabkan stres oksidatif dan inflamasi di dalam tubuh manusia (Adyitia *et al.*, 2014). Beberapa jenis ROS yang terkandung dalam asap rokok antara lain superoksida, nitrit oksida, hidrogen peroksida, hidroksil dan peroksil (Birben *et al.*, 2012; Adyitia *et al.*, 2014; Strzelak *et al.*, 2018).

Asap rokok yang masuk ke dalam paru-paru mengakibatkan makrofag alveolar teraktivasi dan memicu pelepasan *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α) melalui jalur *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) sehingga kadar TNF- α dapat meningkat akibat pemaparan asap rokok. *Tumor Necrosis Factor alpha* adalah salah satu sitokin pro-inflamatori yang diproduksi oleh makrofag dan memiliki peran penting dalam perkembangan PPOK (Kusumastuty *et al.*, 2015). *Tumor Necrosis Factor alpha* merupakan mediator utama dalam terjadinya proses inflamasi karena memiliki sifat pleiotropik yang membuatnya menjadi salah satu sitokin proinflamatori yang kuat (Petrescu *et al.*, 2010).

Pengobatan maupun pencegahan efek samping dari merokok menjadi tujuan utama terjaminnya kesehatan manusia. Salah satu upaya untuk mengatasi berbagai macam efek samping dari radikal bebas, sel tubuh manusia dilengkapi dengan antioksidan alami (endogen) tetapi jumlahnya tidak mencukupi untuk melawan

radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh manusia (Wulansari, 2018). Di dalam tubuh manusia terdapat dua kelompok besar antioksidan yaitu antioksidan enzimatik, contohnya superoxide dismutase, dan antioksidan non enzimatik (biasanya berasal dari luar tubuh seperti vitamin A, C dan E) (Kattappagari *et al.*, 2015).

Dalam upaya melindungi tubuh dan menstabilkan radikal bebas yang jumlahnya lebih banyak dari antioksidan alami tubuh maka diperlukan asupan antioksidan dari luar tubuh (Nasution *et al.*, 2016). Asupan antioksidan dapat diperoleh dari antioksidan sintetis maupun yang berasal dari bahan alam. Antioksidan sintetis seperti *butylated hydroxytoluen* (BHT), *butylated hydroxyanisole* (BHA), dan *terbutylhydroxy quinone* (TBHQ) mulai ditinggalkan penggunaannya karena dianggap memiliki efek karsinogenik (Prasanto, Riyanti dan Gartika, 2017). Saat ini, antioksidan alami lebih diminati daripada antioksidan sintetis karena tingkat keamanannya lebih tinggi (Asri *et al.*, 2015).

Allah menciptakan segala sesuatu di bumi ini dengan manfaat dan fungsinya masing-masing supaya manusia senantiasa mengingat penciptanya. Begitu juga dengan tumbuh-tumbuhan yang diciptakan tidak mungkin tanpa fungsi dan manfaat yang baik bagi manusia selain sebagai bahan makanan. Hal ini sesuai dengan firman Allah dalam surat Asy-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

”Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”(QS. Asy-Syuara: 7) (Departemen Agama RI, 2015).

Menurut Tafsir Al-Mukhtashar ditumbuhkannya tanaman di muka bumi yang semuanya indah dan berguna adalah petunjuk yang jelas tentang kesempurnaan kuasa Allah tetapi kebanyakan manusia tidak beriman kepada Allah. Sesungguhnya Allah ialah Dzat yang Mahaperkasa dan Mahapenyayang

Sebagaimana firman Allah SWT di atas menjelaskan bahwa tumbuh-tumbuhan diciptakan oleh Allah bukan tanpa maksud melainkan dapat dimanfaatkan oleh manusia untuk memenuhi kebutuhan hidupnya, salah satunya tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai obat-obatan herbal sebagai antioksidan eksogen. Karena sesungguhnya segala sesuatu yang diciptakan Allah di bumi ini dengan berpasang-pasangan seperti halnya menciptakan penyakit beserta obatnya.

Salah satu tumbuhan yang mudah ditemui di Indonesia dan dapat menjadi kandidat antioksidan eksogen adalah kemangi (*Ocimum sp*). Kemangi memiliki beberapa spesies salah satunya adalah *Ocimum citriodorum* (*O. citriodorum*) yang merupakan salah satu tanaman *indigenous* di Indonesia (Makmur, 2016). Di Indonesia, pemanfaatan tanaman kemangi digunakan sebagai bumbu dalam masakan atau sebagai lalap karena memiliki bau dan rasa yang khas. Selain digunakan sebagai sayuran dan penambah cita rasa, kemangi juga dapat digunakan untuk pengobatan beberapa penyakit diantaranya migrain, stres, demam, diare, dan lainnya (Zahra dan Iskandar, 2017).

Kemangi mengandung berbagai macam zat antara lain senyawa fenol, lignin, amilum, minyak atsiri (metilen alkohol, sineol, eugenol, linalool, nerol, timol), karvakrol, asam ursolat, asam askorbat, kampene, beta karoten, tanin, terpineol, xilosa, aldehida, alkaloida, flavonoida, asam-asam lemak, glikosida, mineral-mineral, pentosa, fenol, saponin, arginine, dan boron (Almahdy dan

Yandri, 2010; Ikhlas, 2013). Penggunaan daun *O. citriodorum* sebagai bahan makanan bermanfaat bagi kesehatan karena kandungan fenol dan flavonoidnya yang memiliki aktivitas anti jamur, anti inflamasi, anti mikroba dan antioksidan (Tahira *et al.*, 2013).

Senyawa fenolik dalam tumbuhan memiliki aktivitas antioksidan melalui kerjanya sebagai agen pereduksi, penghilangan oksigen tunggal dan donor hidrogen. Flavonoid merupakan kelompok terbesar dari senyawa fenolik (Hanin dan Pratiwi, 2017). Flavonoid adalah salah satu senyawa polifenol yang terdiri dari 15 atom karbon dan merupakan salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan dalam setiap ekstrak tumbuhan (Arifin dan Ibrahim, 2018).

Flavonoid dapat mencegah kerusakan oleh radikal bebas dengan beberapa cara, salah satunya yaitu pengikatan radikal bebas secara langsung dengan cara donor ion hidrogen dari gugus hidroksil (OH) ke radikal bebas (R) sehingga terbentuk ikatan radikal bebas yang lebih stabil dan kurang reaktif (Panche *et al.*, 2016). Selain memiliki aktivitas antioksidan, flavonoid juga memiliki aktivitas antiinflamasi dengan cara memodulasi produksi dari mediator-mediator proinflamasi sehingga dapat menurunkan produksi dari sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan interleukin (Santoso, 2013).

Penelitian terhadap spesies lain daun kemangi sudah banyak dilakukan. Penelitian yang dilakukan oleh Ikhlas (2013) terhadap ekstrak etanol *Ocimum americanum* Linn memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC50 sebesar 21,8989 $\mu\text{g/mL}$. Penelitian lain yang dilakukan oleh Erviana *et al.* (2016) untuk menguji aktivitas antioksidan dari *Ocimum basilicum* Linn menunjukkan hasil IC50

sebesar 52,68 $\mu\text{g/mL}$ yang berarti terdapat aktivitas antioksidan sedang. Daun kemangi juga diteliti efek antiinflamasi oleh Saputri dan Zahara (2016). Efek antiinflamasi ditinjau dari presentase penghambatan udem pada telapak kaki tikus yang diinduksi karagenan dimana dosis minyak atsiri optimal dalam penghambatan udem adalah 160 mg/200 grBB.

Berdasarkan uraian di atas, diperlukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antioksidan dan antiinflamasi ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap marker inflamasi TNF- α pada tikus yang dipapar asap rokok.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dapat berpengaruh terhadap kadar TNF- α pada tikus setelah paparan asap rokok?
2. Apakah pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dapat menurunkan kadar TNF- α pada tikus setelah paparan asap rokok?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengkaji lebih dalam pengaruh ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap tikus setelah paparan asap rokok

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk memberikan data pendukung bahwa ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dapat berpengaruh terhadap tikus setelah paparan asap rokok
2. Untuk memberikan data pendukung bahwa ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dapat menurunkan kadar TNF- α pada tikus yang dipapar asap rokok

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Menambah wawasan peneliti tentang potensi antioksidan alami yang dimiliki oleh daun kemangi (*O. citriodorum*)
2. Memberikan pengalaman dalam menerapkan ilmu yang dipelajari selama pendidikan
3. Menambah kepustakaan ilmu tentang potensi antioksidan alami yang didapat dari keragaman hayati di Indonesia

1.4.2 Manfaat Aplikatif

1. Memberikan informasi secara ilmiah kepada masyarakat mengenai aktivitas antioksidan dari daun kemangi
2. Meningkatkan konsumsi daun kemangi di masyarakat sebagai salah satu kandidat alternatif antioksidan alami

3. Memberikan kontribusi dalam pengembangan sumber daya alam Indonesia dalam bidang pengobatan herbal khususnya antioksidan
4. Menjadi bahan acuan untuk penelitian selanjutnya dalam rangka mengkaji kandungan senyawa aktif lainnya dari daun kemangi sebagai antioksidan



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α)*

Istilah *Tumor Necrosis Factor* diberikan pada dua molekul yaitu *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α), faktor nekrosis yang berasal dari monosit dan *Tumor Necrosis Factor beta* (TNF- β), faktor nekrosis yang berasal dari limfosit (Turner *et al.*, 2014). TNF- α utamanya diproduksi oleh fagosit mononuklear dan sel T yang diaktifkan oleh antigen, *natural killer cell* dan sel mast (Supit *et al.*, 2015), tetapi sumber utama TNF- α pada paru-paru adalah makrofag alveolar (Demirjian *et al.*, 2006). Rangsangan poten terhadap makrofag untuk mensekresikan TNF- α adalah lipopolisakarida dan IFN- γ (Supit *et al.*, 2015)

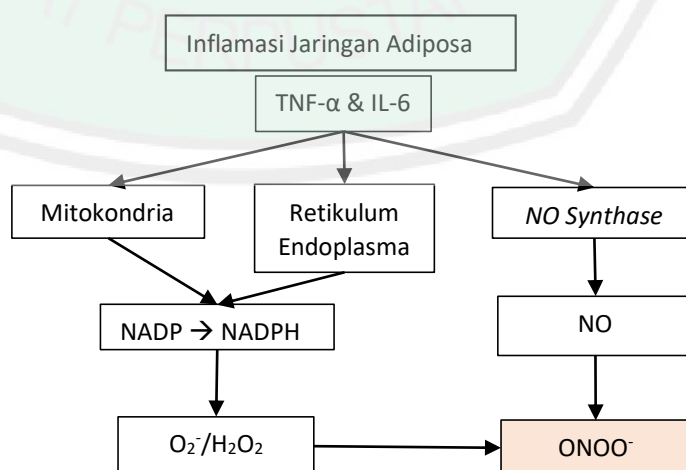
Menurut Ratulangi *et al* (2016), efek yang dihasilkan TNF- α bergantung pada banyak sedikitnya kadar TNF- α yang beredar di peredaran darah, misalnya pada level rendah TNF- α bekerja pada leukosit untuk menginduksi inflamasi akut. Pada level sedang, TNF- α berperan dalam inflamasi sistemik dan pada level tinggi TNF- α mampu menurunkan tekanan darah, gangguan metabolisme berat, trombosis intravaskular dan komplikasi pada syok septik.

Tumor Necrosis Factor alpha mampu menjadi mediator inflamasi bersama dengan stimulus dan sitokin lainnya (IL-1 β dan IL-6) melalui interaksinya dengan *Toll Like Receptors* (TLRs), reseptor IL-1, reseptor IL-6 dan reseptor TNF. Aktivasi dari reseptor ini mampu memicu jalur persinyalan intraselular antara lain *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), *nuclear factor kappa-B* (NF-kB) dan *Janus kinase* (JAK)-*signal transducer and activator of transcription* (STAT) yang

meregulasi produksi dari sitokin-sitokin proinflamasi, kemokin dan rekrutmen sel-sel imun untuk menuju ke lokasi terjadinya inflamasi (Chen *et al.*, 2018).

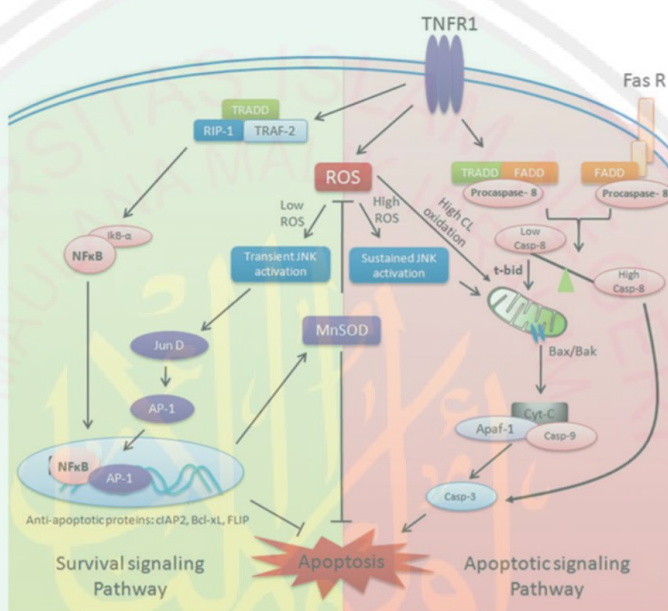
Tumor Necrosis Factor alpha memiliki berbagai fungsi dalam proses inflamasi, antara lain mampu meningkatkan peran protrombotik dan merangsang sel leukosit untuk mensekresi molekul adhesi, berperan sebagai pengatur aktivitas makrofag dan sistem imun dalam jaringan dengan cara merangsang faktor pertumbuhan dan sitokin lainnya, serta berfungsi dalam respon imun terhadap virus, jamur, bakteri dan parasite (Supit *et al.*, 2015).

Selain berperan dalam inflamasi secara langsung, $\text{TNF-}\alpha$ juga mampu menginduksi produksi dari ROS melalui mitokondria sel endotel dan NAD(P)H pada membran plasma. Aktivitas sitotoksik $\text{TNF-}\alpha$ terhadap mitokondria sel endotel diperantarai melalui perubahan fungsi mitokondria yang selanjutnya mampu mengaktifasi produksi ROS dalam mitokondria terutama di situs ubiquinone dan $\text{TNF-}\alpha$ merusak rantai mitokondria di kompleks III. Akibatnya terjadi peningkatan produksi ROS di dalam mitokondria (Chen *et al.*, 2018). Menurut Parwata (2015), mekanisme pembentukan ROS pada proses inflamasi dapat dilihat pada bagan di bawah ini:



Gambar 2.1 Mekanisme Pembentukan ROS dan RNS Saat Proses Inflamasi
Sumber: *Antioksidan* (2015)

Tumor Necrosis Factor alpha mampu menyebabkan kematian sel melalui ikatannya dengan *TNF receptor 1* (TNFR1) dan *TNF-related apoptosis-inducing ligand receptor 1* (TRAIL-R1) dan TRAIL *receptor 2* yang melibatkan serangkaian kaskade intrasel. Akan tetapi, TNF- α tidak selalu berhasil menginduksi apoptosis pada semua sel, karena di dalam sel terdapat 2 mekanisme pertahanan sel yang melindungi sel dari apoptosis (Mittal *et al.*, 2014).



Gambar 2.2 Mekanisme Apoptosis Sel dan Mekanisme Pertahanan Sel
Sumber: *Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury* (2014)

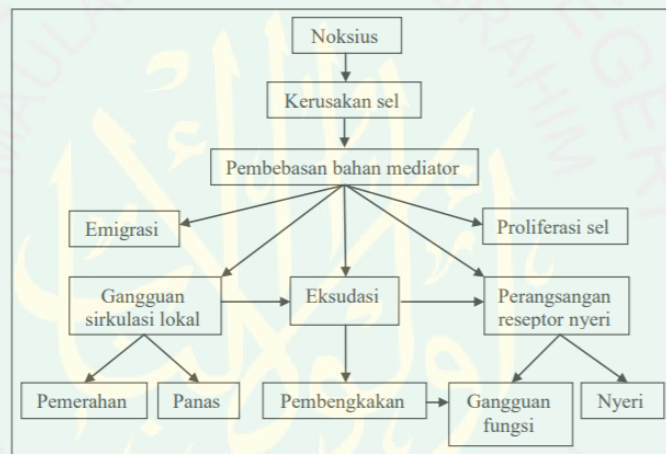
2.2 Inflamasi

2.2.1 Definisi Inflamasi

Inflamasi adalah respon sistem imun terhadap stimulus berbahaya seperti pathogen, sel yang rusak, bahan-bahan toksik atau sinar radiasi, dan bertindak untuk menghilangkan stimulus berbahaya dan menginisiasi proses penyembuhan dari kerusakan yang terjadi (Chen *et al.*, 2018). Inflamasi umumnya dianggap sebagai respon adaptif terhadap infeksi, kerusakan jaringan dan berbagai stimulus dan agen

berbahaya termasuk berbagai macam proses patologis dan fisiologis yang bertujuan untuk membatasi efek samping yang terjadi (Gudkov dan Komarova, 2016).

Respon jaringan terhadap inflamasi untuk mempertahankan vitalitasnya yaitu dengan cara meningkatkan permeabilitas vaskuler, vasodilatasi pembuluh darah, akumulasi sel imun, eksudasi cairan, nyeri, demam dan gatal (Setyo, 2016). Serangkaian proses di atas menyebabkan inflamasi pada level jaringan memiliki tanda klasik yaitu nyeri (*dolor*), kemerahan (*rubor*), bengkak (*tumor*), panas (*kalor*), dan hilangnya fungsi jaringan tubuh yang rusak (*functio laesa*) (Chen, 2018).



Gambar 2.3 Patogenesis dan Gejala Suatu Peradangan

Sumber: Uji Aktivitas Antiinflamasi Isolat Alkaloid Lada (*Piper nigrum* L.) pada Tikus Galur Wistar: Studi in Vivo dan in Silico (2016)

2.2.2 Klasifikasi Inflamasi

a. Inflamasi Akut

Inflamasi akut memiliki durasi relatif singkat dan sifatnya lokal, yaitu hanya terbatas pada area inflamasi itu saja (Setyo, 2016). Respon fase akut adalah respon terhadap infeksi atau trauma yang terjadi paling awal dan terjadi karena rangsangan trombosit. Setelah sel-sel leukosit menuju ke area target, maka ia akan mempertahankan respon fase akut

dengan cara mengeluarkan mediator-mediator inflamasi pada tempat terjadinya inflamasi (Chen, 2018). Pada fase ini ditandai dengan eksudasi cairan dan protein plasma darah ke jaringan lunak serta akumulasi dari sel-sel leukosit terutama neutrofil (Arfan, 2016).

Neutrofil adalah leukosit pertama yang bermigrasi dan terakumulasi di tempat jejas. Sel-sel ini sangat penting sebagai garis pertahanan pertama dari sistem imun bawaan karena memiliki fungsi fagositosis dan mikrobisidal. Setelah itu monosit dan makrofag menuju ke tempat inflamasi dan membersihkan debris sel dan neutrofil yang telah apoptosis dengan cara fagositosis tanpa memperpanjang inflamasi yang terjadi (Freire & Dyke, 2013).

Apabila respon inflamasi akut gagal untuk mengeliminasi patogen atau stimulus berbahaya, proses inflamasi akan jatuh pada kondisi inflamasi kronik yang bersifat lebih stabil dan persisten (Gudkov dan Komarova, 2016).

b. Inflamasi Kronis

Inflamasi kronik terjadi ketika mekanisme yang terjadi pada inflamasi akut gagal untuk memperbaiki kerusakan jaringan dan dapat menyebabkan timbulnya beberapa penyakit seperti penyakit kardiovaskular, aterosklerosis, diabetes mellitus tipe 2, artritis rheumatoid dan kanker (Chen, 2018). Inflamasi kronik berlangsung selama beberapa minggu atau bulan bahkan hingga tahunan dan ditandai dengan akumulasi dari limfosit, makrofag dan sel plasma di lokasi radang (Setyo, 2016; Arfan, 2016).

Selain itu, menurut Antonelli dan Kushner (2017), mereka mengajukan nomenklatur baru untuk inflamasi yang disebabkan oleh perubahan homeostasis tubuh yang menyebabkan terjadinya stres pada sel, yaitu inflamasi tingkat rendah. Pada inflamasi tingkat rendah, tidak ditemukan tanda-tanda klasik inflamasi dan aktivasinya dipicu oleh sel sentinel yang berfungsi dalam monitoring kerusakan dan malfungsi dari jaringan, yang mana merupakan penyimpangan dari kondisi homeostasis yang optimal. Inflamasi tingkat rendah dapat dibedakan dengan inflamasi lainnya dengan melihat Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Perbandingan Jenis-Jenis Inflamasi

Parameter	Infeksi	Cedera Jaringan	Inflamasi Tk. Rendah	Autoinflamasi
Penyebab	Patogen	Trauma, infark jaringan	Malfungsi metabolik	Biasanya spontan
Mediator	Sel dan molekul dari respon imun bawaan	Sel dan molekul dari respon imun bawaan	Sel dan molekul dari respon imun bawaan	Sel dan molekul dari respon imun bawaan
Tanda Klasik Inflamasi	+++	+++	-	+++
Respon CRP	+++	+++	-	+++
Tujuan	Penyembuhan, perbaikan dan pertahanan	Penyembuhan dan perbaikan	+	Tidak jelas
Mekanisme Pemicu	PRR, terutama untuk PAMP dan DAMP	PRR, terutama untuk DAMP	Sel sentinel	Disregulasi berbasis genetik

Sumber: *It's Time to Redefine Inflammation* (2017)

2.2.3 Etiologi Inflamasi

Inflamasi akut biasanya disebabkan oleh stimulus eksogen, yaitu infeksi, lesi, alergen, bahan iritan, benda asing dan bahan toksik. Sedangkan inflamasi kronis biasanya disebabkan oleh stimulus endogen seperti jaringan yang mengalami stres, kerusakan atau malfungsi (Gudkov dan Komarova, 2016). Etiologi inflamasi dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2.2 Etiologi Inflamasi

Faktor Non-Infeksius	Faktor Infeksius
Fisik: luka bakar, <i>frostbite</i> , luka fisik, benda asing, trauma, radiasi	Bakteri
Kimia: glukosa, asam lemak, toksin, alkohol, bahan iritan kimia (florida, nikel, dan lain-lain)	Virus
Biologis: sel yang rusak	Mikroorganisme lain
Fisiologis: <i>excitement</i>	

Sumber: *Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs (2018)*

Inflamasi tingkat rendah berhubungan dengan kondisi dan gaya hidup seseorang yang menyebabkan kesehatan orang tersebut menurun. Inflamasi tingkat rendah dapat disebabkan oleh berbagai hal seperti paparan terhadap bahan iritan seperti perokok aktif dan perokok pasif, pengurangan jam tidur, tingkat aktivitas fisik rendah, fibrilasi atrium, hipertensi, berat badan lahir rendah, diet tidak sehat, prehipertensi, hipoksia, penuaan, dan lain-lain (Antonelli dan Kushner, 2017).

2.2.4 Mekanisme Inflamasi

Respon inflamasi adalah aktivasi terkoordinasi dari beberapa *signalling pathway* sel yang mengatur jumlah mediator inflamasi di dalam sel sekitar jaringan yang terkena jejas dan sel imun yang direkrut ke tempat jejas (Lawrence, 2009). Meskipun respon inflamasi yang terjadi tergantung pada stimulus dan lokasi yang terjadi pada tubuh manusia, inflamasi memiliki mekanisme umum yang dapat disimpulkan sebagai berikut: 1) reseptor mengenali stimulus yang membahayakan; 2) aktivasi jalur pensinyalan inflamasi; 3) disekresinya sitokin inflamasi; dan 4) perekrutan sel imun ke tempat jejas (Chen *et al.*, 2018).

Menurut Katzung (2004), inflamasi terbagi dalam tiga fase, yaitu inflamasi akut (respon awal terhadap cedera jaringan), respon imun (aktivasi sejumlah sel imun), dan inflamasi kronis. Sel dan mediator-mediator dari sistem imun sangat berperan penting dalam proses inflamasi yang khas ditandai dengan empat fase yaitu fase pertama yang ditandai dengan pembuluh darah di sekitar daerah jejas memberikan sinyal kepada sistem imun. Kedua, sel-sel imun bermigrasi ke dalam jaringan yang mengalami jejas melalui endotel pembuluh darah untuk menetralkan dan menghilangkan stimulus yang menyebabkan terjadinya jejas. Proses yang terjadi selanjutnya adalah proses perbaikan dan penyembuhan jaringan yang mengalami kerusakan dan seluruh rangkaian peristiwa ini adalah proses dari inflamasi akut. Apabila proses inflamasi dan penyembuhan memanjang maka akan masuk ke dalam fase inflamasi kronik (Arfan, 2016).

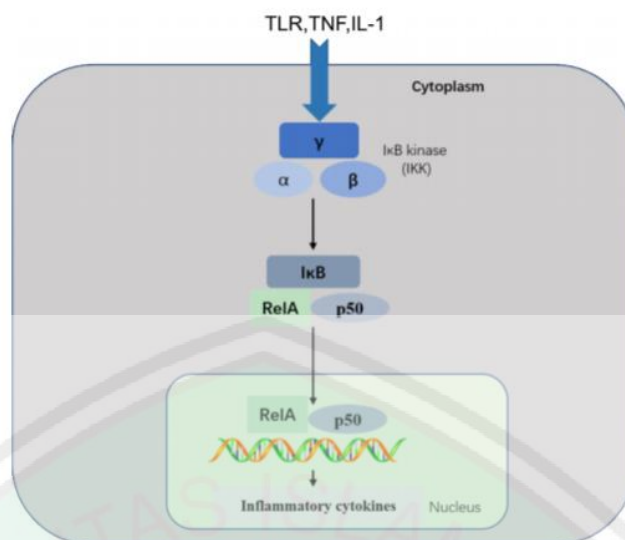
Struktur mikroba yang dikenal dengan *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) dapat memicu respon inflamasi melalui aktivasi dari *germline-encoded pattern-recognition receptors* (PRRs) yang diekspresikan pada sel imun maupun sel non imun. Beberapa PRR juga mampu mengenali beberapa sinyal endogen lainnya yang teraktivasi saat terjadi proses kerusakan sel atau jaringan, yang dikenal sebagai *danger-associated molecular patterns* (DAMPs) (Gudkov dan Komarova, 2016; Chen *et al.*, 2018). DAMP adalah biomolekul pejamu yang mampu menginisiasi dan memperpanjang respon inflamasi non-infeksius. Sel atau jaringan yang mengalami kerusakan juga mampu merekrut sel imun bawaan tanpa adanya patogen dengan mengeluarkan DAMP (Gudkov dan Komarova, 2016).

Yang termasuk dalam PRR adalah *Toll-like receptors* (TLRs), *C-type lectin receptors* (CLRs), *retinoic acid-inducible gene* (RIG)-*I-like receptors* (RLRs), dan

NOD-like receptors (NLRs). DAMP dan PAMP berbagi reseptor, seperti TLR4, menunjukkan kesamaan antara respon inflamasi terhadap agen infeksius maupun non-infeksius (Chen *et al.*, 2018).

Ikatan antara PAMP atau DAMP dengan PRR seperti TLR pada sel imun bawaan memicu produksi dari sitokin proinflamasi, kemokin dan lipid seperti prostaglandin. Sitokin proinflamasi utama yang diproduksi antara lain *interleukin-1 β* (IL-1 β), IL-6, dan *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α), memediasi inflamasi melalui interaksi dengan TLR, IL-1 receptor (IL-1R), IL-6 receptor (IL-6R) dan TNF receptor (TNFR). Aktivasi reseptor tersebut memicu jalur pensinyalan intraseluler penting, termasuk *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), *nuclear factor kappa-B* (NF- κ B), *Janus kinase* (JAK)-*signal transducer and activator of transcription* (STAT) pathway (Chen *et al.*, 2018; Freire dan Dyke, 2013).

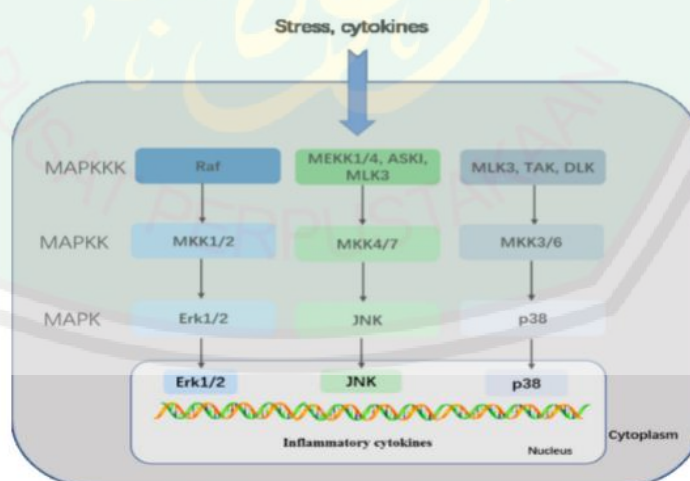
Jalur NF- κ B memegang peran penting dalam inflamasi, respon imun, pertahanan dan proses apoptosis. Jalur ini diaktivasi dengan cara memfosforilasi enzim I κ B yang merupakan inhibitor dari NF- κ B. Jalur ini meregulasi produksi sitokin proinflamasi dan rekrutmen sel imun, yang mana berkontribusi terhadap respon inflamasi (gambar 2.6) (Chen *et al.*, 2018)



Gambar 2.4 Jalur NF-κB

Sumber: *Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs* (2018)

Jalur MAPK mengarahkan respon seluler ke berbagai rangsangan, termasuk stres osmotik, mitogen, sengatan panas dan sitokin inflamasi. Stimulus inflamasi dan stres mengaktifkan *c-Jun N-terminal kinases* (JNK) dan mengarah pada fosforilasi dan aktivasi dari faktor transkripsi p38 yang berada di sitoplasma atau nukleus sel, yang menginisiasi respon inflamasi (gambar 2.7) (Chen *et al.*, 2018).

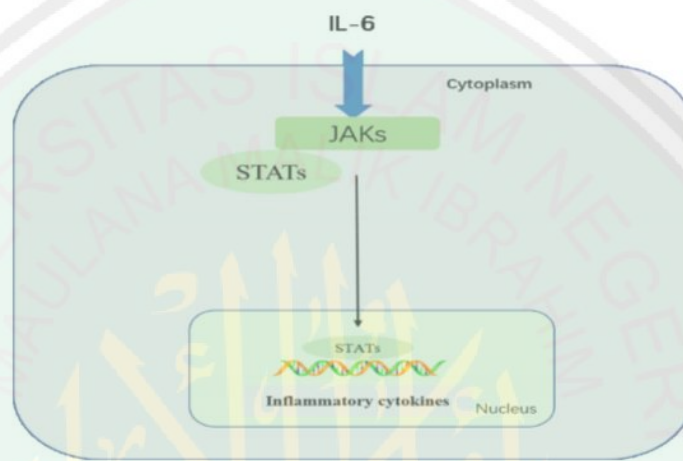


Gambar 2.5 Jalur MAPK

Sumber: *Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs* (2018)

Jalur JAK-STAT melibatkan beragam sitokin, *growth factors*, interferon (IFN), dan molekul lainnya seperti leptin dan hormone pertumbuhan. Pensinyalan

pada JAK-STAT dapat menyebabkan translasi langsung dari sebuah sinyal ekstraseluler menjadi respon transkripsi. Seperti contohnya ikatan IL-6 ke reseptor di membran plasma dapat mengaktifasi protein JAK-STAT. Protein STAT yang teraktivasi berpindah ke nukleus dan berikatan dengan daerah gen promotor untuk meregulasi transkripsi dari gen sitokin inflamasi (O'Shea *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2018).



Gambar 2.6 Jalur JAK-STAT

Sumber: *Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs* (2018)

Makrofag atau sel mast yang berhasil mendeteksi adanya patogen, mensekresi kemokin, amin vasoaktif dan eikosanoid untuk meningkatkan permeabilitas vaskuler sehingga memungkinkan influks plasma yang mengandung antibodi dan komponen lainnya menuju ke lokasi jejas (Headland dan Norling, 2015). Sekresi dari sitokin dan kemokin menyebabkan terjadinya perekrutan neutrofil dan makrofag pada lokasi jejas. Jejas juga memicu aktivasi sistem koagulasi dan fibrinolisis yang berfungsi mengontrol *clotting* dan remodeling vaskuler (Jabbour *et al.*, 2009).

Pada lokasi jejas, sel epitel dan endotel yang rusak mengeluarkan faktor inflamasi yang memicu kaskade inflamasi bersamaan dengan kemokin dan *growth*

factor yang menarik neutrofil dan diikuti oleh monosit, limfosit (NK cells, T cells dan B cells) dan sel mast untuk datang ke lokasi jejas. Monosit mampu berdiferensiasi menjadi makrofag dan sel dendritik dan bergerak ke lokasi jejas dengan cara kemotaksis (Chen *et al.*, 2018).

Ekstravasasi neutrofil menuju lokasi jejas memerlukan molekul adhesi seperti selektin, untuk perlekatan awal dengan endotel pembuluh darah, dan integrin, untuk membantu neutrofil melewati endotel pembuluh darah menuju tempat jejas. Neutrofil bekerja sebagai pertahanan pertama untuk mengeliminasi patogen dan debris melalui fagositosis. Setelah itu, neutrofil akan terakumulasi di jaringan sekitar dan mati melalui apoptosis (Freire dan Dyke, 2013).

Neutrofil juga merekrut, mengaktivasi dan memprogram *antigen-presenting cells* (APC) untuk mengaktivasi sel T untuk mensekresikan mediator inflamasi lokal untuk menarik monosit dan sel dendritik untuk menuju lokasi jejas. Monosit sebelumnya diproduksi di sumsum tulang belakang dengan adanya sinyal dari proses inflamasi yang terjadi. Selain itu, neutrofil juga memberi sinyal untuk menentukan apakah makrofag berdiferensiasi menjadi makrofag pro atau antiinflamasi (Jabbour *et al.*, 2009).

Akumulasi dari makrofag yang teraktivasi pada tempat jejas adalah karakteristik dari inflamasi kronis. Makrofag didesain untuk mengeliminasi patogen dengan cara memproduksi radikal bebas yang berlebihan yang mana apabila tidak terkontrol akan menyebabkan kerusakan jaringan (Mittal *et al.*, 2014). Menurut klasifikasinya, makrofag dibagi menjadi dua yaitu makrofag M1 dan makrofag M2 (Strzelak *et al.*, 2018).

Makrofag M1 berkontribusi dalam kerusakan jaringan dengan memproduksi ROS dan sekresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-12, IL-1 dan IL-6. Sedangkan M2 terlibat dalam destruksi dan enkapsulasi parasit, imunoregulasi, deposisi matriks, remodeling jaringan dan mensekresi sitokin-sitokin antiinflamatori seperti IL-4, IL-10 dan IL-13 (Strzelak *et al.*, 2018; Mittal *et al.*, 2014).

2.2.5 Resolusi Inflamasi

Untuk mencegah progresi menjadi inflamasi kronis, respon inflamasi harus dihentikan untuk mencegah kerusakan jaringan lebih luas lagi. Resolusi inflamasi adalah proses yang dikelola dengan baik yang melibatkan pengendalian produksi mediator secara spasial dan sementara, dimana gradien kemokin dikurangi dari waktu ke waktu sehingga sel leukosit tidak menuju ke lokasi jejas lagi. Selain itu terdapat perubahan aktivasi makrofag M1 menjadi makrofag M2 yang memiliki fungsi antiinflamasi, kembalinya sel imun ke vaskuler atau ke sistem limfatik dan akhirnya adalah inisiasi proses penyembuhan (Headland dan Norling, 2015).

Resolusi dari inflamasi juga dimodulasi oleh mediator-mediator seperti *arachidonic acid-derived lipoxins, aspirin-triggered lipoxins, ω 3-eicosapentaenoic acid-derived resolvins of the E-series, docosahexaenoic acid-derived resolvins of the D series, protectins and maresins*. Interaksi selektif dari mediator lipid dengan *G protein-coupled receptors* pada sel imun bawaan menginduksi penghentian infiltrasi leukosit, kembalinya permeabilitas vaskuler dan edema, kematian neutrofil melalui apoptosis, infiltrasi monosit/makrofag untuk memfagosit neutrofil yang telah terapoptosis, benda asing dan debris nekrotik dari lokasi jejas. Proses ini

mencapai hasil inflamasi yang ideal yaitu resolusi, dengan kembalinya homeostasis pada kondisi sebelum terjadi inflamasi (Freire dan Dyke, 2013).

2.2.6 Penanda Inflamasi

Penanda inflamasi digunakan untuk membedakan antara proses fisiologis tubuh dan proses perkembangan patogen yang ada dalam tubuh (Chen *et al.*, 2018). Sitokin merupakan polipeptida yang disekresikan dan diproduksi oleh berbagai macam sel. Sitokin memiliki fungsi autokrin, parakrin atau endokrin untuk meregulasi sistem imun dan inflamasi. Jenis sel yang berbeda dapat memproduksi sitokin yang sama dan sitokin ini mampu bekerja pada beberapa jenis sel (*pleiotropy*) untuk menstimulasi atau menekan kerja sitokin lainnya. Sitokin yang berperan sebagai agen kemotaksis disebut kemokin (Moldoveanu *et al.*, 2009).

Stimulus mengaktivasi sel-sel imun seperti makrofag, monosit, limfosit dan sel adiposit untuk memproduksi sitokin-sitokin inflamasi seperti IL-1 β , IL-6, TNF- α , protein serta enzim yang berperan dalam proses inflamasi (Chen *et al.*, 2018). Sekresi dari mediator-mediator inflamasi menyebabkan rekrutmen dari sel-sel imun dan berlanjutnya respon inflamasi hingga stimulus dapat dihilangkan dan jejas dapat disembuhkan (Andriani, 2013; Lee *et al.*, 2012).

Sitokin adalah modulator utama dari inflamasi akut maupun kronis melalui interaksi yang kompleks dan terkadang saling bertentangan (Turner *et al.*, 2014). Sitokin dapat dibagi menjadi dua yaitu sitokin proinflamasi dan sitokin antiinflamasi (Chen *et al.*, 2018). Sitokin proinflamasi mayor termasuk TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, dan IFN γ . Sitokin ini mengaktivasi sistem imun dan berperan pada respon inflamasi akut yang semuanya memberi sinyal melalui reseptor sitokin tipe

1 yang secara struktural berbeda dengan jenis reseptor sitokin lainnya. Sitokin antiinflamasi mayor termasuk IL-10, TGF- β , dan IL-1ra (antagonis IL-1R) (Turner *et al.*, 2014; Moldoveanu *et al.*, 2009). Beberapa jenis sitokin lainnya dapat dilihat di dalam tabel berikut:

Tabel 2.3 Sitokin dan Fungsinya

Sitokin	Golongan	Sumber utama	Fungsi
IL-1 β	IL-1	Makrofag, monosit	Proinflamasi, proliferasi, apoptosis, diferensiasi
IL-4	IL-4	Sel T	Antiinflamasi, proliferasi sel T dan sel B, diferensiasi sel B
IL-6	IL-6	Makrofag, sel T, sel adiposa	Proinflamasi, diferensiasi, produksi sitokin
IL-8	CXC	Makrofag, sel epitel, sel endotel	Proinflamasi, kemotaksis, angiogenesis
IL-10	IL-10	Monosit, sel T, sel B	Antiinflamasi, menghambat sitokin proinflamasi
IL-12	IL-12	Sel dendritik, makrofag, neutrofil	Proinflamasi, diferensiasi sel, aktivasi sel NK
IL-11	IL-6	Fibroblast, neuron, sel epitel	Antiinflamasi, diferensiasi, induksi protein fase akut
TNF- α	TNF	Makrofag, sel NK, CD4 ⁺ , limfosit, sel adipose	Proinflamasi, produksi sitokin, proliferasi sel, apoptosis sel, anti-infeksi
IFN- γ	INF	Sel T, sel NK, sel NKT	Proinflamasi, sistem imun bawaan, imunitas adaptif anti-virus
GM-CSF	IL-4	Sel T, makrofag, fibroblas	Proinflamasi, aktivasi makrofag, peningkatan fungsi neutrofil dan monosit
TGF- β	TGF	Makrofag, sel T	Antiinflamasi, menghambat produksi sitokin proinflamasi

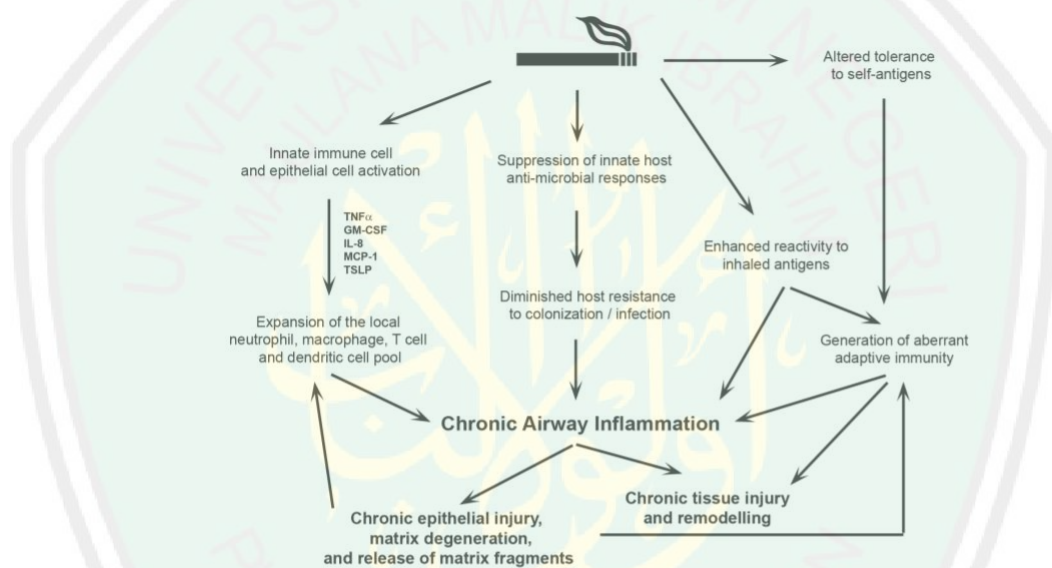
Sumber: *Inflammatory Responses and Inflammation-Associated Diseases in Organs* (2018)

2.3 Mekanisme Inflamasi oleh Asap Rokok

Asap rokok merupakan salah satu radikal bebas eksogen yang dapat menyerang molekul-molekul penting seperti DNA, protein dan lipid (Fitria *et al.*, 2013). ROS yang terdapat pada fase gas rokok memiliki umur yang pendek dan mempengaruhi terutama pada saluran pernafasan atas sedangkan ROS yang

terdapat pada fase partikel, memiliki kemampuan untuk memproduksi ROS lebih banyak lagi (Lee *et al.*, 2012).

Merokok dalam jangka waktu lama mampu menyebabkan infiltrasi dari makrofag, neutrofil dan limfosit T ke dalam saluran pernapasan dan memicu produksi kemokin, ROS, protease dan sitokin termasuk TNF- α , IL-6 dan IL-8 di paru-paru (Chen *et al.*, 2018). Sekresi dari mediator-mediator inflamasi ini mampu memicu rekrutmen dari sel-sel imun secara kronik dan memicu inflamasi (Lee *et al.*, 2012).



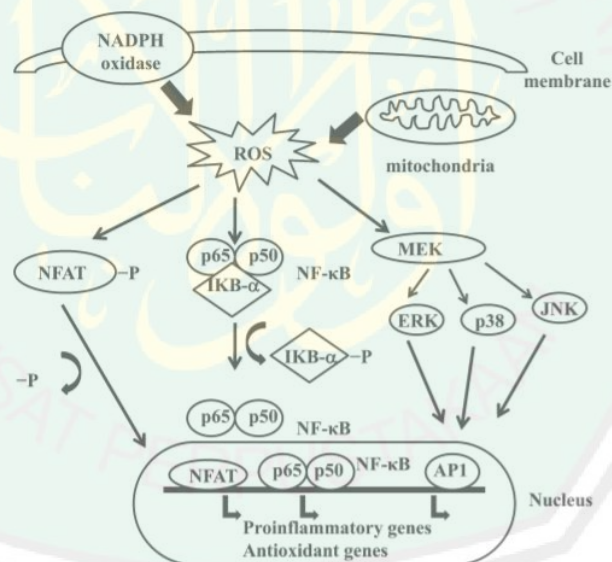
Gambar 2.7 Mekanisme Inflamasi yang Diinduksi oleh Rokok

Sumber: *Cigarette Smoking and Inflammation: Cellular and Molecular Mechanisms* (2012)

Sel epitel saluran pernapasan adalah regulator respon imun terhadap rangsangan berbagai stimulus berbahaya, termasuk asap rokok. Asap rokok mengaktivasi sel epitel melalui TLR secara langsung dan menginduksi pengeluaran kemokin dan sitokin inflamasi dari sel epitel. Selain itu asap rokok juga memiliki efek immunosupresan (Lee *et al.*, 2012). Efek immunosupresan asap rokok dikaitkan dengan kandungan nikotin, hidrokuinon dan karbon monoksidanya. Nikotin memiliki efek supresi sistem imun melalui aktivasi $\alpha 7$ *nicotinic acetylcholine* yang

merupakan reseptor pada makrofag, sel T dan sel B. Aktivasi dari reseptor ini diketahui mampu menurunkan produksi dari sitokin proinflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ dan IL-6 , supresi dari reaksi Th1 dan Th17 tetapi tidak mensupresi reaksi Th2 (Arnson *et al.*, 2010).

Respon inflamasi sel epitel terhadap asap rokok diperantarai oleh perubahan berbagai jalur pensinyalan intraseluler seperti *protein kinase C* (PKC), MAPK, $\text{NF-}\kappa\text{B}$ dan *activatory protein-1* (AP-1) (Strzelak *et al.*, 2018). $\text{NF-}\kappa\text{B}$ dapat diaktivasi sebagai respon terhadap kondisi stres oksidatif. Fosforilasi terhadap Ikappa Beta ($\text{I}\kappa\text{B}$) membebaskan $\text{NF-}\kappa\text{B}$ dan memungkinkannya untuk masuk ke dalam nukleus untuk mengaktifkan transkripsi gen antioksidan dan sitokin proinflamasi seperti $\text{IL-1}\beta$, IL-6 , $\text{TNF-}\alpha$, IL-8 dan beberapa molekul adhesi sel (Birben *et al.*, 2012).



Gambar 2.8 Efek Stres Oksidatif pada Transduksi Sinyal di Sel
Sumber: *Oxidative Stress and Antioxidant Defense* (2012)

Selain itu, sel epitel juga mensekresikan *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), *soluble intercellular adhesion molecule 1* (siCAM-1), dan *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF) (Strzelak *et al.*, 2018). IL-8 merupakan sitokin yang menyebabkan migrasi neutrofil ke saluran pernafasan

melalui kemotaksis. IL-8 juga berfungsi untuk mengaktivasi sel T, eosinofil dan makrofag. (Alexander *et al.*, 2015).

Paparan asap rokok pada sel epitel pernafasan juga menyebabkan kematian sel tersebut yang selanjutnya melepaskan DAMP yang akan berikatan dengan PRR. Ikatan antara DAMP dan PRR ini menginduksi terjadinya inflamasi pada jaringan paru. Seiring dengan kematian sel dan inflamasi yang terjadi, sel epitel juga mengalami disfungsi silia dan peningkatan produksi mukus sehingga terjadi gangguan pembersihan mukosiliar (Strzelak *et al.*, 2018; Alexander *et al.*, 2015).

Pertahanan lini pertama saluran pernafasan juga dilakukan oleh makrofag alveolar yang juga memiliki tugas untuk membersihkan sisa-sisa debris di dalam alveolus (Yamada *et al.*, 2016). Makrofag dibagi menjadi dua yaitu fenotipe M1 dan M2. Makrofag M1 diaktivasi oleh IFN- γ yang disekresi oleh Th1 (Strzelak *et al.*, 2018). Makrofag M1 dapat menginduksi kerusakan jaringan paru melalui sekresi mediator inflamasi (TNF- α , IL-6, IL-12) dan enzim seperti MMP-1, MMP-2, MMP-9, MMP-12 dan MMP-14. Makrofag M1 juga mensekresi kemokin untuk merekrut neutrofil menuju ke jaringan paru (Yamada *et al.*, 2016; Alexander *et al.*, 2015). Sedangkan makrofag M2 memiliki efek antiinflamasi dan memproduksi sitokin antiinflamasi seperti IL-10 dan TGF- β (Strzelak *et al.*, 2018).

Tumor Necrosis Factor alpha yang diproduksi oleh makrofag alveolar memiliki peran penting dalam menginduksi ekspresi dari molekul adhesi seperti ICAM-1, VCAM-1 dan *E-selectin*. *Tumor Necrosis Factor alpha* juga mampu menstimulasi produksi berbagai sitokin seperti IL-1, IL-6, IL-8, *platelet-derived growth factor* (PDGF), GM-CSF, MCP-1 dan *macrophage inflammatory protein 2* (MIP-2). Peningkatan kadar sitokin, kemokin dan molekul adhesi menyebabkan

aktivasi dan perekrutan neutrofil dan makrofag menuju paru-paru yang selanjutnya menyebabkan kerusakan jaringan (Demirjian *et al.*, 2006).

Selain itu, asap rokok dan keadaan stres oksidatif yang ditimbulkan menyebabkan penurunan fungsi fagositik oleh makrofag. Hal ini berpengaruh dalam proses penyembuhan dan pembersihan debris-debris yang ada di saluran pernafasan (Lee *et al.*, 2012). Sehingga efek dari asap rokok terhadap makrofag alveolar adalah peningkatan jumlah makrofag yang signifikan disertai dengan penurunan fungsinya (Strzelak *et al.*, 2018).

Asap rokok juga mampu menghambat kematian sel neutrofil melalui pemblokiran *Akt deactivation*. Akibatnya, terjadi perpanjangan akumulasi neutrofil di jaringan paru yang menyebabkan proses inflamasi terus berlanjut melalui pelepasan protease dan IL-8 (Alexander *et al.*, 2015). Asap rokok juga mengganggu fungsi sel dendritik dengan menurunkan jumlah sitokin yang dikeluarkan oleh sel dendritik, salah satunya adalah IL-12 yang mana merupakan penginduksi kuat dari respon Th1 sehingga apabila sekresinya dihambat maka akan mengganggu proses diferensiasi Th0 menjadi Th1 (Strzelak *et al.*, 2018).

2.4 Rokok

2.4.1 Definisi Rokok

Rokok adalah salah satu produk tembakau yang dimaksudkan untuk dibakar, dihisap dan/atau dihirup termasuk rokok kretek, rokok putih, cerutu atau bentuk lainnya yang dihasilkan dari tanaman *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana rustica*, dan spesies lainnya atau sintetisnya yang asapnya mengandung nikotin dan tar, dengan atau tanpa bahan tambahan (Kemenkes, 2017). Merokok adalah suatu

kebiasaan menghisap tembakau yang dibakar ke dalam tubuh dan menghembuskannya kembali ke luar tubuh (Sujari, 2017).

2.4.2 Jenis Rokok

Menurut Sujari (2017), terdapat berbagai jenis rokok yaitu:

- a) Rokok klobot, adalah rokok yang terbuat dari campuran tembakau dan cengkeh. Pembungkus rokok ini terbuat dari bahan daun jagung kering sehingga dinamakan rokok klobot.
- b) Rokok kawung, adalah rokok yang hampir sama dengan rokok klobot yang terbuat dari campuran tembakau dan cengkeh namun pembungkusnya terbuat dari daun kawung.
- c) Rokok kretek, adalah rokok yang terbuat dari tembakau dan cengkeh dan menghasilkan suara kretek-kretek ketika disulut dengan api sehingga dinamakan rokok kretek. Saat ini, pembungkus dari rokok kretek terbuat dari kertas sebagai pengganti dari daun jagung kering
- d) Rokok filter, adalah rokok yang bahannya hampir sama dengan rokok kretek tetapi ditambahkan saringan yang terbuat dari gabus yang berserat lembut untuk menyaring asap rokok.
- e) Rokok mild, adalah rokok filter yang memiliki kadar nikotin dan tar yang lebih rendah daripada rokok filter pada umumnya
- f) Rokok cerutu, adalah rokok yang berukuran lebih besar daripada rokok pada umumnya dan pembungkusnya adalah tembakau.

Berdasarkan asap rokok yang dihirup, perokok dapat dibagi menjadi dua kategori yaitu perokok aktif dan perokok pasif. Seseorang disebut perokok aktif

apabila ia aktif merokok atau menghirup asap rokok dari isapan rokoknya sendiri. Sedangkan seseorang disebut perokok pasif apabila ia menerima asap rokok saja tanpa mengisap rokok paling tidak dalam satu minggu ia terpapar asap rokok minimal 15 menit setiap harinya (Hanum, 2017)

2.4.3 Komponen Kimia Rokok

Menurut Tirtosastro dan Murdiyati (2010), tembakau sebagai bahan baku rokok membawa komponen-komponen kimia yang berbahaya bagi kesehatan, diantaranya sebagai berikut:

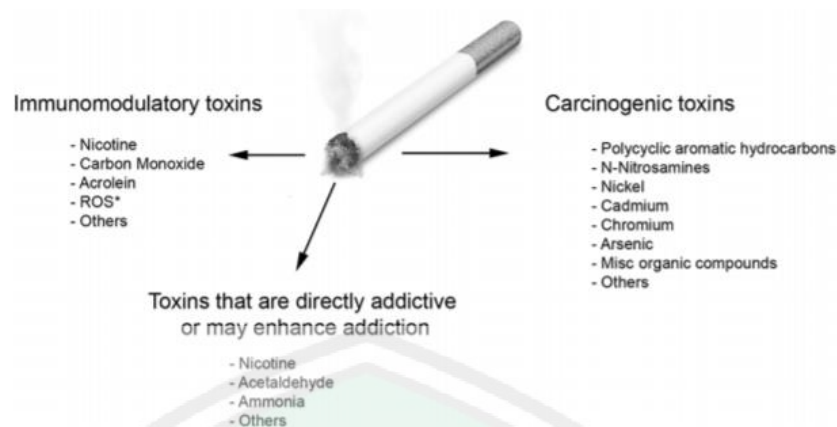
- a. Senyawa alkaloid, contohnya adalah nikotin dimana jumlahnya akan terus meningkat karena pemupukan nitrogen, pemangkasan tanaman, daerah tempat tanaman tembakau ditumbuhkan, dan lain-lain. Efek samping dari nikotin yang terkandung dalam rokok diantaranya dapat menyebabkan kecanduan dan gangguan pada jantung maupun paru-paru.
- b. *Tobacco Specific Nitrosamine* (TSNA) adalah komponen kimia yang terkandung dalam daun tembakau dalam jumlah yang sedikit tetapi mengalami peningkatan jumlah saat dilakukan pengovenan yang terlalu lama. TSNA bersifat karsinogenik dan banyak terdapat pada makanan yang diolah melalui pembakaran atau pengasapan.
- c. *Benzo-a-Pyrene* (B-a-P) adalah residu bahan bakar pada pengovenan dengan pemanasan langsung yang juga bersifat karsinogenik seperti TSNA.

- d. Bahan sisa dari pupuk dan pestisida seperti klor, *cadmium*, *sipermetrin*, *provenofos*, dan lainnya.
- e. Bahan-bahan asing yang dikriteriakan sebagai bahan lain terbawa tembakau terutama bahan yang terbuat dari plastik seperti tali, pembungkus, dan lain-lain (NTRM = *nontobacco related-material*).

2.5 Asap Rokok

Setiap batang rokok yang dibakar, menghasilkan sekitar 5000 mg gas (92%) dan bahan-bahan partikel padat (8%) yang berupa droplet aerosol cair dan partikel tar padat submikroskopik (Fitria *et al.*, 2013). Menurut Nasution *et al.* (2016), asap yang dihasilkan saat merokok dapat dibagi menjadi dua yaitu asap primer dan asap sekunder.

Asap primer adalah asap yang berasal dari pembakaran tembakau dan dihirup langsung oleh perokok sedangkan asap sekunder merupakan hasil dari proses pembakaran tembakau di rokok itu sendiri dan memiliki kadar racun lebih tinggi dan lebih berbahaya daripada asap primer (Nasution *et al.*, 2016). Asap rokok lingkungan atau *environmental tobacco smoke* (ETS) merupakan kombinasi dari asap primer dan asap sekunder dimana persentasinya yaitu sekitar 85% asap sekunder dan 15% asap primer (Hanum, 2017).



Gambar 2.9 Komponen Racun Rokok

Sumber: *Cigarette Smoking and Inflammation: Cellular and Molecular Mechanisms* (2012)

Asap rokok yang dihasilkan dari pembakaran tembakau mengandung berbagai zat karsinogen yang diperoleh dari pembentukan nikotin selama pengolahan tembakau (Gul *et al.*, 2019). Terdapat sekitar 4.800 komponen senyawa kimia yang terbentuk dari hasil pembakaran rokok diantaranya adalah nikotin, *hydrogen cyanide*, gas karbon monoksida, akrolein, nitrogen oksida, tar, ammonia, benzene, dan etanol (Pahriyani, Sunaryo dan Kurnia, 2017).

Asap rokok terdiri dari 2 fase yaitu fase gas dan fase tar yang memiliki banyak radikal bebas di setiap fasenya. Fase gas mengandung radikal anorganik dan organik seperti ROS, epoksida, peroksida, nitrogen oksida (NO), nitrogen dioksida, peroksinitrit, peroksinitrat, dan berbagai radikal bebas lainnya (Sirait, 2016). NO merupakan molekul yang memiliki peran fisiologis dalam tubuh tetapi memiliki efek toksik ketika jumlahnya berlebihan. NO dapat bereaksi dengan peroksida membentuk peroksinitrit (ONOO^-), radikal yang sangat toksik dan oksidatif terhadap berbagai biomolekul (Valavanidis *et al.*, 2009).

Fase tar terdiri dari partikel halus dan sangat halus yang dengan mudah terpenetrasi ke dalam alveolus (Valavanidis *et al.*, 2009). Fase tar terdiri dari tar, nikotin, *benzantracene*, *benzopiren*, *fenol*, *cadmium*, *indol*, *karbazol* dan kresol

(Kusuma, 2011). Beberapa komponen larut air dari *aqueous cigarette tar* (ACT) dapat memproduksi superoksida, yang selanjutnya menjadi hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif terhadap membran lipid sel, protein, enzim dan DNA (Valavanidis *et al.*, 2009).

Menurut Hanum (2017), racun yang paling utama dalam asap rokok adalah:

a. Nikotin

Nikotin merupakan salah satu senyawa alkaloid toksik yang dapat menyebabkan ketergantungan bagi penggunanya karena bersifat adiktif (Hanum, 2017). Selain itu nikotin mampu memberikan rasa lebih tenang, daya pikir cemerlang, memacu saraf simpatis dan dapat menekan rasa lapar (Afif, Isbandiyah dan Indrawanto, 2012).

b. Tar

Tar adalah campuran berbagai jenis hidrokarbon aromatic polisiklik, amin aromatic dan N-nitrosamine yang memiliki warna coklat (Hanum, 2017). Kandungan dalam tar yang menyebabkan tar berperan sebagai radikal bebas yaitu ion besi, semiquinol dan hidroquinol. Bahan-bahan tersebut akan menghasilkan radikal peroksil dan hidrogen peroksida (Pahriyani, Sunaryo dan Kurnia, 2017).

c. Karbon monoksida (CO)

CO yang dihasilkan asap rokok berpengaruh kuat terhadap kerja hemoglobin (Hb) dalam darah. CO memiliki afinitas yang lebih kuat dibandingkan dengan oksigen (O_2) sehingga Hb lebih cenderung

untuk berikatan dengan CO. Hal ini menyebabkan terganggunya proses pengangkutan O₂ di dalam darah (Hanum, 2017).

d. Timah hitam (Pb)

Timah hitam yang terkandung pada tiap batang rokok sebanyak 0,5 mikrogram dimana batas maksimal Pb yang dapat masuk ke dalam tubuh manusia adalah 20 mikrogram. Paparan asap rokok yang terlalu lama akan menyebabkan penumpukan Pb sehingga akan menjadi sangat berbahaya bagi tubuh (Hanum, 2017).

Asap rokok mengandung banyak radikal bebas yang tidak dapat dihilangkan dengan filter rokok (Lee, Taneja dan Vasallo, 2012). Ia memiliki sifat reaktivitas yang tinggi karena elektron tidak berpasangan yang dimilikinya sehingga ia dapat merusak molekul lain dengan cara menarik elektronnya untuk menstabilkan elektron tidak berpasangannya. Hal ini menyebabkan kerusakan sel, gangguan fungsi sel dan dapat menyebabkan kematian sel (Fitria *et al.*, 2013).

Reactive Oxygen Species pada asap rokok juga mampu merusak antioksidan endogen seperti vitamin dan antioksidan enzimatik sehingga pertahanan antioksidan seluler menurun. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kadar vitamin dalam tubuh perokok lebih rendah daripada orang yang tidak merokok yang berdampak pada stres oksidatif sistemik, sedangkan asupan suplemen antioksidan hanya memberikan efek perlindungan terbatas pada perokok (Valvanidis *et al.*, 2009).

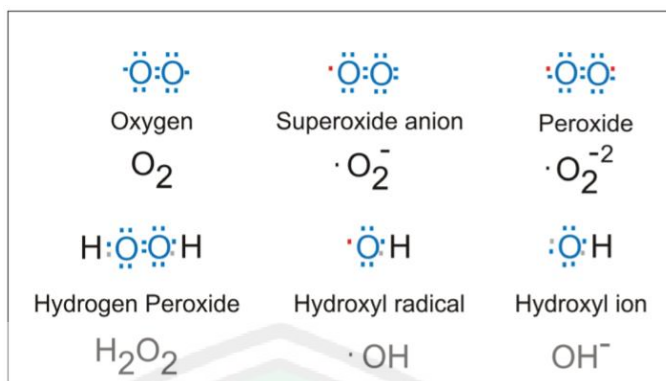
2.6 *Reactive Oxygen Species*

2.6.1 *Definisi Reactive Oxygen Species*

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang bersifat sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan di orbit terluarnya (Fadiyah *et al.*, 2018). Elektron tidak berpasangan yang dimiliki oleh *reactive oxygen species* (ROS) membuatnya hanya dapat bertahan dalam hitungan *millisecond* ($10^{-9} - 10^{-12}$) sebelum ia bereaksi dengan molekul lainnya untuk menstabilkan susunan elektronnya (Widayati, 2012).

Radikal bebas akan menstabilkan molekulnya dengan cara mengambil elektron molekul di sekitarnya dan molekul yang diambil elektronnya tersebut akan berubah menjadi radikal bebas (Sirait, 2016; Parwata, 2015). Berbagai jenis radikal bebas banyak ditemukan dalam tubuh tetapi yang keberadaannya paling banyak adalah radikal bebas turunan oksigen atau *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) (Parwata, 2015).

Reactive Oxygen Species adalah suatu istilah untuk molekul yang berasal dari oksigen dan lebih reaktif daripada oksigen itu sendiri (Halliwell dan Gutteridge, 2015). Selain muncul dalam bentuk radikal bebas, ROS juga terdapat dalam bentuk non-radikal ketika terdapat dua molekul radikal bebas saling berbagi elektron tidak berpasangannya, tetapi dapat dengan mudah bereaksi seperti radikal bebas pada organisme hidup (Birben *et al.*, 2012; Phaniendra *et al.*, 2014).



Gambar 2.10 Susunan Elektron ROS

Sumber: *An Introduction to Reactive Oxygen Species Measurement of ROS in Cells* (2015)

Molekul yang termasuk dalam ROS adalah superoksida (O_2^*), hidroksil (OH^*), peroksil (ROO^*), hidrogen peroksida (H_2O_2), oksida nitrit (NO^*), peroksinitrit ($ONOO^*$), asam hipoklorit ($HOCl$) dan lain-lain (Parwata, 2015). ROS yang berperan signifikan adalah superoksida, hidroksil dan hidrogen peroksida (Birben *et al.*, 2012).

Tabel 2.4 Jenis-jenis ROS

Radikal	Non Radikal
OH^* (radikal hidroksil)	O_2 (oksigen singlet)
O_2^* (radikal superoksida)	H_2O_2 (hidrogen peroksida)
RO_2^* (radikal peroksil)	$HOCl$ (asam hipoklorit)
RO^* (radikal alkoksil)	O_3 (ozon)
LOO^* (lipid peroksil)	$LOOH$ (lipid peroksida)
RS^* (radikal metil)	

Sumber: *Oxidative Stress and Antioxidants: an Overview* (2017)

2.6.2 Pembentukan *Reactive Oxygen Species*

Reactive Oxygen Species sebagian besar adalah hasil metabolisme sel normal dalam tubuh (ROS endogen) dan sebagian kecil didapatkan dari paparan zat dari luar tubuh (ROS eksogen) (Sirait, 2016).

a. Sumber Endogen

1) Autoksidasi

Adalah kelompok oksigen reaktif yang merupakan hasil dari proses metabolisme aerob beberapa jenis molekul yaitu hemoglobin, katekolamin, sitkrom C yang tereduksi, mioglobin dan thiol (Sirait, 2016).

2) Oksidasi enzimatik

Beberapa jenis enzim yang dapat menghasilkan radikal bebas yaitu *xanthine oksidase*, *lipoxxygenase*, *aldehid oksidase*, *amino acid oksidase*, dan *prostaglandin synthase* (Sirait, 2016).

3) Respiratory burst

Adalah proses fagositosis yang memerlukan oksigen dalam jumlah besar oleh sel fagositik. Sekitar 70-90% pemakaian oksigen dalam proses tersebut berperan dalam produksi superoksida (Sirait, 2016).

b. Sumber Eksogen

1) Obat-obatan

Obat-obatan berkontribusi dalam peningkatan radikal bebas dengan cara peningkatan tekanan oksigen. Jenis obat-obatan yang dimaksud antara lain golongan antibiotik quionoid, obat kanker, serta asam askorbat jika digunakan berlebih dapat mempercepat peroksidasi lipid (Sirait, 2016).

2) Radiasi

Penggunaan radioterapi dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas (Sirait, 2016). Radiasi sinar rontgen dan sinar ultraviolet ternasuk dalam zat pembentuk ROS karena kedua sinar tersebut dapat melisiskan air menjadi radikal OH (Widayati, 2012).

3) Asap rokok

Sekitar 3500 zat kimia terkandung dalam asap rokok dan sebagian besar adalah zat toksik, karsinogen dan mutagen (Valavanidis *et al.*, 2009). Asap rokok yang dihirup manusia terdiri dari komponen gas dan partikel. Komponen gas yang berpotensi menjadi radikal bebas terdiri dari karbon monoksida, karbon dioksida, oksida dari nitrogen dan senyawa karbon. Sedangkan komponen partikel asap rokok terdiri dari tar, nikotin, fenol, cadmium dan benzopiren (Rohmani, 2018).

Oksidan yang terkandung dalam asap rokok meliputi superoksida, nitrit oksida, hidrogen peroksida, hidroksil dan peroksil dimana asap rokok juga mampu menurunkan produksi *glutathione* (GSH) yang merupakan antioksidan utama di jaringan paru (Birben *et al.*, 2012; Adytia *et al.*, 2014; Strzelak *et al.*, 2018).

4) Ozon

Paparan ozon mampu menyebabkan peroksidasi lipid dan menginduksi influks neutrofil ke dalam epitel saluran pernafasan. Paparan ozon dalam jangka pendek juga menyebabkan rilis mediator-mediator inflamasi, seperti myeloperoksidase, *eosinophil cationic proteins* juga laktat dehidrogenase dan albumin. Paparan ozon juga mampu menurunkan fungsi paru pada subyek yang sehat (Birben *et al.*, 2012).

Radikal bebas dapat terbentuk dari proses lepasnya suatu elektron dari sebuah molekul non-radikal sehingga meninggalkan satu elektron tidak berpasangan dan muatan molekul tersebut menjadi positif. Radikal bebas juga dapat terbentuk ketika suatu molekul non-radikal menerima satu elektron sehingga

menyebabkan molekul tersebut memiliki satu elektron tidak berpasangan dan muatannya menjadi negatif (Halliwell dan Gutteridge, 2015).

Selain kedua mekanisme di atas, radikal bebas juga dapat terbentuk apabila ikatan kovalen suatu molekul terputus sehingga meninggalkan satu elektron tidak berpasangan, suatu proses yang dikenal dengan *homolytic fission*. Energi yang diperlukan untuk memecah ikatan kovalen ini didapatkan dari panas (450-600 °C), sinar ultraviolet atau radiasi (Halliwell dan Gutteridge, 2015).

Tabel 2.5 Oksidan Endogen Utama

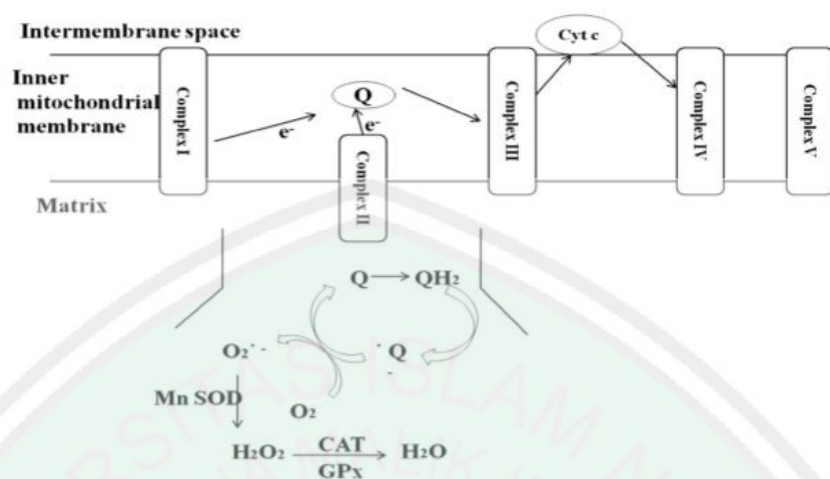
Oksidan	Struktur Molekul	Persamaan Reaksi
Anion superoksida	O_2^-	$NADPH + 2O_2 \leftrightarrow NADP^+ + 2O_2^- + H^+$ $2O_2^- + H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$
Hidrogen peroksida	H_2O_2	Hipoksantin + $H_2O + O_2 \rightleftharpoons$ xantin + H_2O_2 Xanrin + $H_2O + O_2 \rightleftharpoons$ asam urat + H_2O_2
Radikal hidroksil	$\bullet OH$	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \bullet OH$
Asam hipoklorit	$HOCl$	$H_2O_2 + Cl^- \rightarrow HOCl + H_2O$
Radikal peroksil	$ROO\bullet$	$R\bullet + O_2 \rightarrow ROO\bullet$
Radikal hidroperoksil	HOO	$O_2^- + H_2O \rightleftharpoons HOO + OH^-$

Sumber: *Oxidative Stress and Antioxidant Defense* (2012)

Superoksida terbentuk dari penambahan satu elektron pada molekul oksigen yang diperantarai oleh *nicotine adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) *oxidase* atau *xanthine oxidase* atau oleh sistem transport elektron pada mitokondria. NADPH oksidase dapat ditemukan di leukosit polimorfonuklear, monosit dan makrofag. Ketika terjadi proses fagositosis, sel-sel tersebut memproduksi superoksida dalam jumlah banyak yang berfungsi sebagai bakterisidal (Birben *et al.*, 2012).

Di dalam mitokondria, superoksida diubah menjadi hidrogen peroksida dalam reaksi yang dikatalis oleh superoksida dismutase (SOD) yang dapat dengan mudah menyebar dengan cara berdifusi melalui membran plasma sel. Kemudian hidrogen peroksida diubah menjadi radikal hidroksil ($OH^\bullet$) yang bersifat mutagenik

melalui reaksi *Haber-Weiss* (reaksi antara superoksida dan hidrogen peroksida) dan reaksi *Fenton* (dapat dilihat di Tabel 2.5) (Widayati, 2012; Birben *et al.*, 2012).



Gambar 2.11 Pembentukan ROS dalam Mitokondria

Sumber: *Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases* (2014)

Hidroksil adalah salah satu radikal bebas yang sangat reaktif. Hidroksil mampu bereaksi kuat dengan molekul organik maupun anorganik, termasuk DNA, protein, lipid dan karbohidrat dan dapat menyebabkan kerusakan berat pada sel yang diserang dibandingkan dengan radikal bebas lainnya (Phaniendra *et al.*, 2014).

2.6.3 Dampak *Reactive Oxygen Species*

Radikal bebas memiliki dampak positif maupun negatif di dalam tubuh manusia. Salah satu contoh efek positif dari radikal bebas adalah ia mampu berperan dalam proses bakterisidal dan bakteriolisis normal yang mana juga diketahui bahwa radikal bebas juga disintesis oleh sel fagosit melalui jalur NADP oksidasi seperti radikal $O_2^{\bullet -}$ dan H_2O_2 yang berperan sebagai bakterisidal (Fitria *et al.*, 2013).

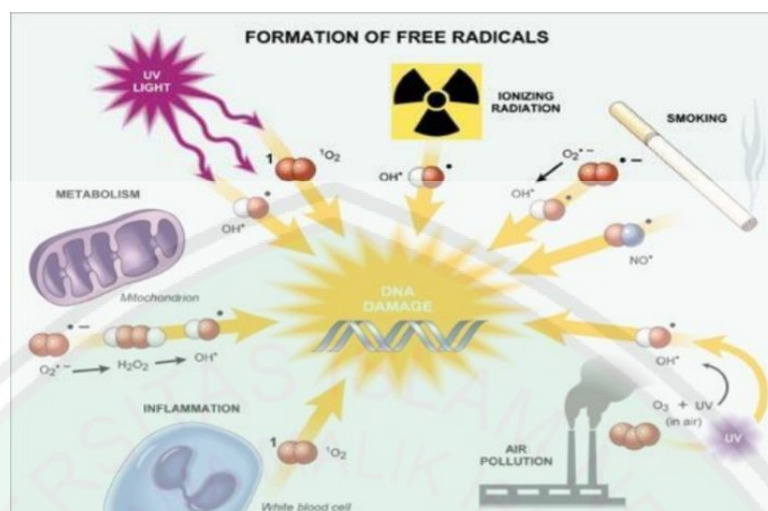
Sedangkan kondisi ketika jumlah ROS dan antioksidan pada tubuh manusia tidak seimbang dikenal dengan istilah stres oksidatif (Prianugraha, 2018). Stres oksidatif terjadi ketika jumlah ROS dalam tubuh manusia lebih banyak daripada jumlah antioksidan yang ada (Arief dan Widodo, 2016). Karena sifat ROS yang sangat reaktif, ROS mampu merusak berbagai jaringan diantaranya *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA), lipid, dan protein (Widayati, 2012).

Baik ROS maupun RNS mampu merusak DNA sel, dimana DNA mitokondria lebih rentan untuk terkena serangan ROS daripada DNA nukleus karena letaknya berdekatan dengan tempat ROS dibuat (Phaniendra *et al.*, 2014). Interaksi antara ROS dan basa DNA menyebabkan berubahnya struktur kimia DNA sehingga dapat mengalami mutasi yang dapat diturunkan, terutama bila terjadi pada DNA sel germinal baik di sel ovarium maupun di testis. Sedangkan kerusakan yang terjadi pada DNA sel somatik akan menyebabkan keganasan (Murray *et al.*, 2009).

ROS dapat menginduksi peroksidasi lipid dan merusak susunan bilayer lipid membran, terutama asam lemak tak jenuh ganda, yang mampu menginaktivasi reseptor dan enzim yang terikat membran sel dan meningkatkan permeabilitas sel tersebut (Phaniendra *et al.*, 2014). Produk yang dihasilkan dari peroksidasi lipid, seperti malondialdehida (MDA) dan aldehida tidak jenuh mampu menginaktivasi beberapa protein seluler dengan membentuk ikatan silang protein (Birben *et al.*, 2012).

Kerusakan DNA dan peroksidasi membran lipid yang disebabkan oleh kerusakan oksidatif dikaitkan dengan berbagai penyakit kronis seperti kanker, aterosklerosis, penyakit neurodegenerative, dan penuaan (Adwas *et al.*, 2019). Asap rokok, logam redoks dan logam non-redoks, seperti besi, kadmium, krom, dan

arsenil, juga ikut berperan dalam karsinogenesis dan penuaan dengan cara menghasilkan radikal bebas atau terikat dengan grup thiol (Birben *et al.*, 2012).



Gambar 2.12 Sumber ROS yang Menyerang DNA
Sumber: *Antioksidan* (2015)

Selain kedua reaksi di atas, ROS mampu mengoksidasi beberapa asam amino berbeda pada protein, menyebabkan terbentuknya ikatan silang antar protein yang mengarah ke denaturasi dan hilangnya fungsi protein, hilangnya aktivitas enzimatis dan hilangnya fungsi reseptor dan protein transpor (Phaniendra *et al.*, 2014).

Reactive Oxygen Species juga mampu mengaktifasi kaskade pensinyalan intraseluler sel epitel yang mengarah ke aktivasi gen inflamatori (seperti *interleukin-8* (IL-8) dan *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α)). Sekresi dari mediator inflamasi ini memicu rekrutmen dari sel imun secara kronis dan memicu inflamasi (Lee *et al.*, 2012).

Peningkatan jumlah ROS dalam tubuh juga berkontribusi dalam proses inaktivasi antiprotease (co: α 1-antitripsin) dan aktivasi metaloproteinase (MMP) yang menyebabkan ketidakseimbangan dari protease-antiprotease, yang mana berakibat secara langsung dalam proses degradasi matriks paru. Selain itu, stres

oksidatif juga mampu meningkatkan jumlah sel yang mengalami apoptosis, gangguan fungsi otot skeletal, hipersekresi mukus dan menurunkan afinitas ikatan senyawa serta translokasi dari reseptor steroid (Strzelak *et al.*, 2018).

2.7 Antioksidan

Antioksidan adalah suatu senyawa yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Ia memiliki kemampuan untuk mencegah atau memperlambat proses oksidasi sebuah makromolekul dengan mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan mampu memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Parwata, 2015; Adwas *et al.*, 2019). Antioksidan memiliki beberapa fungsi yaitu (Kattappagari *et al.*, 2015):

- Menurunkan jumlah radikal bebas
- Menstimulasi pertumbuhan sel
- Melindungi sel dari penuaan dini dan abnormal
- Membantu melawan degenerasi molekuler terkait usia
- Menyokong sistem imun tubuh

2.7.1 Jenis Antioksidan

Menurut Manisha *et al* (2017), antioksidan dapat diklasifikasikan menurut lokasi dan menurut sifatnya.

a. Menurut Lokasi

- Antioksidan yang berada di plasma: asam urat, asam askorbat, bilirubin, transferrin, seruloplasmin.

- Antioksidan yang berada di membrane sel: vitamin E (α -tokoferol).
- Antioksidan yang berada di intrasel: superoksida dismutase (SOD), katalase, glutathion peroksidase, glutathion reductase.

b. Menurut sifat

- Antioksidan enzimatis: SOD, katalase, glutathion peroksidase dan glutathion reduktase.
- Antioksidan non-enzimatis
 - Mineral: zinc, selenium.
 - Vitamin: vitamin A, C, E.
 - Karotenoid: beta karoten, likopen, lutein, zeaxanthin.
 - Antioksidan dengan berat molekul rendah: glutathion dan asam urat.
 - Senyawa sulfur organo: *allium*, *allyl sulphide*, *indoles*.
 - Kofaktor antioksidan: koenzim Q 10.
 - Polifenol: flavonoid, asam fenolik (Kattappagari *et al.*, 2015).

Menurut sumbernya, antioksidan dapat dibagi menjadi dua yaitu antioksidan yang berasal dari dalam tubuh atau endogen dan antioksidan yang berasal dari luar tubuh atau eksogen. Antioksidan eksogen dapat dibagi lagi menjadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis (Sirait, 2016).

- a. Antioksidan endogen, atau yang biasa disebut sebagai enzim antioksidan adalah sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas secara alami. Enzim-enzim ini termasuk enzim superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx) dan katalase (CAT) (Setyaningrum, 2016). Ketiga jenis

antioksidan enzimatis ini memiliki fungsi utama untuk mempertahankan homeostasis sel (Adwas *et al.*, 2019).

- b. Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diproduksi oleh manusia dengan cara mensintesis di bidang industri, termasuk butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluene (BHT), propil galat dan tert-butil hidroksi quinon (TBHQ) (Parwata, 2015).
- c. Antioksidan alami, adalah antioksidan yang didapat dari alam yang diproduksi oleh mikroorganisme, jamur, hewan dan tumbuhan (Sirait, 2016). Antioksidan alami dapat diperoleh dari bagian-bagian tanaman seperti batang, kulit batang, daun, akar, buah, bunga, biji serta serbuk sari seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E dan senyawa fenolik (Parwata, 2015).

Menurut Santos-Sánchez *et al.* (2019), terdapat dua jenis antioksidan utama, yaitu antioksidan primer, yang bekerja dengan merusak reaksi berantai; penangkap radikal bebas, dan antioksidan sekunder yang memiliki fungsi preventif termasuk deaktivasi logam, inhibisi hidroperoksidase lipid dengan mengganggu produksi gas yang tidak diinginkan, regenerasi antioksidan primer dan mengeliminasi oksigen singlet.

2.7.2 Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme pertahanan oleh antioksidan meliputi: 1) pemblokiran produksi radikal bebas 2) menangkap radikal bebas 3) mengkonversi radikal bebas beracun menjadi zat yang kurang beracun 4) pemblokiran produksi metabolit sekunder yang beracun dan mediator inflamasi 5) pemblokiran rantai dari oksidan sekunder 6)

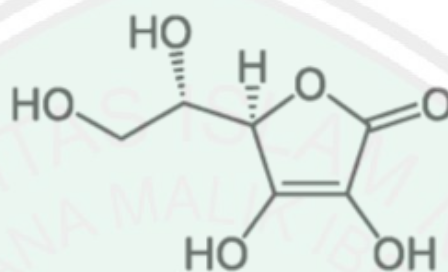
memperbaiki molekul yang rusak 7) menginisiasi dan meningkatkan sistem pertahanan antioksidan endogen (Adwas *et al.*, 2019).

Antioksidan enzimatis bekerja dengan merusak dan menghilangkan radikal bebas (Nimse dan Pal, 2015). Peran SOD adalah untuk menangkap radikal superoksida dan merubahnya menjadi hidrogen peroksida dengan bantuan kofaktor seperti Cu, Zn, Mn dan Fe (Adwas *et al.*, 2019; Parwata, 2015). Selanjutnya, hidrogen peroksida diubah menjadi air dan oksigen melalui reaksi yang dikatalisis oleh GPx. Sedangkan CAT adalah antioksidan enzimatis yang mampu menghancurkan jutaan molekul hidrogen peroksida dengan cepat. CAT menggunakan Fe dan Mn sebagai kofaktor dan mengkatalisis degradasi atau reduksi dari hidrogen peroksida untuk memproduksi air dan oksigen, demikian hal ini melengkapi proses detoksifikasi oleh SOD (Santos-Sánchez *et al.*, 2019).

Antioksidan non-enzimatis bekerja dengan cara menginterupsi reaksi berantai radikal. Antioksidan enzimatis dibedakan menjadi dua kelompok menurut kelarutannya dalam air atau lipid. Antioksidan larut air, misalnya vitamin C, biasanya ditemukan di cairan sel seperti sitosol atau matriks sitoplasma. Sedangkan antioksidan larut lipid, seperti vitamin E, karotenoid dan asam lemak, sebagian besar terletak di dalam membran sel (Nimse dan Pal, 2015).

Vitamin C atau asam askorbat menjadi antioksidan yang bekerja dalam cairan intraseluler maupun ekstraseluler, terutama dengan menangkap radikal bebas seperti superoksida, hidrogen peroksida, radikal hidroksil, asam hipoklorit dan singlet oksigen (Kattappagari *et al.*, 2015). Vitamin C juga dapat meregenerasi vitamin E di membran sel dalam kombinasi dengan GSH atau senyawa lainnya yang mampu menyumbang elektron setara. Asam askorbat akan berubah menjadi

radikal askorbat setelah mendonorkan elektronnya kepada radikal lipid untuk memutus rantai reaksi peroksidasi lipid. Pasangan radikal askorbat bereaksi dengan cepat untuk menghasilkan satu molekul askorbat dan satu molekul dehidroaskorbat (Nimse dan Pal, 2015). Dehidroaskorbat relatif tidak stabil dan mudah mengalami konversi menjadi asam oksalat (Kattappagari *et al.*, 2015).



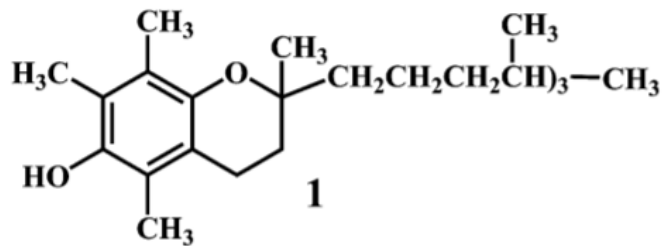
Gambar 2.13 Struktur Vitamin C

Sumber: *Oxidative Stress and Antioxidant Defense* (2012)

Vitamin E atau α -tokoferol adalah salah satu antioksidan fase lipid yang memiliki peran penting untuk stabilisasi membrane sel (Kattappagari *et al.*, 2015). Vitamin E memiliki fungsi sebagai pemutus rantai peroksidasi lipid di membran sel dengan cara mendonorkan atom H kepada radikal peroksil (LOO^*) melalui reaksi (Nimse dan Pal, 2015; Parwata, 2015):



Reaksi ini dapat menghentikan reaksi-reaksi radikal selanjutnya (Parwata, 2015). Radikal tokoferoksil yang dihasilkan relatif stabil dan dalam keadaan normal tidak cukup reaktif untuk memulai peroksidasi lipid, yang mana merupakan kriteria dari sebuah antioksidan yang baik (Nimse dan Pal, 2015). Disamping itu, vitamin E juga berperan untuk menghambat produksi sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α (Parwata, 2015).

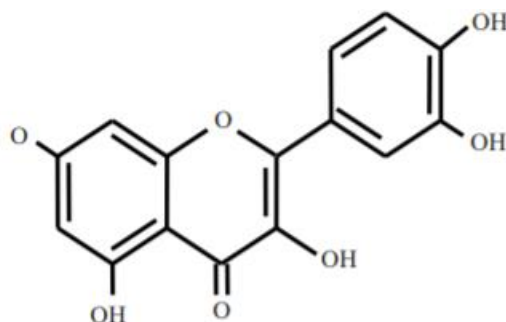


Gambar 2.14 Struktur Vitamin E

Sumber: *Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms* (2015)

Selain itu, terdapat antioksidan non-enzimatik alami yang juga memiliki peran penting dalam melawan stres oksidatif berupa senyawa fenolik dan flavonoid (Parwata, 2015). Beberapa jenis flavonoid antara lain flavonol, flavon, flavonolol, flavanol, flavonon, antosyanidin, dan isoflavon (Nimse dan Pal, 2015). Aktivitas antioksidan senyawa fenolik terdapat pada berbagai mekanisme yaitu penangkap radikal bebas, donasi atom hidrogen, peredam terbentuknya singlet oksigen, pengkelat logam dan bertindak sebagai substrat untuk superoksida dan hidroksil (Adwas *et al.*, 2019).

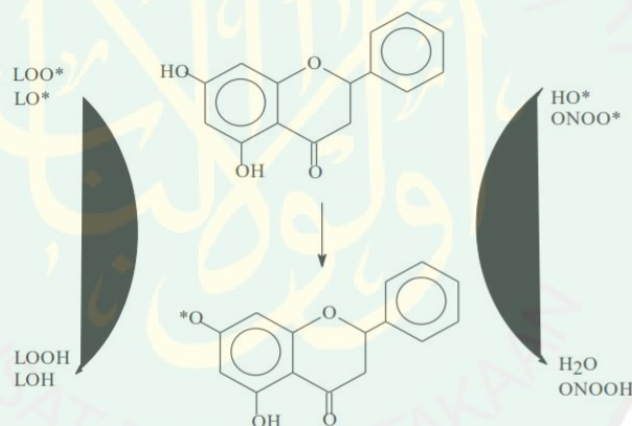
Flavonoid memiliki efek antioksidan dengan mencegah pembentukan ROS, menangkap ROS secara langsung atau menyebabkan peningkatan enzim (Parwata, 2016). Flavonoid mampu menangkap ROS dengan cara menyumbangkan atom hidrogennya sehingga radikal bebas menjadi lebih stabil (Arifin dan Ibrahim, 2018). Penangkapan superoksida oleh flavonoid dapat meningkatkan bioavailabilitas NO dan menghambat pembentukan peroksinitrit. Flavonoid juga mampu melindungi membrane fosfolipid PUFA dengan menyumbangkan ion hidrogennya kepada radikal peroksil lipid (LOO*) (Parwata, 2016).



Gambar 2.15 Struktur Kimia Flavonoid

Sumber: *Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis* (2010)

Flavonoid juga mampu memberikan efek perlindungan terhadap kerusakan DNA yang diinduksi oleh radikal hidroksil. Salah satu mekanismenya adalah keterlibatan flavonoid dalam proses pengkelatan ion logam seperti tembaga atau besi. Flavonoid membentuk senyawa dengan Cu atau Fe untuk mencegah terbentuknya ROS (Nimse dan Pal, 2015).



Gambar 2.16 Mekanisme Flavonoid dalam Melindungi Reaksi ROS

Sumber: *Antioksidan* (2015)

2.8 Kemangi (*Ocimum citriodorum*)

Genus *Ocimum* merupakan salah satu tumbuhan yang termasuk dalam famili *Lamiaceae* yang banyak mengandung minyak esensial. Ditemukan terdapat lebih dari 150 spesies yang termasuk dalam genus *Ocimum* (Silalahi, 2018). *Ocimum citriodorum* (*O. citriodorum*) atau basil lemon merupakan salah satu

spesies dari genus *Ocimum* yang merupakan hibrida dari persilangan dari *Ocimum basilicum* dan *Ocimum americanum* (Makmur, 2016).

Ocimum citriodorum memiliki nama lain yaitu *Ocimum africanum* Lour yang lebih dikenal dengan kemangi merupakan salah satu tanaman *indigenous* di Indonesia. Selain dikenal dengan nama kemangi, *O. citriodorum* juga dikenal dengan nama camangi (Makassar), serawung (Sunda), lufe-lufe (Ternate) dan kelampes (Jawa Tengah) (Makmur, 2016).

2.8.1 Taksonomi dan Morfologi Kemangi

Taksonomi tanaman *O. citriodorum* adalah sebagai berikut (Ikhlas, 2013; Mead, 2014; Makmur, 2016):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Lamiales
Famili	: Lamiaceae
Subfamili	: Nepetoideae
Tribe	: Ocimeae
Subtribe	: Ociminae
Genus	: <i>Ocimum</i>

Species : *Ocimum citriodorum*

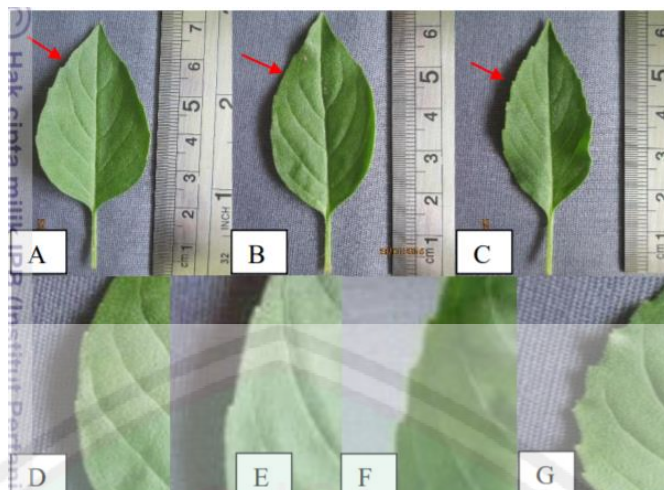
Sinonim : *Ocimum* × *africanum* Lour



Gambar 2.17 Kemangi

Sumber: Analisis Keragaman Genetik Kemangi (*Ocimum africanum* Lour.) Berdasarkan Marka Morfologi dan Inter-Simple Sequence Repeats (2016)

Ocimum citriodorum adalah tanaman yang tumbuh tahunan dan dapat tumbuh setinggi 0,3-1 meter (Conn, 2014) dan tajuk membentuk pola setengah lingkaran (Makmur, 2016). Adapun ciri spesies *O. citriodorum* adalah daunnya memiliki aroma lemon dengan panjang 0,5-3,5 cm, lebar 0,5-2 cm, panjang tangkai daun 3-25 mm, tepi daunnya bergerigi, memiliki pertulangan daun menyirip dengan ujung daunnya meruncing; memiliki kelopak bunga sepanjang 5-6 mm berwarna hijau-ungu dan mahkota berwarna putih atau ungu muda dengan panjang 4-7 mm; putik dan benangsari terdapat dalam satu bunga, tangkai sari sepanjang 1-3 mm; buah yang dihasilkan berbentuk kotak dengan setiap buahnya berisi empat biji yang berwarna coklat-kehitaman berbentuk elips, berukuran 1,9 mm x 1 mm (Conn, 2014; Mead, 2014; Makmur, 2016).



Gambar 2.18 Variasi Bentuk Daun *Ocimum citriodorum*

Sumber: Analisis Keragaman Genetik Kemangi (*Ocimum africanum* Lour.) Berdasarkan Marka Morfologi dan Inter-Simple Sequence Repeats (2016)

Perbedaan antara *O. americanum*, *O. basilicum* dan *O. citriodorum* dapat dilihat di tabel berikut:

Tabel 2.6 Perbandingan *O. americanum*, *O. basilicum* dan *O. citriodorum*

	<i>O. americanum</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>O. citriodorum</i>
Mahkota bunga	4-5 mm	7-8 mm	4-5,5 mm
Panjang kelopak bunga saat tahap berbunga	1,5-2 mm	4-5 mm	1,5-2,5 mm
Panjang kelopak saat tahap berbuah	2-3 mm	6-8 mm	4-5,5 mm
Aroma	Kamper, jeruk, kayu manis dan cengkeh	Bermacam tergantung kultivar	Lemon atau adas manis
Daun	Panjang 0,5-2,5 cm; lebar 0,5-1,5 cm; tangkai daun 0,2-1,5 cm, tepi daun bergerigi	Panjang 1,5-5 cm dengan lebar 0,5-2,5 cm	Panjang 0,5-3,5 cm; lebar 0,5-2 cm; tepi daun bergerigi

Sumber: *Basils (Ocimum spp.) in Indonesia* (2014)

2.8.2 Kandungan Kemangi

Kemangi mengandung beberapa senyawa seperti flavonoid, eugenol, arigin, anetol, boron, dan minyak atsiri (Lestari, 2018). Genus *Ocimum* dikenal dengan

kandungan minyak atsiri yang berlimpah dari berbagai spesiesnya seperti *O. basilicum* L., *O. citriodorum*, *O. basilicum canum* Sims., dan spesies *Ocimum* lainnya (Zahra dan Iskandar, 2017). Selain itu, kemangi juga mengandung tanin, steroid/triterpenoid, asam heksauronat, pentose, xilosa, asam metil homoanisat, molludistin serta asam ursolat. Salah satu kandungan flavonoidnya adalah apigenin yang merupakan golongan flavon dan dapat digunakan sebagai antioksidan (Erviana *et al.*, 2016).

Ocimum citriodorum bagian daunnya mengandung jumlah senyawa fenolik total dan flavonoid lebih tinggi dibandingkan dengan bagian tumbuhan lainnya dan seiring tingginya kandungan flavonoid dan minyak esensial pada kemangi maka tinggi juga aktivitas antioksidannya (Tahira *et al.*, 2013). Aroma lemon pada daun *O. citriodorum* didapatkan dari kandungan sitral yang merupakan kandungan senyawa volatil terbanyak di dalam kemangi dan paling banyak ditemukan pada bagian bunga dan jumlahnya mencapai puncak saat tahap berbunga dan tahap pasca berbunga (Al-Kateb dan Mottram, 2014).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Jakovljević, Topuzović dan Stanković (2019), ditemukan bahwa kandungan metabolit sekunder dari *Ocimum spp* dipengaruhi oleh perawatan dan nutrisi yang diberikan saat pemeliharaan tumbuhan dimana saat *Ocimum spp* dibudidayakan dalam keadaan yang terkontrol dan jumlah mineral yang diberikan dalam konsentrasi yang sesuai akan meningkatkan produksi dari kandungan fenoliknya, terutama asam rosmarinik dan *caffeic acid* dengan aktivitas antioksidan yang signifikan.

2.8.3 Manfaat Kemangi

Ocimum spp. memiliki berbagai macam manfaat yaitu dapat berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba, repellen, larvasida, hepatoprotektif, antiinflamasi, analgesik, imunomodulator, antistress dan lain sebagainya (Ikhlas, 2013). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ervina *et al* (2016), ekstrak etanol *O. basilicum* memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC₅₀ sebesar 52,68 µg/mL. Aktivitas antioksidan ini diperoleh dari kandungan senyawa non-fenolik dari minyak atsiri maupun senyawa fenoliknya. Senyawa fenolik yang berperan adalah asam kafeat dan asam rosmarin, dimana asam rosmarin memiliki sifat yang sinergis dengan α -tokoferol yaitu mampu menangkap radikal bebas (Zahra dan Iskandar, 2017).

Secara empiris, di daerah Jawa dan Sumatera, kemangi banyak dikonsumsi sebagai lalap karena adanya aroma yang khas sehingga dapat menambah nafsu makan (Zahra dan Iskandar, 2017). rasa dan aroma lemon yang dimilikinya, *O. citriodorum* dapat digunakan sebagai sumber rasa citrus dan sebagai tumbuhan alternatif untuk keperluan kuliner dan perasa makanan lemon (Al-Kateb dan Mottram, 2014). Penggunaan daun *O. citriodorum* sebagai bahan makanan bermanfaat bagi kesehatan karena kandungan fenol dan flavonoidnya yang memiliki aktivitas anti jamur, anti inflamasi, anti mikroba dan antioksidan (Tahira *et al.*, 2013).

Efek antiinflamasi daun kemangi telah dibuktikan dalam penelitian Maimun *et al.* (2009) (dalam Saputri dan Zahara, 2016) dimana ekstrak etanol daun kemangi mampu menurunkan jumlah sel mononuklear pada tikus yang diinduksi karagenan. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Saputri dan Zahara (2016) dalam

menguji efek antiinflamasi oleh minyak atsiri daun kemangi menunjukkan bahwa efek antiinflamasi didapatkan pada dosis 80 mg/200 grBB dan 160 mg/200 grBB dan penghambatan terbesar diperoleh pada dosis 160 mg/200 grBB.

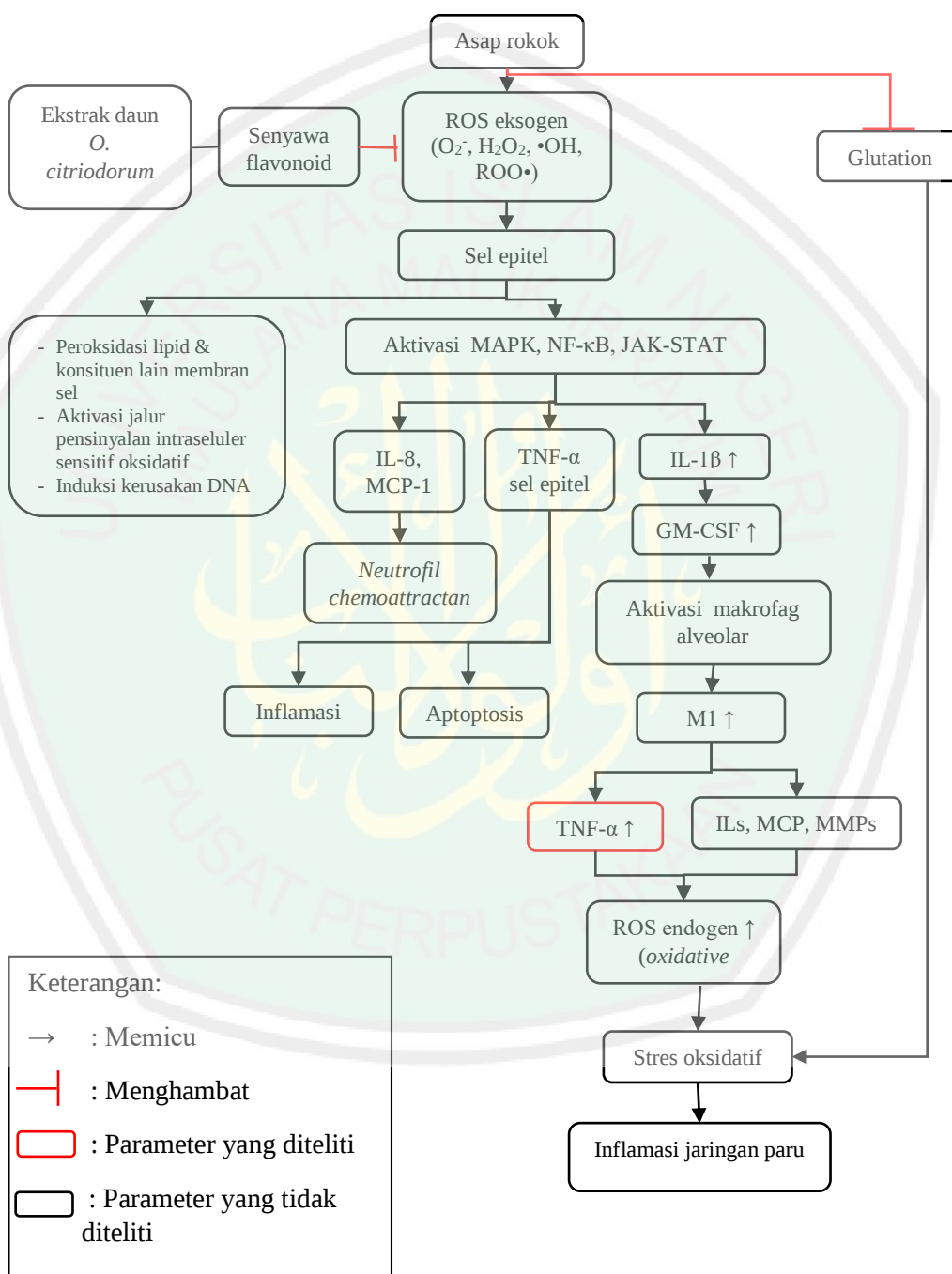
Efek antiinflamasi ekstrak alkoholik daun kemangi juga telah diteliti oleh Al-Ghurabi (2014), dimana efek antiinflamasi daun kemangi pada tikus yang diinjeksi formalin dicapai pada pemberian dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB dimana efek maksimal didapatkan pada dosis 100 mg/kgBB.



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Asap rokok yang masuk ke dalam saluran pernafasan terdiri dari kurang lebih 4000 macam zat kimia yang menjadi sumber ROS eksogen di dalam tubuh manusia. Asap rokok juga menurunkan produksi dari glutathione sebagai antioksidan endogen di dalam saluran pernafasan. ROS pada sel epitel pernapasan dapat menginduksi peroksidasi lipid dan konstituen membran sel lainnya, aktivasi jalur pensinyalan intraseluler sensitif oksidatif dan menginduksi kerusakan DNA.

ROS pada sel epitel juga mengaktifkan kaskade intraseluler untuk memproduksi gen sitokin inflamasi seperti TNF- α , IL-8, MCP-1 (*monocytes chemoattractant protein-1*), IL-1 β dan beberapa molekul adhesi sel. Peningkatan produksi dari IL-8 dan MCP-1 yang berfungsi sebagai *neutrophil chemoattractant* menyebabkan akumulasi neutrofil dalam saluran pernapasan. Peningkatan TNF- α menyebabkan inflamasi dan merupakan sitokin proapoptosis. Peningkatan IL-1 β menyebabkan peningkatan GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) yang memicu produksi neutrofil dari sumsum tulang dan menyebabkan aktivasi makrofag alveolar.

Aktivasi makrofag M1 menginduksi ekspresi gen dan sekresi mediator proinflamasi seperti TNF- α , golongan *interleukin*, MCP dan *metalloproteinase* (MMP). Peningkatan jumlah sitokin dan neutrofil menyebabkan peningkatan dari *oxidative burst* yang meningkatkan produksi dari jumlah ROS terutama superoksida dan hidrogen peroksida.

Penurunan glutathione dan peningkatan jumlah ROS pada saluran pernapasan menyebabkan ketidakseimbangan jumlah ROS dan jumlah antioksidan endogen. Kondisi ini dinamakan stres oksidatif yang mana berlangsung terus menerus dan

memperparah inflamasi di dalam jaringan paru sehingga terjadi inflamasi kronis jaringan paru.

Kemangi (*O. citriodorum*) diketahui mengandung senyawa fenolik yang dapat berperan sebagai antioksidan endogen dengan cara mendonorkan atom hidrogennya kepada molekul radikal bebas sehingga molekul radikal bebas menjadi lebih stabil. Selain itu salah satu senyawa fenolik yaitu flavonoid diketahui mampu berfungsi sebagai antiinflamasi karena flavonoid mampu menghambat terbentuknya sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6 dan IL-1 β . Pemberian ekstrak daun kemangi diharapkan mampu menghambat pembentukan ROS sehingga mampu menghambat terjadinya sintesis mediator inflamasi dan proses stress oksidatif. Apabila sintesis mediator inflamasi dihambat maka produksi TNF- α akan menurun sehingga diharapkan dapat mencegah terjadinya proses inflamasi pada paru-paru.

3.2 Hipotesis

H0 = Pemberian ekstrak daun kemangi tidak dapat menurunkan kadar TNF- α tikus setelah paparan asap rokok

H1 = Pemberian ekstrak daun kemangi dapat menurunkan kadar TNF- α tikus setelah paparan asap rokok

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan metode *post test only control group design* dimana percobaan yang dilakukan dengan metode ini bertujuan untuk mengetahui hasil dari perlakuan tertentu.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

4.2.1 Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian terdiri atas beberapa tahapan meliputi pembuatan ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi FKIK UIN Maliki Malang dan Laboratorium Fakultas Sains dan Teknik UIN Maliki Malang. Tahapan pemeliharaan, perlakuan hewan uji dan pembedahan serta persiapan organ dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba FKIK UIN Maliki Malang. Pembuatan preparat imunohistokimia organ paru dan pengukuran imunohistokimia TNF- α dilakukan di Laboratorium Ilmu Faal FK Universitas Brawijaya.

4.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2019 hingga bulan April 2020.

4.3 Populasi Penelitian

Tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur *Wistar* berumur 1,5-2 bulan dengan berat badan 150-290 gram yang diperoleh dari peternak hewan coba kabupaten Malang “Wistar Farm Purnomo”.

4.4 Sampel Penelitian

Besar sampel dalam penelitian ini dihitung dengan metode rancangan acak lengkap dapat menggunakan rumus Federer.

Rumus Federer :

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

Keterangan:

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah pengulangan atau jumlah sampel tiap kelompok

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

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

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Dari perhitungan rumus Federer didapatkan jumlah sampel yang dibutuhkan adalah 4 tikus untuk setiap kelompok. Setelah itu dilakukan koreksi pada subjek penelitian sebagai antisipasi apabila terdapat hewan coba yang mati maka dilakukan perhitungan faktor koreksi dengan rumus

$$N = n/1-f$$

Keterangan:

N = besar sampel koreksi

n = besar sampel awal

f = perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10%

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

$$N = n/1-f$$

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

$$N = 4/0,9$$

$$N = 4,44$$

Jadi berdasarkan rumus di atas, jumlah sampel yang sudah dikoreksi adalah 4,44 yang dibulatkan menjadi 5 sampel per kelompok percobaan sehingga total subyek penelitian yang terbagi dalam 6 kelompok dalam penelitian ini adalah 30 ekor tikus.

Hewan coba dalam penelitian ini dibagi menjadi enam kelompok perlakuan berbeda, yaitu:

1. Kelompok 1 (normal): tikus jantan sehat yang tidak diinduksi asap rokok dan tidak diberi ekstrak daun kemangi
2. Kelompok 2 (kontrol negatif): tikus jantan yang diinduksi asap rokok dan tidak diberi ekstrak daun kemangi
3. Kelompok 3 (kontrol positif): tikus jantan yang diinduksi asap rokok dan diberi terapi vitamin E 1,44 mg/hari
4. Kelompok 4 (kelompok perlakuan satu): tikus jantan yang diinduksi asap rokok dan diberi terapi ekstrak daun kemangi dengan dosis 50 mg/kgBB

5. Kelompok 5 (kelompok perlakuan dua): tikus jantan yang diinduksi asap rokok dan diberi terapi ekstrak daun kemangi dengan dosis 100 mg/kgBB
6. Kelompok 6 (kelompok perlakuan tiga): tikus jantan yang diinduksi asap rokok dan diberi terapi ekstrak daun kemangi dengan dosis 200 mg/kgBB

4.4.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus wistar putih
- b. Berjenis kelamin jantan
- c. Sehat
- d. Berat badan sekitar 150-200 gram
- e. Berusia sekitar 6-8 minggu
- f. Tingkah laku dan aktivitas normal
- g. Tidak ada kelainan anatomi yang nampak
- h. Tidak tampak rambut kusam, rontok atau botak, dan bergerak secara aktif

4.4.2 Kriteria Eksklusi

- a. Sakit (rambut kusam, rontok dan botak, keluar eksudat yang tidak normal dari mata, mulut anus dan genital serta bergerak pasif)
- b. Terdapat penurunan berat badan >10% setelah masa adaptasi (satu minggu) di laboratorium
- c. Mati selama masa perlakuan

4.5 Jenis Variabel

Ada 3 macam variabel dalam penelitian ini yaitu:

a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dengan dosis bertingkat 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar TNF- α tikus

c. Variabel Terkontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini, antara lain: tikus yang digunakan merupakan jenis yang sama dengan jenis kelamin jantan, usia homogen yaitu 6-8 minggu, berat badan 150-200 gram, pakan yang diberikan seragam yaitu pakan standar BR1, pemberian minum secara *ad libitum* pemberian rokok dengan jenis dan merk yang sama, serta ukuran dan kondisi lingkungan kandang.

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Alat Penelitian

4.6.1.1 Alat dalam Pembuatan Ekstrak

1. Kertas saring
2. *Rotary evaporator*
3. Aluminium foil
4. Gelas beker
5. Erlenmeyer

6. Alat pengaduk
7. *Ultrasonic cleaning bath*
8. Alat pengering (oven)

4.6.1.2 Alat Selama Perlakuan

1. Kandang tikus
2. Tutup kandang yang terbuat dari kawat
3. Tempat makan dan minum tikus
4. Neraca elektronik
5. Sonde lambung tikus
6. Spuit 10 cc
7. *Smoking chamber*
8. *Smoking pump*
9. Alat bedah minor
10. *Handscoon* dan masker

4.6.1.3 Alat untuk Pemeriksaan Imunohistokimia

1. Pensil paraffin
2. *Waterbath*
3. Tempat pewarnaan dan cucian
4. Mikropipet
5. Mikrotip
6. Kertas saring
7. *Freezer*

8. *Timer*
9. Mikroskop
10. Kaca objek dan penutup

4.6.2 Bahan Penelitian

4.6.2.1 Bahan dalam Pembuatan Ekstrak

1. Daun kemangi (*O. citriodorum*)
2. Etanol 70%

4.6.2.2 Bahan selama Perlakuan

1. Pakan tikus BR1
2. Air minum tikus
3. Sekam untuk kandang tikus
4. Rokok kretek
5. Ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*)
6. Vitamin E (Natur-E 100 IU)

4.6.2.3 Bahan Uji TNF- α

1. Larutan *cell staining buffer / phosphate buffer saline* (PBS)
2. *Antibody cell surface molecule*
3. Antibodi primer: *TNF- α mouse monoclonal antibody* (Santa Cruz Biotechnology)
4. *Kit universal streptavidin-biotin*
5. Organ paru tikus

6. Aquades

7. Alkohol bertingkat

4.7 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Ekstrak daun kemangi (<i>O. citriodorum</i>)	Simplisia daun <i>O. citriodorum</i> didapatkan dari Materia Medica. Daun kemangi diekstraksi dengan metode menggunakan pelarut etanol 70% sampai didapatkan ekstrak etanol kentalnya	Sonde lambung	Konsentrasi ekstrak daun kemangi yang diberikan sebanyak 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB	Numerik
Paparan asap rokok	Paparan asap rokok berasal dari rokok yang dibakar lalu disambungkan ke dalam <i>smoking chamber</i> yang terbuat dari kotak plastik dan dipompa oleh <i>smoking pump</i> yang terbuat dari spuit. Paparan asap rokok diberikan sebanyak tiga batang dalam sehari selama satu jam dalam jangka waktu 14 hari.	Batang rokok	Kelompok kontrol negatif, positif dan kelompok perlakuan mendapatkan paparan asap rokok tiga batang sehari selama 1 jam/hari	Numerik
TNF- α	TNF- α yang diukur adalah ekspresi TNF- α oleh sel pada organ paru-paru yang ditunjukkan dengan warna kecoklatan saat diamati di mikroskop	Metode imunohistokimia	Presentase jumlah sel yang mengekspresikan TNF- α	Numerik

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Persiapan dan Pengelompokan Hewan Coba

Hewan coba yang akan digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar berusia 6-8 minggu dengan berat badan 150-290 gram dalam keadaan sehat. Sebelum dilakukan percobaan, hewan coba diadaptasikan terlebih dahulu selama tujuh hari dengan cara ditempatkan pada sebuah kandang kelompok yang terbuat dari plastik dan diberi pakan berupa BR1 berbentuk pelet dan air

minum secara *ad libitum*. Komposisi pakan BR1 adalah sebagai berikut: kadar air (13%), protein (21,5-23,8%), lemak (5,0%), serat (5,0%), abu (7,0%), kalsium (0,9%), fosfor (0,6%) dan energi metabolis (3025-3125 kkal/kg).

Pada hari ke tujuh, hewan coba dibagi menjadi enam kelompok. Kandang hewan coba diisi 2-3 tikus tiap kandangnya dan diletakkan berdekatan dengan kelompok perlakuan yang sama. Kandang tikus diletakkan pada lokasi yang bebas dari kebisingan dan polutan dengan suhu ruang 20-24°C dan siklus gelap terang selama 12 jam. Kandang dibersihkan dan diganti alas kandang setiap 3 hari sekali.

4.8.2 Ekstraksi Daun Kemangi (*O. citriodorum*)

Daun kemangi (*O. citriodorum*) didapatkan dari pedagang pasar lokal Karangploso, Kabupaten Malang. Bagian tanaman dipisahkan antara batang, daun, bunga dan akar. Proses pembuatan ekstrak daun kemangi dilakukan dengan metode *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE). Daun kemangi dicuci dengan air mengalir lalu dikeringkan dengan penganginan alami. Herba yang sudah kering lalu dijadikan simplisia dan disortasi kembali terhadap kotoran-kotoran yang tertinggal pada saat sortasi basah dan terhadap bagian yang rusak selama proses pengeringan.

Setelah itu, simplisia dan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10 dimasukkan ke dalam gelas beker hingga simplisia daun tersebut terendam. Gelas beker tersebut kemudian dimasukkan ke dalam *ultrasonic cleaning bath* yang sudah diisi air dan dilakukan proses paparan ultrasonik selama 3x2 menit. Kemudian dilakukan penyaringan hingga mendapatkan ekstrak etanol cair. Hasil ekstrak etanol cair yang diperoleh kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak etanol kental. Kemudian ekstrak yang diperoleh dilakukan

pengeringan dengan menggunakan oven untuk mendapatkan ekstrak kering. Kemudian ekstrak disimpan dalam wadah yang tertutup rapat dan terhindar dari sinar matahari.

4.8.3 Dasar Penentuan Dosis Ekstrak Daun Kemangi (*O. citriodorum*)

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Al-Ghurabi (2014), ekstrak alkohol daun kemangi dapat memberikan efek antiinflamasi pada dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB dimana efek maksimalnya pada dosis 100 mg/kgBB. Untuk menambah variasi, peneliti menambah satu dosis yaitu 200 mg/kgBB sehingga pemberian dosis terbagi menjadi tiga yaitu 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB. Pemberian ekstrak daun kemangi dilakukan dengan cara per-oral menggunakan sonde lambung dan dilakukan satu kali sehari selama 14 hari.

4.8.4 Pemaparan Asap Rokok

Pemaparan asap rokok dilakukan dengan cara menyambungkan rokok yang sudah menyala ke *smoking chamber* melalui *smoking pump* yang sudah tersambung ke *smoking chamber*. Hewan coba yang akan dipaparkan asap rokok terlebih dahulu diletakkan ke dalam *smoking chamber* sesuai dengan kelompoknya sehingga hewan coba dapat secara langsung terkena paparan asap rokok ketika rokok mulai dibakar dan dipompa. Dosis asap rokok yang diberikan adalah sebanyak tiga batang rokok perhari yang dibakar selama 1 jam dalam jangka waktu 14 hari.

4.8.5 Pemberian Ekstrak Daun Kemangi

Ekstrak etanol daun kemangi diberikan menggunakan sonde lambung setelah paparan asap rokok sebanyak 1x sehari. Sebelumnya, ekstrak diencerkan menggunakan larutan Na CMC 0,5% dengan perhitungan:

a. Perhitungan konsentrasi sediaan yang dibuat

Konsentrasi = % berat/volume

Rute pemberian obat = oral → persen pemberian obat 1% (ml/100 gramBB)

- Dosis I (50 mg/kgBB)

Rumus konsentrasi sediaan:

= Dosis (mg/kgBB) : persen pemberian obat (1 ml/100 gramBB)

= (50 mg/kgBB) x (100 gramBB/1 ml)

= (50 mg/1000 gramBB) x (100 gramBB/1 ml)

= 5 mg/ml

Dalam satuan persen (gram/100 ml) = 5 mg/ml x 100 mg/100 ml

= 500 mg/100 ml

= 0,5 gram/100 ml = 0,5%

- Dosis II (100 mg/kgBB)

Rumus konsentrasi sediaan:

= Dosis (mg/kgBB) : persen pemberian obat (1 ml/100 gramBB)

= (100 mg/kgBB) x (100 gramBB/1 ml)

= (100 mg/1000 gramBB) x (100 gramBB/1 ml)

= 10 mg/ml

Dalam satuan persen (gram/100 ml) = 10 mg/ml x 100 mg/100 ml

= 1000 mg/100 ml

$$= 1 \text{ gram}/100 \text{ ml} = 1 \%$$

- **Dosis III (200 mg/kgBB)**

Rumus konsentrasi sediaan:

$$= \text{Dosis (mg/kgBB)} : \text{persen pemberian obat (1 ml/100 gramBB)}$$

$$= (200 \text{ mg/kgBB}) \times (100 \text{ gramBB}/1 \text{ ml})$$

$$= (200 \text{ mg}/1000 \text{ gramBB}) \times (100 \text{ gramBB}/1 \text{ ml})$$

$$= 20 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Dalam satuan persen (gram}/100 \text{ ml)} = 20 \text{ mg/ml} \times 100 \text{ mg}/100 \text{ ml}$$

$$= 2000 \text{ mg}/100 \text{ ml}$$

$$= 2 \text{ gram}/100 \text{ ml} = 2 \%$$

b. Perhitungan dosis ekstrak daun kemangi yang ditimbang

- **Dosis I (50 mg/kgBB)**

$$\text{Rumus} = \text{dosis} \times \text{total berat tikus kelompok perlakuan 1}$$

$$= 50 \text{ mg/kgBB} \times (200 \text{ gram} \times 5)$$

$$= 50 \text{ mg/kgBB} \times 1 \text{ kg}$$

$$= 50 \text{ mg untuk 5 tikus kelompok perlakuan 1 selama 1 hari}$$

$$\text{Untuk 14 hari} = 50 \text{ mg} \times 14 \text{ hari} = \underline{700 \text{ mg}}$$

- **Dosis II (100 mg/kgBB)**

$$\text{Rumus} = \text{dosis} \times \text{total berat tikus kelompok perlakuan 2}$$

$$= 100 \text{ mg/kgBB} \times (200 \text{ gram} \times 5)$$

$$= 100 \text{ mg/kgBB} \times 1 \text{ kg}$$

$$= 100 \text{ mg untuk 5 tikus kelompok perlakuan 2 selama 1 hari}$$

$$\text{Untuk 14 hari} = 100 \text{ mg} \times 14 \text{ hari} = \underline{1400 \text{ mg}}$$

- **Dosis III (200 mg/kgBB)**

Rumus = dosis x total berat tikus kelompok perlakuan 3

$$= 200 \text{ mg/kgBB} \times (200 \text{ gram} \times 5)$$

$$= 200 \text{ mg/kgBB} \times 1\text{kg}$$

$$= 200 \text{ mg untuk 5 tikus kelompok perlakuan 3 selama 1 hari}$$

$$\text{Untuk 14 hari} = 200 \text{ mg} \times 14 \text{ hari} = \underline{2800 \text{ mg}}$$

Jumlah ekstrak daun kemangi yang dibutuhkan selama 14 hari = 700

$$\text{mg} + 1400 \text{ mg} + 2800 \text{ mg} = 4900 \text{ mg} = \underline{4,9 \text{ gram}}$$

c. Perhitungan volume sediaan ekstrak yang dibuat

- **Dosis I (50 mg/kgBB)**

Rumus = berat ekstrak (1 hari) : konsentrasi (%)

$$= 50 \text{ mg} : 0,5\%$$

$$= 50 \text{ mg} : 0,5 \text{ gram}/100 \text{ ml}$$

$$= 50 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}/500 \text{ mg}$$

$$= \underline{10 \text{ ml}} \text{ untuk 1 hari}$$

$$= \text{atau } 30 \text{ ml untuk 3 hari}$$

Keterangan : 50 mg ekstrak ditambahkan pengencer Na CMC 0,5%

hingga larutan mencapai 10 ml

- **Dosis II (100 mg/kgBB)**

Rumus = berat ekstrak (1 hari) : konsentrasi (%)

$$= 100 \text{ mg} : 1\%$$

$$= 100 \text{ mg} : 1 \text{ gram}/100 \text{ ml}$$

$$= 100 \text{ mg} \times 100 \text{ ml}/1000 \text{ mg}$$

= **10 ml** untuk 1 hari

= atau 30 ml untuk 3 hari

Keterangan : 100 mg ekstrak ditambahkan pengencer Na CMC 0,5%
hingga larutan mencapai 10 ml

- **Dosis III (200 mg/kgBB)**

Rumus = berat ekstrak (1 hari) : konsentrasi (%)

= 200 mg : 2%

= 200 mg : 2 gram/100 ml

= 200 mg x 100 ml/2000 mg

= **10 ml** untuk 1 hari

= atau 30 ml untuk 3 hari

Keterangan : 200 mg ekstrak ditambahkan pengencer Na CMC 0,5%
hingga larutan mencapai 10 ml

d. Perhitungan volume yang diberikan kepada tiap tikus

Rumus = berat tikus (gram) x persen pemberian oral (1%)

= 200 gram x 1 ml/100 gram

= **2 ml / tikus**

Jadi pemberian perlakuan ekstrak daun kemangi tiap tikus adalah 2 ml
per oral menggunakan sonde lambung.

4.8.6 Pemberian Vitamin E

Vitamin E diberikan kepada kelompok kontrol positif setelah dipapar asap rokok dengan dosis 1,44 mg/hari. Dosis ini didapatkan dari hasil perhitungan sebagai berikut:

Dosis vitamin E murni IU = 0,666 mg

Dosis pencegahan untuk manusia = 120 IU/ hari = 80 mg/ hari

Dosis konversi untuk tikus = $0,018 \times 80 \text{ mg} = 1,44 \text{ mg/ hari}$ (Iswara, 2009).

Vitamin E dilarutkan terlebih dahulu menggunakan Na CMC 0,5% sebelum diberikan kepada tikus menggunakan sonde lambung.

4.8.7 Terminasi Hewan Coba

Pada hari ke-21 (terhitung sejak awal tikus diadaptasikan), tikus dipuasakan selama 16 jam setelah dilakukan perlakuan terakhir sebelum dilakukan terminasi. Pada hari ke-22, tikus diterminasi dengan cara dislokasi leher lalu dilanjutkan dengan pembedahan.

4.8.8 Pembedahan dan Preparasi Organ Paru Hewan Coba

Setelah dilakukan terminasi, hewan coba diletakkan pada meja bedah dengan posisi rebah dorsal dan keempat anggota gerak difiksasi. Sebelum dilakukan pembedahan, dipersiapkan alat bedah yang akan digunakan terlebih dahulu kemudian dilakukan penyayatan pada bagian kiri abdomen tikus. Setelah itu dicari organ paru-paru yang terletak pada rongga thorax. Kemudian paru-paru diangkat menggunakan pinset lalu dibilas menggunakan NaCl 0,9% sampai bersih. Setelah

itu paru-paru tikus dipindahkan ke dalam pot berisi formalin buffer 10% untuk kemudian dibuat slide imunohistokimia.

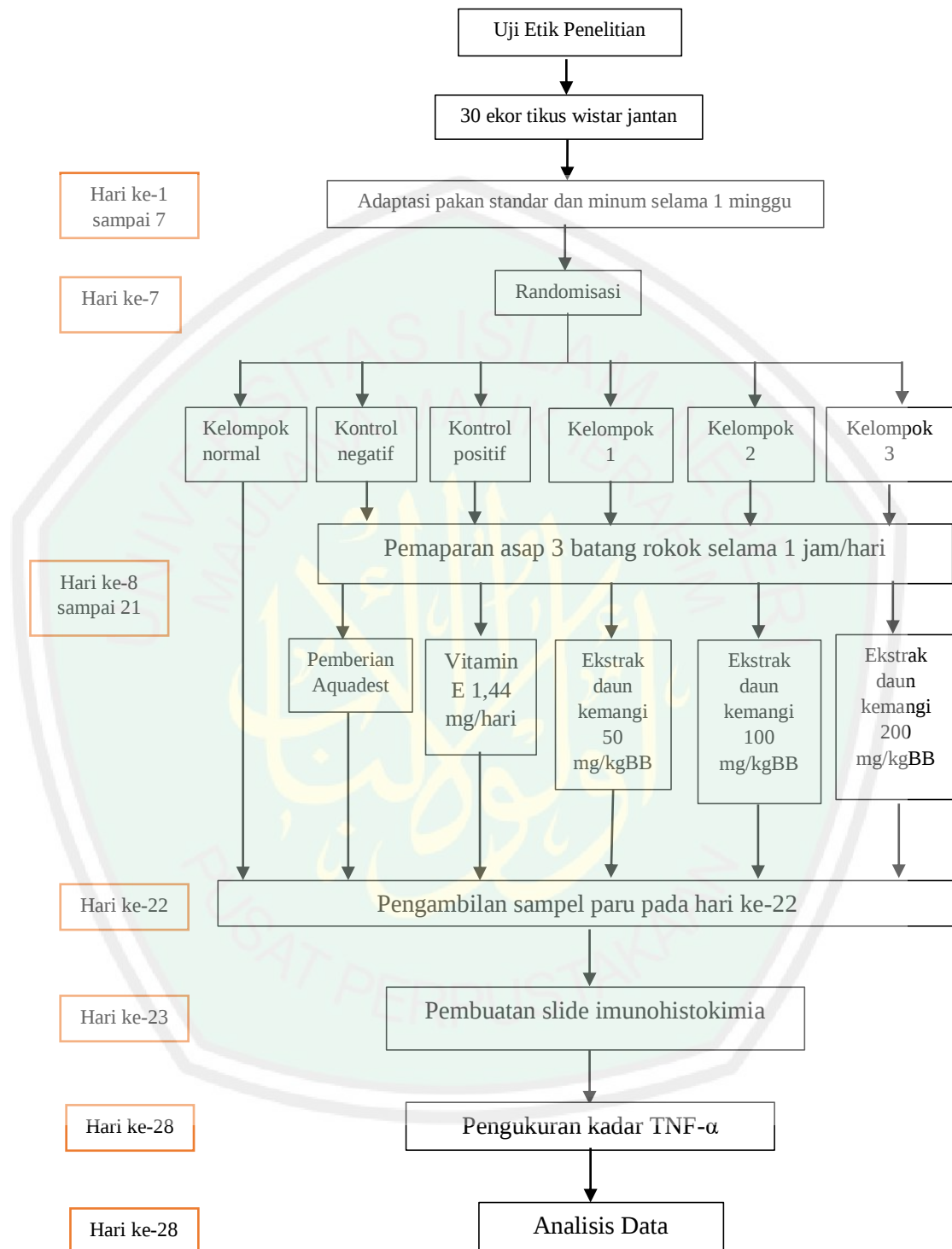
4.8.9 Pengamatan Imunohistokimia TNF- α

Pengecatan imunohistokimia menggunakan metode streptavidin dan biotin yang diadopsi dari Hunt dan Burnett (2000). Jaringan dalam embedding paraffin dipotong dengan ketebalan 4-5 mikron. Slide dideparafinisasi dalam xylol dua kali masing-masing selama lima menit dan selanjutnya dimasukkan dalam etanol absolut dua kali selama dua menit, etanol 96% dua kali selama dua menit dan etanol 70% selama dua menit dan terakhir dicuci dengan aquadest selama 2-5 menit. Pewarnaan dimulai dengan jaringan diinkubasi pada gelas objek dengan PBS yang selanjutnya ditetesi dengan larutan 3% H₂O₂ selama 30 menit. Setelah itu, ditetesi dengan PBS sebanyak tiga kali masing-masing selama lima menit. Lalu, inkubasi dilanjutkan selama 30 menit pada suhu ruang dalam larutan blocking (*blocking solution*). Larutan blocking terbuat dari susu skim yang dilarutkan ke dalam PBS dengan perbandingan 0,1 gram susu skim dalam 100 ml PBS. Larutan blocking diberikan dengan mikropipet ditetaskan tepat di atas jaringan sebanyak 100-400 μ l. Selanjutnya ditetesi dengan PBS sebanyak tiga kali selama masing-masing lima menit. Tahapan berikutnya adalah setiap sayatan diinkubasi dengan antibodi primer monoklonal terhadap TNF- α (*Santa Cruz Biotechnology*) selama satu jam, kemudian cuci dua kali dengan aquadest dan diinkubasi dengan antibodi sekunder yang dilabel biotin selama 30 menit dan dicuci dua kali dengan PBS. Preparat ditetesi dengan streptavidin peroksidase selama 15-30 menit dan dicuci dua kali dengan PBS dan kemudian dimasukkan ke dalam larutan substrat selama 5-10

menit. Pewarnaan counterstain, slide dimasukkan dalam hematoksin 30 detik pada suhu kamar dan dicuci tiga kali dengan akuades. Setelah itu, preparat dikeringkan dan diberikan entelan sebagai perekat lalu ditutup dengan kaca penutup. Preparat yang selesai diwarnai kemudian diamati di bawah mikroskop cahaya Olympus CX21 dengan perbesaran 400x dan didokumentasikan dengan kamera mikroskop OptiLab.



4.9 Alur Penelitian



4.10 Analisis Data

Pengamatan ekspresi TNF- α dilakukan secara kuantitatif dengan cara menghitung presentase jumlah sel penghasil TNF- α menggunakan software *Immunoratio* yang dilakukan pada perbesaran 400x sebanyak lima lapang pandang yang berbeda secara acak pada setiap preparat. *Immunoratio* adalah suatu metode analisis yang digunakan untuk pewarnaan imunohistokimia dimana melalui analisis ini dapat diketahui ekspresi marker tertentu yang dapat diamati melalui warna coklat yang terlihat saat dilakukan identifikasi preparat imunohistokimia (Fakhirah, 2018). *Immunoratio* saat ini merupakan software yang dapat digunakan secara *offline* sebagai *plugin* dari perangkat lunak pengolahan citra *ImageJ* (Ramadhani *et al.*, 2012).

Analisis *Immunoratio* didasarkan pada dekonvolusi warna untuk memisahkan *staining* dan *adaptive IsoData algorithm* untuk ambang batasnya. Analisis bisa dilakukan menggunakan gambar secara keseluruhan atau hanya pada area yang dikehendaki saja. *Immunoratio* dapat digunakan dengan masukan format gambar JPEG, JPEG2000, TIFF, BMP dan PNG (Tuominen *et al.*, 2010). Pada penelitian yang dilakukan oleh Ramadhani *et al.* (2012), menyatakan bahwa *Immunoratio* dapat digunakan untuk menghitung nilai indeks MIB-1 secara otomatis dengan baik.

Data hasil pemeriksaan ekspresi TNF- α diolah menggunakan program komputer *Statistical Program Service Solutin* (SPSS). Data yang didapatkan diuji normalitas dengan Saphiro Wilk lalu dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan uji Lavene. Data dinyatakan normal dan homogen jika $p > 0,05$. Jika

data terdistribusi normal dan homogen, dilakukan uji One-way ANOVA (*Analysis of Variance*) dan uji korelasi *Pearson Product Moment*.

Data yang terdistribusi normal yang telah dilakukan uji ANOVA jika menunjukkan terdapat perbedaan maka dapat dilakukan uji *Post Hoc LSD (Least Significance Different)* untuk data homogen. Apabila data tidak homogen maka menggunakan uji *Post Hoc Tamhane*. Namun jika data tidak terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. Hasil dinyatakan signifikan bermakna jika $p < 0,05$.

4.11. Etik Penelitian

Penelitian ini dilakukan setelah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan dari UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

BAB V

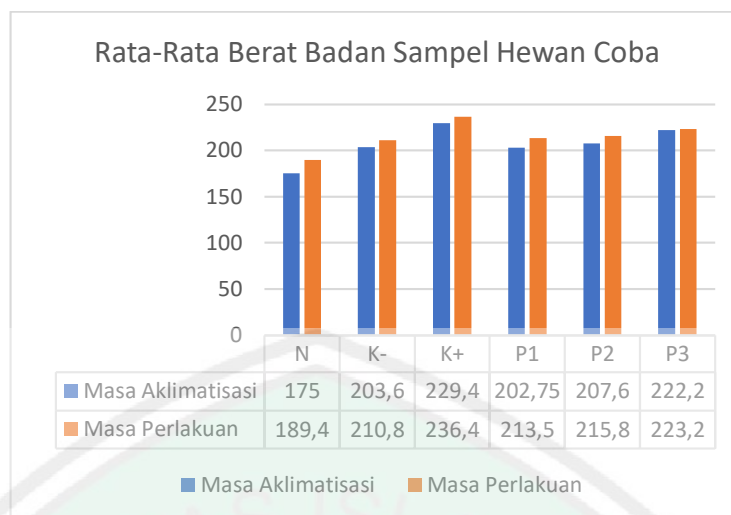
HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

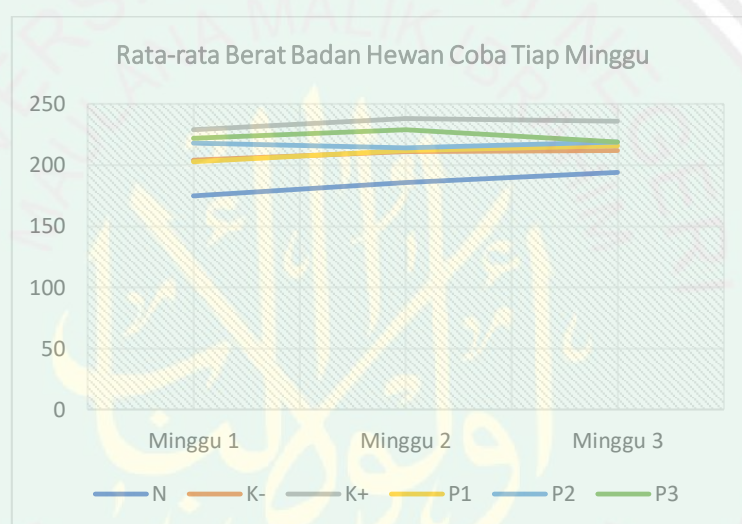
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan metode *post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap ekspresi TNF- α . Sampel yang digunakan sudah dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang terbagi dalam 6 kelompok, masing-masing terdiri dari 4 sampel tikus wistar. Uji yang digunakan untuk menjawab tujuan adalah *One Way ANOVA* dan *Post Hoc LSD* serta Korelasi *Pearson*. Namun terlebih dahulu dilakukan pengecekan asumsi normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* dan homogenitas ragam menggunakan *Levene's Test*. Data dikatakan berdistribusi normal dan memiliki ragam homogen jika $\text{sig} > 0,05$. Apabila data tidak normal maka uji *One Way ANOVA* diganti menggunakan uji alternatif *Kruskal Wallis* dan *Post Hoc Mann Whitney*.

5.1.1 Karakteristik Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan *strain* wistar yang berusia 1,5-2 bulan. Selama masa aklimatisasi hingga akhir perlakuan, hewan coba ditimbang berat badannya sebelum diberi perlakuan. Berikut rata-rata berat badan sampel hewan coba disajikan pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Grafik Rata-Rata Berat Badan Sampel Hewan Coba



Gambar 5.2 Grafik Rata-Rata Berat Badan Sampel Hewan Coba Tiap Minggu

Gambar 5.1 menunjukkan hasil perhitungan rata-rata berat badan seluruh sampel hewan coba mulai hari pertama diaklimatisasikan hingga hari ke-21 yaitu hari terakhir hewan coba diberi perlakuan. Data yang didapatkan dari grafik di atas menunjukkan bahwa terdapat kenaikan berat badan dari masa aklimatisasi ke masa perlakuan pada seluruh kelompok sampel hewan coba. Namun berat badan hewan coba juga pernah mengalami penurunan sesuai data di Lampiran 3. Pada grafik di atas dapat diperoleh informasi bahwa rata-rata berat badan tertinggi dimiliki oleh

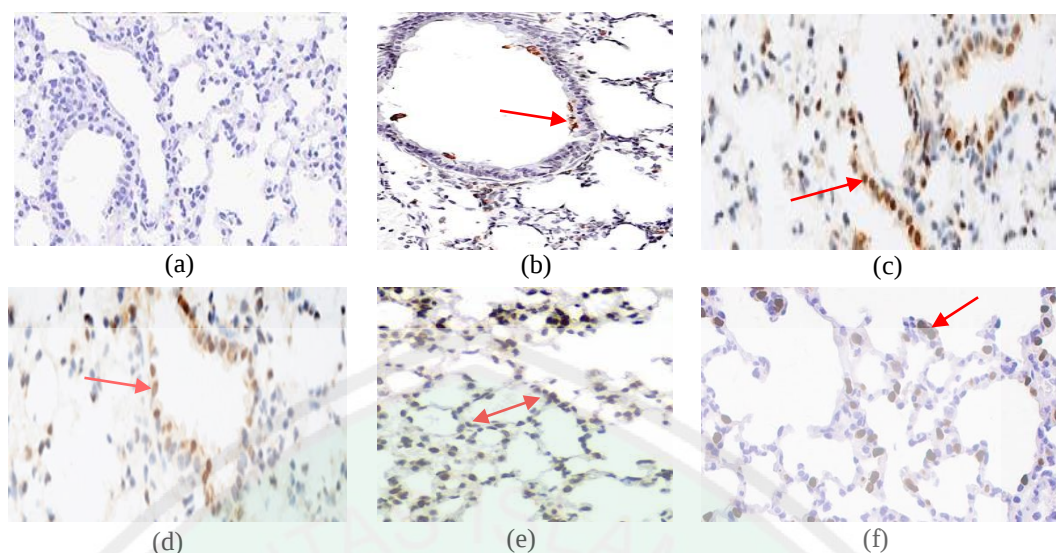
kelompok kontrol positif sedangkan rata-rata berat badan terendah dimiliki oleh kelompok normal.

Data yang ditampilkan pada Gambar 5.2 merupakan data rata-rata berat badan seluruh sampel hewan tiap minggu. Pada grafik tersebut menunjukkan bahwa pada transisi minggu pertama ke minggu kedua, terdapat peningkatan rata-rata berat badan hewan coba pada semua kelompok kecuali kelompok P2 yang mengalami penurunan. Pada transisi minggu kedua ke minggu ketiga, terdapat peningkatan rata-rata berat badan hewan coba pada kelompok normal, P1 dan P2 sedangkan terjadi penurunan rata-rata berat badan hewan coba pada kelompok K-, K+ dan P3 tetapi penurunan yang terjadi tidak lebih dari 10%.

5.1.2 Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok

5.1.2.1 Analisis Deskriptif Rata-Rata Ekspresi TNF- α pada Tikus Setelah Paparan Asap Rokok Berdasarkan Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*)

Metode imunohistokimia (IHK) adalah suatu proses identifikasi protein spesifik pada jaringan atau sel menggunakan metode pewarnaan yang menggunakan prinsip dasar imunologi yaitu ikatan antara antigen dan antibodi (Fakhirah, 2018; Permata dan Febrianto, 2019). Ekspresi TNF- α pada paru-paru tikus pada penelitian ini ditunjukkan dengan terwarnainya sel yang terekspresi dengan warna coklat yang ditunjukkan pada Gambar 5.2.



Gambar 5.3 Ekspresi TNF- α jaringan paru tikus dengan pewarnaan imunohistokimia (400x)
Keterangan: (a) kelompok normal; (b) kontrol positif; (c) kontrol negatif; (d) P1 (50 mg/kgBB); (e) P2 (100 mg/kgBB); (f) P3 (200 mg/kgBB). Panah merah menunjukkan ekspresi TNF- α .

Adanya warna kecoklatan ini merupakan visualisasi dari ikatan antigen-antibodi yang berada pada jaringan. Antibodi yang digunakan pada penelitian ini yaitu antibodi primer yang terikat dengan antigen pada jaringan dan antibodi sekunder berlabel biotin. Pemberian antibodi sekunder diikuti dengan penambahan enzim SA-HRP (*Strept-Avidin Horseradish Peroxidase*) dan substratnya berupa kromogen DAB (*3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride*). Kromogen DAB dapat memvisualisasikan warna coklat pada penggunaan penanda peroksidase dan kromogen ini memiliki ikatan yang sangat kuat dengan peroksida sehingga tidak akan mengalami perubahan warna dengan proses dehidrasi dan *clearing* (Fakhirah, 2018; Permata dan Febrianto, 2019).

Dilakukan pengamatan sebanyak 5 lapang pandang pada perbesaran 400x tiap slide preparat dan penghitungan sel yang mengekspresikan TNF- α dihitung menggunakan *Immunoratio Imaging Software*. Hasil dari hitung jumlah sel yang mengekspresikan TNF- α dapat dilihat sebagai berikut.

Tabel 5.1 Persentase Sel yang Mengekspresikan TNF- α pada Paru Tikus

Perlakuan	Tikus	%TNF- α
Kelompok Normal	1	20,68%
	2	25,25%
	3	25,56%
	4	21,77%
Kontrol Negatif	1	60,16%
	2	41,16%
	3	76,97%
	4	69,82%
Kontrol Positif	1	55%
	2	54,31%
	3	62,89%
	4	64,39%
Dosis 50 mg/kgBB	1	34,42%
	2	44,34%
	3	59,1%
	4	61,5%
Dosis 100 mg/kgBB	1	55,99%
	2	40,28%
	3	45,87%
	4	48,77%
Dosis 200 mg/kgBB	1	43,77%
	2	44,12%
	3	26,37%
	4	23,94%

Rata-rata dan standar deviasi ekspresi TNF- α pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel berikut ini :

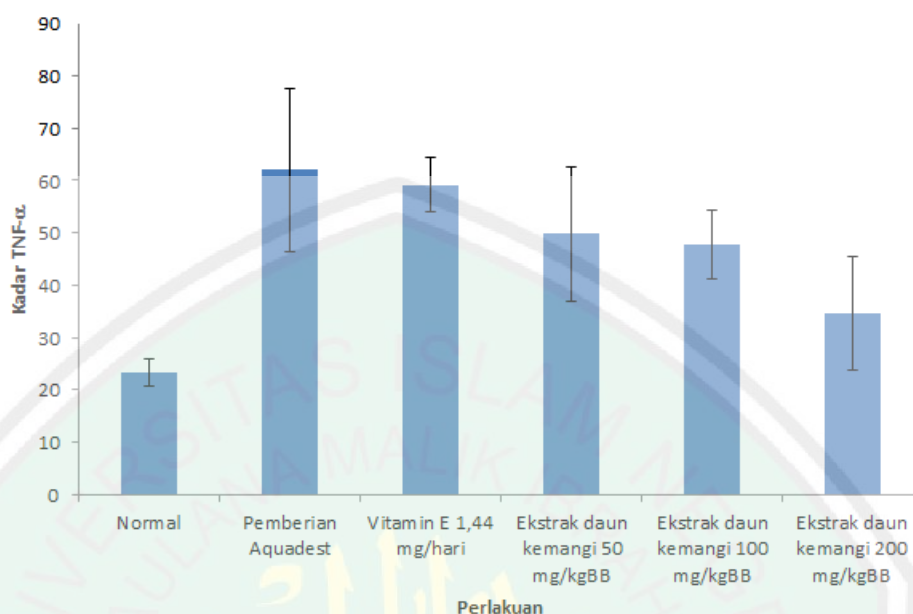
Tabel 5.2 Nilai Deskriptif TNF- α

No	Kelompok	Mean $\pm$ SD
1.	Normal	23,32 $\pm$ 2,46
2.	K-	62,03 $\pm$ 15,52
3.	K+	59,15 $\pm$ 5,23
4.	P1	49,84 $\pm$ 12,78
5.	P2	47,73 $\pm$ 6,54
6.	P3	34,55 $\pm$ 10,89

Ket :

Normal : diberi aquadest ; K- : dipapar asap rokok dan diberi aquadest; K+ : dipapar asap rokok dan diberi antioksidan berupa Vitamin E dosis 1,44 mg/hari ; P1 : dipapar asap rokok serta diberi ekstrak daun kemangi 50mg/kgBB; P2 : dipapar asap rokok serta diberi ekstrak daun kemangi 100mg/kgBB; P3 : dipapar asap rokok serta diberi ekstrak daun kemangi 200mg/kgBB.

Dari hasil nilai deksriptif ekspresi TNF- α pada tiap perlakuan dapat pula dibuat grafik seperti berikut:



Gambar 5.4 Ekspresi TNF- α tiap Perlakuan

Berdasarkan grafik tersebut diketahui bahwa ekspresi TNF- α paling rendah terdapat pada kelompok normal sedangkan paling tinggi terdapat pada kelompok kontrol negatif (pemberian aquadest) yang tidak jauh berbeda dengan kelompok kontrol positif (vitamin E). Pada pemberian ekstrak daun kemangi terdapat tren yang menurun mulai dari dosis 50mg/kgBB, 100mg/kgBB, dan 200mg/kgBB dengan penurunan tertinggi pada dosis 200mg/kgBB.

5.1.2.2 Uji Normalitas Perbedaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok

Sebagai syarat penggunaan uji parametrik yaitu *One Way ANOVA* maka data penelitian harus memenuhi asumsi normalitas. Hasil pengujian normalitas data dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5.3 Hasil Pengujian Normalitas Data

Kelompok	Sig <i>Shapiro Wilk</i>	Keterangan
Normal	0,236	Normal
K-	0,721	Normal
K+	0,162	Normal
P1	0,463	Normal
P2	0,967	Normal
P3	0,084	Normal

Ket :

Normal : diberi aquadest ; K- : dipapar asap rokok dan diberi aquadest; K+ : dipapar asap rokok dan diberi antioksidan berupa Vitamin E dosis 1,44 mg/hari ; P1 : dipapar asap rokok serta diberi ekstrak daun kemangi 50mg/kgBB; P2 : dipapar asap rokok serta diberi ekstrak daun kemangi 100mg/kgBB; P3 : dipapar asap rokok serta diberi ekstrak daun kemangi 200mg/kgBB

Dari hasil pengujian normalitas diketahui bahwa pada semua kelompok perlakuan diperoleh nilai sig *Shapiro Wilk* > 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa data memenuhi asumsi normalitas.

5.1.2.3 Uji Homogenitas Ragam Perbedaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok

Hasil pengujian homogenitas ragam data dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5.4 Hasil Pengujian Homogenitas Data

Variabel	Sig <i>Levene's Test</i>	Keterangan
Ekspresi TNF- α	0,024	Tidak Homogen

Dari hasil pengujian homogenitas ragam diketahui bahwa ragam data tidak homogen dengan nilai sig yang diperoleh sebesar 0,024 ($\text{sig} < 0,05$).

5.1.2.4 Uji Beda Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok

Uji *One Way ANOVA* digunakan untuk mengetahui perbedaan ekspresi TNF- α antar kelompok perlakuan secara keseluruhan dengan hipotesis berikut:

H0 : Tidak ada perbedaan signifikan antara pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok

H1 : Terdapat minimal satu pasang perlakuan pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok yang berbeda signifikan

Kriteria pengujian menyebutkan apabila probabilitas $\leq \text{level of significance}$ ($\alpha = 5\%$) maka H0 ditolak, sehingga dapat dinyatakan bahwa minimal ada satu pasang pemberian ekstrak ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok yang berbeda signifikan.

Hasil pengujian perbedaan pengaruh pemberian ekstrak ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok dapat dilihat melalui tabel berikut:

Tabel 5.5 Hasil One Way ANOVA Ekspresi TNF- α

Kelompok	Rata-rata	Sig ANOVA
Normal	23,32	0,000
K-	62,03	
K+	59,15	
P1	49,84	
P2	47,73	
P3	34,55	

Ket :

Normal : diberi aquadest ; K- : dipapar asap rokok dan diberi aquadest;
 K+ : dipapar asap rokok dan diberi antioksidan berupa Vitamin E dosis
 1,44 mg/hari ; P1 : dipapar asap rokok serta diberi ekstrak daun kemangi
 50mg/kgBB; P2 : dipapar asap rokok serta diberi ekstrak daun kemangi
 100mg/kgBB; P3 : dipapar asap rokok serta diberi ekstrak daun
 kemangi 200mg/kgBB

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat minimal ada satu pasang perlakuan pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok yang berbeda signifikan dengan sig = 0,000 (sig<0,05).

5.1.2.5 Uji Lanjutan Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok

Dari hasil uji *One Way ANOVA* diperoleh perbedaan / pengaruh yang signifikan, maka untuk mengetahui perbandingan antar kelompok maka akan dilanjutkan dengan Post Hoc Tamhane karena ragam data tidak homogen dengan hasil sebagai berikut:

Tabel 5.6 Hasil Uji *Post Hoc* Tamhane

Perlakuan		Sig	Keputusan
Normal	K+	0,194	Tidak ada perbedaan
	K-	0,003	Ada perbedaan
	P1	0,297	Tidak ada perbedaan
	P2	0,038	Ada perbedaan
	P3	0,874	Tidak ada perbedaan
K-	K+	1,000	Tidak ada perbedaan
	P1	0,992	Tidak ada perbedaan
	P2	0,932	Tidak ada perbedaan
	P3	0,377	Tidak ada perbedaan
K+	P1	0,986	Tidak ada perbedaan
	P2	0,423	Tidak ada perbedaan
	P3	0,179	Tidak ada perbedaan
P1	P2	1,000	Tidak ada perbedaan
	P3	0,852	Tidak ada perbedaan
P2	P3	0,771	Tidak ada perbedaan

Ket :

Normal : diberi aquadest ; K- : dipapar asap rokok dan diberi aquadest; K+ : dipapar asap rokok dan diberi antioksidan berupa Vitamin E dosis 1,44 mg/hari ; P1 : dipapar asap rokok serta diberi ekstrak daun kemangi 50mg/kgBB; P2 : dipapar asap rokok serta diberi ekstrak daun kemangi 100mg/kgBB; P3 : dipapar asap rokok serta diberi ekstrak daun kemangi 200mg/kgBB

Hasil uji Post Hoc Tamhane terhadap perbedaan kadar TNF- α menunjukkan bahwa :

- Pada perbandingan dengan kontrol normal, kelompok K- dan P2 menghasilkan nilai sig < 0,05 yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol normal dengan kedua kelompok tersebut.
- Pada perbandingan dengan kontrol negatif, tidak satupun kelompok yang berbeda nyata secara statistik (sig > 0,05).
- Pada perbandingan dengan kontrol positif juga memberikan hasil yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok ekstrak daun kemangi. Demikian pula antar ekstrak daun kemangi.

5.1.3 Analisis Hubungan Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok

Uji korelasi Pearson digunakan untuk mengetahui kekuatan hubungan pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok dengan hipotesis berikut ini:

H0: Tidak terdapat hubungan antara pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok

H1: Terdapat hubungan antara pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok

Kriteria pengujian menyebutkan apabila probabilitas $\leq$ level of significance (alpha = 5%) maka H0 ditolak, sehingga dapat dinyatakan bahwa terdapat hubungan antara pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok.

Hasil analisis hubungan antara pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok dapat dilihat dari hasil uji korelasi Pearson sebagai berikut:

Tabel 5.7 Hasil Korelasi Dosis Ekstrak Daun Kemangi dengan Ekspresi TNF- α

Variabel Bebas	Variabel Terikat	Sig	r
Dosis Ekstrak Kemangi	Ekspresi TNF- α	0,044	-0,588

Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa pengujian hubungan antara pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok menghasilkan probabilitas sebesar 0,044. Hal ini dapat diketahui bahwa probabilitas < alpha (5%), sehingga H0 ditolak. Oleh karena

itu dapat dinyatakan bahwa terdapat hubungan antara pemberian ekstrak kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap ekspresi TNF- α .

Koefisien korelasi sebesar -0,588 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang bernilai negatif dan kuat. Korelasi ini memiliki arti bahwa semakin tinggi dosis ekstrak daun kemangi maka ekspresi TNF- α akan semakin menurun. Begitu juga sebaliknya, semakin rendah dosis ekstrak daun kemangi maka ekspresi TNF- α akan semakin tinggi.

5.2 Pembahasan

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus putih galur wistar jantan yang berusia 6-8 minggu dengan berat badan 150-200 gram sebanyak 30 sampel yang terbagi dalam 6 kelompok perlakuan yang berbeda. Kelompok normal yaitu kelompok tikus sehat yang tidak diberikan paparan asap rokok dan diberi aquades. Kelompok kontrol negatif yaitu kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok kemudian tidak diberikan terapi apapun. Kelompok kontrol positif yaitu kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok dan diberi terapi vitamin E dengan dosis pencegahan sebesar 1,44 mg/hari dengan cara disonde. Kelompok perlakuan yaitu kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok dan diberi terapi ekstrak daun kemangi dengan cara disonde dengan dosis (1) 50 mg/kgBB/hari, (2) 100 mg/kgBB/hari, dan (3) 200 mg/kgBB/hari. Paparan asap rokok berasal dari 3 batang rokok kretek non-filter yang dipaparkan ke tikus tiap kelompok selama 1 jam/hari.

Seluruh hewan coba diaklimatisasikan selama 7 hari, kemudian diberi perlakuan pada hari ke-8 selama 14 hari. Pada hari ke-15, seluruh hewan coba dikorbankan dengan cara dislokasi leher dan dilakukan pembedahan mayor untuk

pengambilan organ paru. Organ paru yang didapatkan berjumlah 29 sampel (1 sampel masuk kriteria eksklusi saat perlakuan) kemudian dilakukan pembuatan slide imunohistokimia. Slide imunohistokimia yang telah dibuat dipilah hingga didapatkan 24 sampel dan dilakukan pengamatan ekspresi TNF- α dengan menggunakan program *Immunoratio*. Setelah itu dilakukan pengolahan serta pengujian data secara statistik.

Berdasarkan hasil pengujian statistik menggunakan analisis deskriptif, didapatkan hasil yang menunjukkan bahwa seluruh kelompok yang mendapatkan paparan asap rokok sebanyak 3 batang/hari selama 1 jam selama 14 hari mengalami peningkatan ekspresi TNF- α dibandingkan dengan kelompok normal yang tidak diberikan paparan asap rokok dan ekspresi TNF- α menurun seiring besarnya dosis ekstrak daun kemangi yang diberikan. Kemudian dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas didapatkan data seluruh kelompok berdistribusi normal ($p > 0,05$) namun tidak memiliki ragam homogen ($p < 0,05$). Kemudian dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan pengaruh tiap perlakuan pada masing-masing kelompok dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan uji korelasi *Pearson Product Moment*. Hasil dari uji *One Way ANOVA* adalah 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat minimal satu pasang kelompok perlakuan yang berbeda signifikan dari seluruh kelompok perlakuan. Pengujian dilanjutkan dengan uji post hoc Tamhane untuk mengetahui kelompok mana yang menunjukkan perbedaan pengaruh yang signifikan. Hasil dari uji korelasi *Pearson Product Moment* adalah 0,044 ($p < 0,05$) dengan koefisien korelasi $r = -0,588$.

5.2.1 Karakteristik Hewan Coba

Hasil perhitungan rata-rata berat badan seluruh sampel hewan coba meningkat pada masa perlakuan dibandingkan dengan masa aklimatisasi. Hal ini bisa terjadi karena perlakuan yang diberikan kepada hewan coba menyebabkan terjadinya stres terhadap hewan coba tersebut. Apabila ditinjau dari rata-rata berat badan di tiap minggunya, tidak selalu terdapat peningkatan pada semua kelompok hewan coba namun dapat terjadi penurunan seperti yang terjadi pada kelompok K-, K+ dan P3 pada minggu ke-tiga tetapi penurunan tidak lebih dari 10% berat hewan coba. Pada pengukuran berat badan hewan coba setiap harinya didapatkan berat badan hewan coba yang terkadang naik dan terkadang turun.

Hal ini dapat terjadi karena tikus mengalami stres yang bisa disebabkan oleh beberapa perlakuan yang diberikan terhadap hewan coba. Pada penelitian ini, perlakuan yang diberikan terhadap tikus yang dapat menjadi pemicu stres antara lain pemaparan asap rokok, sonde lambung dan perpindahan tempat perawatan hewan coba. Namun menurut Sanlier (2007), respon stres pada tiap individu berbeda-beda, ada yang dapat menyebabkan peningkatan berat badan dan ada pula yang dapat menurunkan berat badan.

Pemaparan asap rokok terhadap hewan coba dapat menyebabkan penurunan berat badan dikarenakan asap rokok mengandung nikotin yang dapat meningkatkan metabolisme tubuh kurang lebih sebesar 10%. Nikotin bekerja dengan cara memicu pelepasan hormon seperti norepinefrin, dopamin, serotonin, dan *γ-aminobutyric acid* oleh sistem saraf pusat yang akan memicu pelepasan zat kimia dari otak seperti *pro-opiomelanocortin* dan *cocaine-amphetamine-regulated transcript* yang dapat

menekan rasa lapar dan meningkatkan tingkat metabolisme tubuh (Audrain-McGovern dan Benowitz, 2011).

Sebaliknya, stres yang ditimbulkan oleh perlakuan terhadap hewan coba tersebut juga dapat meningkatkan berat badan hewan coba. Menurut Dewi *et al.* (2017), sonde lambung yang melibatkan proses *handling* dapat menyebabkan peningkatan hormon kortisol. Peningkatan hormon kortisol ini akan menyebabkan keinginan untuk mengkonsumsi makanan secara berlebihan (Trimawati dan Wakhid, 2018).

Pemindahan tempat perawatan hewan coba disebabkan karena penelitian ini dilakukan pada saat pandemi Covid-19 yang mengharuskan hewan coba dipindahkan ke rumah pada minggu kedua dilakukannya perlakuan. Pemindahan hewan coba ini dapat memicu terjadinya stres pada hewan coba seperti stres akibat kebisingan dan perbedaan suhu (John dan Sealander, 1956; Koolhaas *et al.*, 1997), namun stres akibat kebisingan ini kemungkinan terjadi sangat kecil karena rumah yang dijadikan tempat perawatan tikus sedang tidak dihuni dan letak rumah tersebut tidak terlalu jauh dari tempat perawatan tikus yang pertama (Kampus FKIK UIN Maliki Malang) sehingga kondisi lingkungan, terutama suhu, tidak berbeda jauh.

5.2.2 Pengaruh Paparan Asap Rokok terhadap Ekspresi TNF- α

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran ekspresi TNF- α pada kelompok normal untuk mengetahui jumlah TNF- α pada keadaan normal dan dilakukan pengukuran ekspresi TNF- α pada kelompok negatif untuk mengetahui efek dari asap rokok terhadap ekspresi TNF- α tikus. Didapatkan hasil rata-rata ekspresi TNF- α pada kelompok normal sebesar 23,32% dan pada kelompok kontrol negatif sebesar 62,03%. Kemudian dilakukan uji Post Hoc Tamhane dan menghasilkan

nilai probabilitas sebesar 0,038 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok normal dengan kelompok kontrol negatif dimana ekspresi TNF- α lebih tinggi pada kelompok kontrol negatif dibanding kelompok normal.

Asap rokok merupakan salah satu sumber radikal bebas eksogen yang dapat menyerang DNA, protein dan lipid serta dapat memicu respon peradangan pada saluran udara perifer dan parenkim paru (Fitria *et al.*, 2013; Suryadinata, 2018). Pemberian asap rokok pada kelompok kontrol negatif bekerja dengan cara menyebabkan pergerakan makrofag, neutrofil dan limfosit T ke dalam saluran pernapasan dan memicu aktivasi dari berbagai mediator inflamasi dan faktor kemotaktik, yaitu TNF- α , IL-6, IL8, MCP-1, leukotriene LTB4, ROS dan sekresi enzim proteolitik seperti MMP-9 dan MMP-12 (Chen *et al.*, 2018; Suryadinata, 2018). TNF- α disekresikan oleh makrofag yang diaktivasi oleh asap rokok melalui jalur *classic* MAPK yang memediasi pembentukan protease dan sitokin inflamasi sehingga pemaparan asap rokok dapat menyebabkan peningkatan TNF- α dan menginisiasi respon inflamasi (Kusumastuty *et al.*, 2015).

Tingginya ekspresi TNF- α pada kelompok kontrol negatif disebabkan karena paparan radikal bebas yang terus-menerus yang berasal dari pemberian 3 batang rokok selama 1 jam/hari dan kelompok kontrol negatif ini tidak disertai pemberian terapi antioksidan sehingga tidak ada yang menangkap radikal bebas yang berasal dari asap rokok tersebut.

Adanya peningkatan TNF- α pada kelompok kontrol negatif bila dibandingkan dengan kelompok normal sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kusumastuty *et al.* (2015) bahwa rata-rata kadar TNF- α yang diukur dengan

metode ELISA pada tikus yang terpapar asap rokok lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok yang tidak terpapar asap rokok yaitu 69,1 pg/ml pada kelompok yang dipapar asap rokok dan 36,4 pg/ml pada tikus yang tidak dipapar asap rokok.

Hasil penelitian ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wulandari *et al.* (2012) yaitu ekspresi TNF- α pada testis tikus yang diinduksi asap rokok non-filter melalui metode imunohistokimia meningkat sebesar 1.402% dibanding dengan tikus kontrol sehat.

5.2.3 Pengaruh Pemberian Vitamin E dan Ekstrak Daun Kemangi terhadap Ekspresi TNF- α

Perlakuan berupa pemberian antioksidan eksogen baik berupa vitamin E dan ekstrak daun kemangi mampu menurunkan ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok. Hal ini dapat dilihat dari Gambar 5.4 yang menunjukkan bahwa ekspresi TNF- α lebih rendah pada kelompok kontrol positif (terapi vitamin E) dan kelompok perlakuan ekstrak daun kemangi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hasil analisis data menunjukkan ekspresi TNF- α menurun pada kelompok kontrol positif (59,15%) dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (62,03%). Penurunan produksi TNF- α pada kelompok kontrol positif menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antioksidan dari vitamin E yang diberikan kepada tikus kelompok kontrol positif.

Vitamin E atau α -tokoferol adalah salah satu vitamin larut lemak yang berperan penting dalam stabilisasi membran sel dan memiliki aktivitas antioksidan dengan cara memutus rantai radikal bebas (Kattappagari *et al.*, 2015; Saboori *et al.*, 2015). Vitamin E memiliki fungsi sebagai pemutus rantai peroksidasi lipid di membran sel dengan cara bereaksi secara cepat mendonorkan atom hidrogennya

kepada radikal peroksil (LOO^*) untuk kemudian menghasilkan radikal tokoferol yang relatif stabil yang dapat bereaksi dengan vitamin C pada fase *aqueous* (Kattappagari *et al.*, 2015).

Beberapa studi menyebutkan bahwa vitamin E juga mampu berperan sebagai agen anti-inflamasi dengan cara menekan produksi dari sitokin inflamasi seperti IL-6 dan $\text{TNF-}\alpha$ (Parwata, 2015; Saboori *et al.*, 2015). Cara kerja vitamin E sebagai anti-inflamasi yaitu dengan cara menghambat aktivasi dari NF- κ B dan STAT6/3 serta gen yang diaturnya, termasuk sitokin dan kemokin, pada sel epitel paru-paru, makrofag dan beberapa sel kanker (Jiang, 2014).

Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh vitamin E juga didukung dengan adanya review artikel tentang studi efek antioksidan vitamin E yang dilakukan oleh Lung dan Destiani (2017) dengan cara mengumpulkan enam artikel/jurnal yang melakukan uji efek antioksidan dengan metode DPPH dimana menggunakan nilai IC_{50} sebagai parameternya. Dari ke-enam artikel/jurnal tersebut didapatkan rata-rata IC_{50} vitamin E yaitu sebesar 21,759 $\mu\text{g/mL}$, yang menunjukkan bahwa vitamin E merupakan suatu golongan antioksidan yang sangat kuat karena mempunyai nilai IC_{50} yang relatif kecil ($<50 \mu\text{g/mL}$).

Pada hasil penelitian Tabel 5.2 dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) juga mampu menurunkan ekspresi $\text{TNF-}\alpha$ jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (62,03%). Dapat dilihat ekspresi $\text{TNF-}\alpha$ pada kelompok P1 dengan dosis terapi 50 mg/kgBB yaitu sebesar 49,84%, ekspresi $\text{TNF-}\alpha$ pada kelompok P2 dengan dosis terapi 100 mg/kgBB yaitu sebesar 47,73% dan ekspresi $\text{TNF-}\alpha$ pada kelompok P3 dengan dosis terapi 200 mg/kgBB yaitu sebesar 34,55%.

Penurunan produksi TNF- α pada perlakuan 1,2, dan 3 menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dan aktivitas antiinflamasi yang dimiliki oleh daun kemangi. Aktivitas antioksidan ini disebabkan oleh adanya kandungan senyawa non-fenolik dari minyak atsiri maupun senyawa fenoliknya. Senyawa fenolik yang berperan adalah asam kafeat dan asam rosmarin, dimana asam rosmarin memiliki sifat yang sinergis dengan α -tokoferol yaitu mampu menangkap radikal bebas (Zahra dan Iskandar, 2017). Senyawa fenolik lain dalam daun kemangi adalah golongan flavonoid dan salah satu kandungan flavonoidnya adalah apigenin yang merupakan golongan flavon dan dapat digunakan sebagai antioksidan (Erviana *et al.*, 2016).

Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dapat dilihat dari kemampuannya menangkap radikal dengan cara donor atom hidrogennya sehingga susunan elektron pada radikal bebas menjadi lebih stabil (Arifin dan Ibrahim, 2018). Selain itu, mekanisme kerja flavonoid sebagai antioksidan lainnya adalah mampu menghambat kerja enzim yang menghasilkan ROS dan mampu membentuk kelat dengan logam-logam yang mampu memicu terbentuknya ROS sehingga reaksi ROS dengan sel normal dapat dicegah serta mencegah stres oksidatif agar tidak terjadi (Parwata, 2015). Karena pembentukan radikal bebas dapat dicegah, maka tidak ada zat asing yang menstimulasi sel imun untuk mengaktifasi respon inflamasi sehingga respon inflamasi tidak terjadi.

Untuk melihat pengaruh pemberian konsentrasi ekstrak daun kemangi terhadap ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok maka dilakukan uji korelasi. Dari hasil uji korelasi pearson didapatkan hasil nilai $p < 0.05$ sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat hubungan pemberian ekstrak daun kemangi terhadap

ekspresi TNF- α . Dari uji korelasi pearson juga didapatkan hasil koefisien korelasi sebesar $r=-0,558$. Korelasi ini bernilai negatif kuat yang artinya semakin tinggi dosis ekstrak daun kemangi yang diberikan maka ekspresi TNF- α akan semakin menurun.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ervina *et al.* (2016) bahwa ekstrak etanol *Ocimum basilicum* memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC50 sebesar 52,68 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian tersebut mendukung hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa terdapat penurunan ekspresi TNF- α pada kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 yang diberi ekstrak daun kemangi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Selain memiliki aktivitas antioksidan, daun kemangi juga memiliki aktivitas antiinflamasi yang disebabkan adanya kandungan minyak atsiri yang mengandung sitral dan eugenol, tanin dan flavonoid. Jenis flavonoid yang mampu bekerja sebagai antiinflamasi adalah orientin dan vinencin (Sukmawati *et al.*, 2018). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wardhani (2018) bahwa pemberian ekstrak daun kemangi (*O. canum*) secara signifikan dapat menurunkan ekspresi TNF- α sebesar 78,53% dan mempertahankan kondisi normal epitel pada bronkus dengan dosis terbaik sebesar 1,2 g/kgBB pada tikus model asma yang diinduksi ovalbumin dan lipopolisakarida.

Selain itu, aktivitas antiinflamasi oleh kandungan sitral pada daun kemangi diteliti oleh Saputri dan Zahara (2016) dimana hasil penelitiannya menyebutkan bahwa minyak atsiri daun kemangi yang mengandung sitral memiliki aktivitas antiinflamasi yang ditinjau dari kemampuannya menghambat edema pada kaki tikus yang diinduksi karagenan pada dosis 40 mg/200 grBB, 80 mg/200 grBB dan

160 mg/200 grBB dan dosis 160 mg/200 grBB memiliki efek penghambatan udem terbesar yaitu sebesar 44,84%.

Adanya aktivitas antiinflamasi pada daun kemangi juga dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Al-Ghurabi (2014), dimana efek antiinflamasi daun kemangi pada tikus yang diinjeksi formalin dicapai pada pemberian dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB.

5.2.4 Perbedaan Pengaruh Pemberian Vitamin E dan Ekstrak Daun Kemangi terhadap Ekspresi TNF- α

Dari hasil penelitian pada Tabel 5.2, didapatkan bahwa pemberian vitamin E pada kelompok kontrol positif dan pemberian ekstrak daun kemangi pada kelompok perlakuan P1, P2 dan P3, dapat menurunkan ekspresi TNF- α apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang hanya dipapar asap rokok dan diberi aquades. Hal ini disebabkan karena vitamin E merupakan antioksidan poten yang sudah teruji khasiatnya dan hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kemangi memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi sehingga mampu menurunkan ekspresi TNF- α tikus setelah paparan asap rokok.

Pada perbandingan kelompok kontrol positif (diberi vitamin E) dengan kelompok P1 menunjukkan bahwa ekspresi TNF- α lebih tinggi pada kelompok kontrol positif (59,15%) dibandingkan dengan kelompok P1 (49,84%) tetapi memiliki nilai $p > 0.05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan antara dua kelompok ini. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kemangi pada dosis 50 mg/kgBB memiliki efek yang sebanding sebagai antioksidan dan antiinflamasi dengan vitamin E yang merupakan antioksidan paten yang telah teruji sebelumnya.

Pada perbandingan kelompok kontrol positif dengan kelompok P2 menunjukkan bahwa ekspresi TNF- α lebih tinggi pada kelompok kontrol positif (59,15%) dibandingkan dengan kelompok P2 (47,73%) tetapi memiliki nilai $p>0.05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan antara dua kelompok ini. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kemangi sebanyak 100 mg/kgBB memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan antiinflamasi yang sebanding bahkan mungkin lebih baik daripada pemberian vitamin E dengan dosis 1,44 mg/hari. Hal ini disebabkan karena dosis ekstrak daun kemangi tersebut merupakan dua kali lipat dosis P1, yang mana dosis P1 sudah memiliki efek terapi pada penelitian ini. Ekspresi TNF- α pada P2 juga mengalami penurunan (47,73%) dibandingkan dengan P1 (49,84%) tetapi tidak berbeda signifikan karena nilai $p>0.05$.

Pada perbandingan kelompok kontrol positif dengan kelompok P3 menunjukkan bahwa ekspresi TNF- α lebih tinggi pada kelompok kontrol positif (59,15%) dibandingkan dengan kelompok P3 (34,55%). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kemangi sebanyak 200 mg/kgBB memiliki daya antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian vitamin E pada dosis 1,44 mg/hari. Hal ini juga bisa disebabkan karena dosis P3 merupakan dosis terbesar diantara semua perlakuan sehingga memiliki kinerja yang lebih maksimal untuk menurunkan ekspresi TNF- α .

Mekanisme kerja vitamin E yang hanya larut dalam lemak mendasari mengapa pada penelitian ini ekstrak daun kemangi lebih efektif dalam menurunkan ekspresi TNF- α pada paru tikus. Vitamin E di dalam tubuh, berada di dalam lapisan fosfolipid membran sel dan memiliki fungsi sebagai pelindung asam lemak jenuh

ganda dan komponen sel lain dari paparan radikal bebas dengan cara memutus rantai peroksidasi lipid melalui donor atom hidrogennya kepada radikal bebas sehingga dapat melindungi sel dari kerusakan (Iswara, 2009; Nelawati *et al.*, 2016).

Sedangkan aktivitas antioksidan senyawa fenolik bersifat hidrofilik yang dapat bekerja secara mudah dengan mendonorkan satu atom hidrogennya pada ROS (Hardiningtyas *et al.*, 2014). Terdapat berbagai mekanisme kerja flavonoid sebagai antioksidan yaitu penangkap radikal bebas melalui donasi atom hidrogen, peredam terbentuknya singlet oksigen, pengkelat logam dan bertindak sebagai substrat untuk superoksida dan hidrosil (Adwas *et al.*, 2019). Flavonoid juga dapat bekerja dengan cara menghambat enzim yang berperan dalam pembentukan ROS seperti microsomal monooksigenase, *glutathione S-transferase*, *mitochondrial succinoxidase*, NADH oksidase dan lain-lain (Kumar dan Pandey, 2013).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Liu *et al.* (2014), salah satu senyawa golongan flavonoid yaitu quercetin dapat meningkatkan produksi dari antioksidan endogen seperti glutathione peroksidase (GSH-Px), glutathione reduktase (GR), superoksida dismutase (SOD) dan katalase (CAT) (Banjarnahor dan Artanti, 2014). Berbagai macam mekanisme kerja flavonoid sebagai antioksidan radikal bebas memungkinkan ekstrak daun kemangi lebih banyak menetralkan radikal bebas yang berasal dari paparan asap rokok.

Perbandingan antara kelompok P1 dan P2, dan P3, kelompok P3 mampu menurunkan ekspresi TNF- α paling rendah karena dosis P3 merupakan dosis terbesar dalam penelitian ini dan dosis ini belum termasuk pada dosis toksik dikarenakan belum terjadi efek *withdrawal* pada ekspresi TNF- α tikus kelompok

P3. Rata-rata ekspresi TNF- α kelompok P3 (34,55%) juga yang paling mendekati rata-rata ekspresi TNF- α kelompok normal (23,32%).

Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 200 mg/kgBB merupakan dosis yang paling optimal untuk menurunkan ekspresi TNF- α pada tikus setelah paparan asap rokok. Dosis 200 mg/kgBB merupakan dosis yang banyak memberikan antioksidan di dalam tubuh sehingga banyak juga radikal bebas yang bisa dinetralisir. Karena banyaknya radikal bebas yang dinetralisir, ekspresi TNF- α bisa menurun karena tidak ada radikal bebas yang memicu jalur pensinyalan intraseluler seperti NF- κ B sehingga transkripsi gen dan pelepasan sitokin proinflamasi tidak terjadi.

Dosis terapi minimal ekstrak daun kemangi juga disebutkan dalam penelitian yang dilakukan Al-Ghurabi (2014) dimana ekstrak daun kemangi *Ocimum basilicum* memiliki efek terapi pada dosis 50 mg/kgBB-100 mg/kgBB. Hal ini mendukung hasil penelitian ini, dimana ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) pada dosis 50 mg/kgBB sudah memiliki efek terapi sebagai antioksidan dan antiinflamasi pada tikus setelah paparan asap rokok.

5.3 Integrasi Penelitian dengan Kajian dalam Alquran dan Al-Hadits

Allah SWT telah menciptakan alam semesta beserta segala isinya, sekecil apapun ciptaan itu, secara tidak main-main. Hal ini berarti tidak ada ciptaan Allah SWT yang tidak memiliki arti dan makna karena pada dasarnya tujuan penciptaan alam semesta ini adalah sarana untuk menghantarkan manusia pada pengetahuan dan pembuktian tentang keberadaan dan kekuasaan Allah SWT.

Salah satu karunia Allah SWT kepada umat manusia adalah keberagaman tanaman dengan segala manfaatnya. Banyaknya tanaman yang tumbuh di muka bumi ini dapat menjadi bukti nyata kekuasaan Allah SWT, sebagaimana dalam firmanNya pada QS. Taha ayat 53 yang berbunyi:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمُ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً

فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى - ٥٣

“(Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu, dan menjadikan jalan-jalan di atasnya bagimu, dan yang menurunkan air (hujan) dari langit. Kemudian Kami tumbuhkan dengannya (air hujan itu) berjenis-jenis aneka macam tumbuh-tumbuhan.” (QS. Taha: 53) (Departemen Agama RI, 2015).

Dalam tafsir Kementerian Agama, dijelaskan bahwa Allah sebagai pencipta alam semesta telah menciptakan bumi beserta segala isinya, termasuk turunnya hujan dari langit yang mampu menumbuhkan berbagai macam tumbuhan dan buah-buahan yang memiliki cita rasa, aroma dan manfaat yang beragam. Tumbuh-tumbuhan ini membawa banyak manfaat tidak hanya untuk manusia, tetapi juga untuk hewan yang kesemuanya itu menunjukkan tanda-tanda kebesaran dan karunia Allah SWT untuk seluruh hamba-Nya.

Salah satu pemanfaatan tumbuh-tumbuhan yang bisa dilakukan manusia adalah menjadikan tumbuh-tumbuhan tersebut sebagai obat herbal yang berguna untuk manusia. Pemanfaatan tumbuh-tumbuhan sebagai obat telah dilakukan sejak jaman Rasulullah SAW. Rasulullah SAW menggunakan obat-obatan herbal yang tidak mengandung bahan kimia, dan hal ini Ia ajarkan kepada keluarganya dan para sahabat (Rohmaniyah, 2016). Anjuran untuk berobat ini juga disampaikan oleh

Rasulullah SAW dalam kitab *Al-Majmû' Syarh Muhadzdzab*. Rasulullah SAW bersabda:

إِنَّ اللَّهَ تَعَالَى أَنْزَلَ الدَّاءَ وَالِدَوَاءَ وَجَعَلَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءً فَتَدَاوُوا وَلَا تَدَاوُوا بِالْحَرَامِ

“Sesungguhnya Allah menurunkan penyakit dan obatnya dan menjadikan bagi setiap penyakit ada obatnya. Maka berobatlah kalian, dan jangan kalian berobat dengan yang haram.” (HR. Abu Dawud dari Abu Darda)

Salah satu tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai obat herbal ialah kemangi. Kemangi merupakan salah satu tanaman yang mudah ditemukan di Indonesia (Makmur, 2016). Tanaman ini banyak dimanfaatkan di Indonesia sebagai bumbu untuk memasak atau sebagai lalap karena memiliki bau dan rasa yang khas (Zahra dan Iskandar, 2017).

Kemangi juga pernah disinggung dalam Alquran pada QS. Ar-Rahman ayat 12. Allah berfirman:

وَالْحَبُّ ذُو الْعَصْفِ وَالرَّيْحَانُ ۚ - ١٢

“dan biji-bijian yang berkulit dan bunga-bunga yang harum baunya.” (QS. Ar-Rahman: 12) (Departemen Agama RI, 2015).

Menurut Al Hasan (dalam Tafsir Al-Muyassar), makna (الْحَبُّ ذُو)

(الرَّيْحَانُ) digambarkan dalam ayat ini adalah biji-bijian. Lalu kata (الْعَصْفِ) sebagai daun-daun yang memiliki aroma yang wangi. Namun pendapat lain mengatakan bahwa (الرَّيْحَانُ) adalah tumbuhan kemangi yang biasa digunakan sebagai wewangian. Pendapat ini juga didukung oleh penelitian yang dilakukan

oleh Marwat *et al.* (2009), bahwa daun yang dimaksud (الرَّيْحَانُ) adalah golongan *Ocimum* atau biasa dikenal dengan kemangi.

Kemangi dapat dimanfaatkan sebagai kandidat obat herbal karena memiliki zat aktif yang melimpah seperti minyak atsiri dan flavonoid (Zahra dan Iskandar, 2017). Zat aktif inilah yang menyebabkan kemangi memiliki berbagai macam manfaat salah satunya adalah sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan yang dimiliki kemangi telah dibuktikan pada penelitian ini. yang menunjukkan bahwa ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) mampu menurunkan ekspresi TNF- α pada tikus setelah diberi paparan asap rokok. Penurunan ekspresi TNF- α ini dapat ditinjau dari penurunan yang terjadi pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun kemangi P1 (50 mg/kgBB), P2 (100 mg/kgBB) dan P3 (200 mg/kgBB) sebesar 49,84%, 47,73% dan 34,55% jika dibandingkan dengan ekspresi TNF- α pada kelompok kontrol negatif yaitu sebesar 62,03%.

Mekanisme kemangi dalam menangkap radikal bebas yang berasal dari asap rokok adalah melalui kandungan flavonoidnya yang mampu mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga radikal bebas memiliki konfigurasi elektron yang lebih stabil pada kulit terluarnya (Arifin dan Ibrahim, 2018). Hal ini menyebabkan radikal bebas menjadi tidak cukup reaktif untuk memulai reaksi dengan molekul di sekitarnya.

Tubuh kita merupakan amanah Allah yang harus kita jaga sebaik mungkin. Salah satu perilaku yang berdampak buruk bagi tubuh kita, terutama bagi kesehatan adalah merokok (Aziizah *et al.*, 2018). Tidak hanya merugikan diri sendiri, asap rokok yang dihasilkan juga dapat merugikan orang-orang di sekitarnya. Menurut pakar kesehatan, filter pada ujung batang rokok menyebabkan hanya 25% saja

bahaya asap rokok yang didapatkan oleh perokok aktif sedangkan sebesar 75% bahaya asap rokok didapatkan oleh perokok pasif karena terpapar asap rokok secara langsung (Suryantisa, 2018).

Merokok menyebabkan peningkatan radikal bebas di dalam tubuh yang akhirnya menimbulkan respon peradangan di dalam saluran pernafasan manusia yang ditandai dengan meningkatnya ekspresi TNF- α (Birben *et al.*, 2012). Peningkatan TNF- α ini dapat dilihat dari hasil penelitian ini yang mana ekspresi TNF- α pada kelompok kontrol negatif (kelompok yang hanya dipapar asap rokok) lebih tinggi daripada kelompok normal yaitu 62,03% untuk kelompok kontrol negatif dan 23,32% untuk kelompok normal.

Tidak terdapat dalil khusus mengenai hukum merokok dalam Alquran namun hanya dikiaskan saja seperti pada QS. Al-A'raf ayat 157 dan QS An-Nisa' ayat 29 yang berbunyi (Fadly, 2015):

يَأْمُرُهُم بِالْمَعْرُوفِ وَيَنْهَاهُمْ عَنِ الْمُنْكَرِ وَيُحِلُّ لَهُمُ الطَّيِّبَاتِ وَيُحَرِّمُ عَلَيْهِمُ
الْخَبَائِثَ... ١٥٧

“...yang menyuruh mereka mengerjakan yang ma'ruf dan melarang mereka dari mengerjakan yang mungkar dan menghalalkan bagi mereka segala yang baik dan mengharamkan bagi mereka segala yang buruk ...” (QS. Al-A'raf: 157) (Departemen Agama RI, 2015).

...وَلَا تَقْتُلُوا أَنْفُسَكُمْ ۚ إِنَّ اللَّهَ كَانَ بِكُمْ رَحِيمًا ۚ ٢٩

“...dan janganlah kamu membunuh dirimu, sesungguhnya Allah adalah Maha penyayang kepadamu” (QS. An-Nisa': 29) (Departemen Agama RI, 2015).

Penjelasan QS. Al-A'raf: 157 dalam tafsir Al Madinah Al-Munawwarah, kalimat “وَيُحَرِّمُ عَلَيْهِمُ الْخَبَائِثَ” berarti mengharamkan bagi kaum muslimin dari

segala yang najis dan buruk hakikatnya, karena mengandung bahaya dan mudharat. Seperti makanan, minuman, pernikahan, ucapan dan perbuatan yang buruk.

Penjelasan QS. An-Nisa': 29 dalam tafsir as-Sa'di yaitu, Allah berfirman "janganlah kalian saling membunuh", yang mana larangan ini mencakup bunuh diri ataupun membunuh mukmin yang lain. Karena kaum muslimin seperti raga yang satu, oleh karenanya membunuh seorang muslim adalah seperti membunuh dirinya sendiri. Sesungguhnya Allah Maha penyayang kepada diri kalian. Sebab itu Allah mengharamkan saling membunuh.

Kedua ayat di atas menjelaskan bahwa kita dilarang untuk menjerumuskan diri ke dalam hal yang merugikan diri sendiri bahkan dapat membunuh diri sendiri. Merokok dapat merugikan penggunaannya maupun orang di sekitarnya karena zat kimia yang terkandung dalam rokok sangat banyak, seperti nikotin, *Tobacco Specific Nitrosamine* (TSNA), bahan sisa dari pupuk dan pestisida seperti klor, *cadmium*, *sipermetrin*, *provenofos*, dan lain sebagainya. Zat kimia ini dapat menyebabkan penggunaannya mengalami gangguan pada jantung, paru-paru, kecanduan dan beberapa zat kimia yang terkandung dalam rokok memiliki sifat karsinogenik yang dapat memicu kanker (Tirtosastro dan Murdiyati, 2010).

Dari hasil penelitian ini, dapat diketahui bahwa pemberian paparan asap rokok kepada tikus dapat menyebabkan peningkatan ekspresi TNF- α pada kelompok kontrol negatif (hanya diberi paparan asap rokok), kontrol positif (diberi paparan asap rokok dan terapi vitamin E 1,44 mg/hari) dan kelompok perlakuan (diberi paparan asap rokok dan terapi ekstrak daun kemangi) apabila dibandingkan dengan kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi inflamasi pada dalam tubuh tikus, terutama paru-paru, setelah terkena asap rokok.

Dari penelitian yang telah dilakukan diharapkan mampu menjadi khazanah ilmu pengetahuan khususnya ilmu tentang manfaat kemangi bagi kesehatan sehingga penelitian ini bisa bermanfaat untuk muslimin dan muslimat dalam meningkatkan kesehatannya. Penelitian ini diharapkan juga dapat menjadi inspirasi untuk umat muslim lainnya dalam berlomba-lomba untuk memajukan ilmu pengetahuan sehingga umat muslim tidak akan menjadi umat yang terbelakang dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

5.4 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini telah diusahakan dan dilaksanakan sesuai dengan prosedur ilmiah, namun demikian penelitian ini masih memiliki beberapa keterbatasan yaitu:

1. Penelitian ini hanya sebatas meneliti tentang aktivitas antioksidan ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*). Tidak dilakukan uji fitokimia terhadap ekstrak daun kemangi sehingga perkiraan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun kemangi didasarkan pada hasil penelitian sebelumnya dan tidak dapat diketahui senyawa aktif apa yang berperan dalam menurunkan ekspresi TNF- α pada paru tikus setelah paparan asap rokok.
2. Penelitian ini hanya menggunakan tiga tingkatan dosis yaitu 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB sehingga tidak dapat diketahui dosis maksimal penggunaan ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) yang dapat bekerja sebagai antioksidan terhadap tikus setelah paparan asap rokok.

3. Penelitian ini dilakukan saat masa pandemi Covid-19 sehingga diharuskan memindahkan tempat perawatan tikus dari Laboratorium Hewan Coba FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang ke rumah peneliti sehingga tidak dapat diketahui apakah perpindahan ini berdampak besar terhadap hasil penelitian atau tidak.
4. Penelitian yang dilakukan saat masa pandemi Covid-19 mengharuskan peneliti merubah metode pengukuran TNF- α yang seharusnya menggunakan *flowcytometry* berubah menjadi pemeriksaan menggunakan pengecatan imunohistokimia dikarenakan keterbatasan laboratorium untuk pengukuran TNF- α di masa pandemi Covid-19.

BAB IV

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) dapat berpengaruh dalam menurunkan ekspresi TNF- α pada paru tikus setelah paparan asap rokok.
2. Semakin tinggi dosis ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) yang diberikan maka ekspresi TNF- α semakin menurun. Dosis ekstrak daun kemangi 200 mg/kgBB merupakan dosis yang mampu menurunkan ekspresi TNF- α secara signifikan.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) yang berperan dalam menurunkan ekspresi TNF- α pada paru-paru tikus setelah paparan asap rokok.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang manfaat daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) sebagai kandidat antioksidan terhadap penyakit yang disebabkan oleh asap rokok.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan rentang dosis yang lebih besar untuk mengetahui efektivitas dan toksisitas ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*).

4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengembangan sediaan ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) dan penggunaan ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) sesuai tahapan uji klinis sebelum dikonsumsi oleh masyarakat luas sehingga ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) dapat menjadi produk yang aman untuk dikonsumsi masyarakat



DAFTAR PUSTAKA

- A, Almahdy dan Marina Yandri. 2010. Uji Fetotoksisitas Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) pada Mencit Putih. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 15(1): 29-33.
- Adwas, Almohktar A. *et al.* 2019. Oxidative Stress and Antioxidant Mechanisms in Human Body. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 6(1): 43-47.
- Adyttia, Asri, Eka Kartika Untari dan Sri Wahdaningsih. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Buas-Buas (*Premna cordifolia*. LINN) terhadap Kadar MDA Tikus Wistar Jantan Pasca Paparan Asap Rokok. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 1(2): 35-42.
- Aidh, Al Qarni. 2008. Tafsir Al Muyassar. Jakarta: Qisthi Press. [Online]. Diakses di: <https://tafsirweb.com/>
- Alexander, Laura E. C., Stephanie Shin dan John H. Hwang. 2015. Inflammatory Diseases of the Lung Induced by Conventiopl Cigarette Smoke. *Recent Advances in Chest Medicine*.
- Al-Ghurabi, Seab Emad Sahib. 2014. Study the Analgesic and Sedative Effect of *Ocimum basilicum* Alcoholic Extract in Male Rats. *Diyala Agricultural Sciences Journal*, 6(1): 9-22.
- Al-Kateb, Huda dan Donald S. Mottram. 2014. The Relationship Between Growth Stages and Aroma Composition of Lemon Basil *Ocimum citriodorum* Vis. *Food Chemistry*, 152: 440-446.
- An-Nawawi, Imam. Al Majmu' Syarhul Muhadzdzab. Mesir: Addaarul 'Aalamiyyah Mesir.
- Antonelli, Maria dan Irving Kushner. 2017. It's Time to Redefine Inflammation. *The FASEB Journal*. 31: 1787-1791.
- Arfan, Pandhycha Veryza Pratama, 2016. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Produk X Sebagai Antiinflamasi pada Tikus Jantan Galur Wistar*. Skripsi, Fakultas Kedokteran. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Arief, Handy dan M. Aris Widodo. 2016. Peranan Stres Oksidatif pada Proses Penyembuhan Luka. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 5(2): 22-29.
- Arifin, Bustanul dan Sanusi Ibrahim. 2018. Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1): 21-29.
- Arnson, Yoav, Yehuda Shoenfeld dan Howard Amital. 2010. Effects of Tobacco Smoke on Immunity, Inflammation and Autoimmunity. *Journal of Autoimmunity*. 34: 258-265.

- Asri, Muhammad, Rachmat Kosman, Dewi Yuliana. Pengaruh Efek Ekstrak Etanol Daun Murbei (*Morus multicaulis*) sebagai Antioksidan pada Paru-paru Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Dipapar Asap Rokok dengan Parameter Histopatologi. *As-Syifaa*, 2015, 7(2): 114-120.
- As-Sa'di, Abdurrahman. *Tafsir Al-Qur'an Tafsir As-Sa'di*. Suhendrik, U (penerjemah). Penerbit Darul Haq.
- Audrain-McGovern, Janet E. dan NL. Benowitz. 2011. Cigarette Smoking, Nicotine, and Body Weight. *Clin Pharmacol Ther*, 90(1): 164–168.
- Aziizah, K.N., Setiawan dan Lelyana. 2018. Hubungan Tingkat Pengetahuan Tentang Dampak Rokok Terhadap jenis variabelap Kesehatan Rongga Mulut dengan Tingkat Motivasi Berhenti Merokok pada Mahasiswa Universitas Kristen Maranatha. *SONDE (Sound of Dentistry)*, 3(1): 16-21.
- Banjarnahor, Sofna DS dan Nina Artanti. Antioxidant properties of flavonoids. 2014. *Med J Indones*, 23(4): 239-244.
- Birben, Esra, Umit M.S., Cansin S., Serpil E., dan Omer K. 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *WAO Journal*, 5: 9-19.
- Bender DA. 2009. *Free Radicals an Antioxidant Nutrients*. Dalam: Murray K, Bender DA, Botham KM, et al. Eds. Harper's Illustrated Biochemistry, Ed 28th Mc Graw Hill Lange.
- Chen, Linlin et al. 2018. Inflammatory Responses and Inflammation-Associated Diseases in Organs. *Oncotarget*, 9(6): 7204-7218.
- Conn, Barry J. 2014. *Ocimum L.* (Lamiaceae) in Australia and Papua New Guinea. *Journal of Plant Systematics*, 17: 169-181.
- Demirjian, Loutfig, Raja T. Abboud, Hong Li dan Vincent Duronio. 2006. Acute Effect of Cigarette Smoke on TNF- α Release by Macrophages Mediated Through the ERK1/2 Pathway. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1762: 592-597. doi:10.1016/j.bbadis.2006.04.004
- Departemen Agama RI. 2015. *Alquran Terjemahan*. Bandung: CV Daarus Sunnah.
- Dewi, Inaz Kemala, Anggraeni Janar Wulan dan Putu Ristyaning Ayu. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Manggis Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih yang Diberi Paparan Gelombang Elektromagnetik Handphone Periode Kronik. *Medula*, 7(4): 164-170
- Erviana, Linda, Abd, Malik dan Ahmad Najib. 2016. Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dengan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2): 164-168.
- Fadiyah, Azzah Farah et al. 2018. Eksplorasi Potensi Ekstrak Cair Daun Kecombrang yang Mengandung Antioksidan Sebagai Penetralisir Radikal Bebas dalam Darah Petugas SPBU. *Jurnal Litbang Kota Pekalongan*, Vol. 15: 8-16.

- Fadly, Rendy Tubagus. 2015. Pengaruh Kontrol Diri terhadap Perilaku Merokok pada Pengurus Pondok Pesantren Al-Amien Prenduan Sumenep-Madura. Skripsi, Fakultas Psikologi. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Fakhirah, Nabilah Dzakiyatul. 2018. *Ekspresi Osteoprotegerin (OPG) pada Daerah Tarikan Tulang Alveolar Gigi Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Gaya Mekanik Ortodonti dengan Aplikasi Natrium Fluoride (NaF)*. Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi. Jember: Universitas Jember.
- Fitria *et al.* 2013. Merokok dan Oksidasi DNA. *Sains Medika*, 5(2): 113-120.
- Freire, Marcelo O. and Thomas E. V. D. 2013. Natural Resolution of Inflammation. *Periodontal 2000*, 63(1): 149-164.
- Gudkov, Andrei V. dan Elena A. Komarova. 2016. p53 and the Carcinogenicity of Chronic Inflammation. *Cold Spring Harbor Perspect Med*
- Gul, Saleha *et al.* 2019. Assessment of Genotoxicity in Lymphocytes of Active and Passive Cigarette Smokers Attenuated with Green Tea. *Pakistan J. Zool*, 51(3): 1131-1136.
- Halliwell, Barry and John M. C. Gutteridge. 2015. *Free Radicals In Biology and Medicine, Fifth Edition*. Oxford: Oxford University Press.
- Hanin, Naovi N. F. dan Rarastoeti Pratiwi. 2017. Kandungan Fenolik, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Paku Laut (*Acrostichum aureum* L.) Fertil dan Steril. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 2: 51-56. DOI: 10.22146/jtbb.29819
- Hanum, Hanifah. 2017. *Pengaruh Paparan Asap Rokok Lingkungan pada Ibu Hamil Terhadap Kejadian Bayi Berat Lahir Rendah*. Skripsi., Fakultas Kedokteran. Lampung: Universitas Lampung.
- Hardiningtyas, Safrina Dyah, Sri Purwaningsih dan Ekowati Handharyani. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih. *JPHPI*, 17(1): 80-91.
- Held, Paul. 2015. *An Introduction to Reactive Oxygen Species: Measurement of ROS in Cells*. USA: BioTek Instrument, Inc.
- Herdiani, Novera dan Endah Budi Permana Putri. Gambaran Histopatologi Paru Tikus Wistar setelah Diberi Paparan Asap Rokok. *Medical and Health Science Journal*, 2018, 2(2): 7-14.
- Hunt, J. S., and Burnett, T.G. 2000. Uterine Leukocytes: Key Players in Pregnancy. *Sem. Cell. Dev. Biol*, 11: 127-137.
- Ikhlas, Nur. 2013. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (Ocimum americanum Linn) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)*. Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Iswara, Arya. 2009. *Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C dan E Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar Allethrin*. Skripsi. Tidak

diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

- Jakovljević, Dragana, Marina Topuzović, dan Milan Stanković. 2019. Nutrient Limitation as a Tool for the Induction of Secondary Metabolites with Antioxidant Activity in Basil Cultivars. *Industrial Crops & Products*, 138: 1-10.
- Jiang, Qing. 2014. Natural Forms of Vitamin E: Metabolism, Antioxidant, and Anti-inflammatory Activities and Their Role in Disease Prevention and Therapy. *Free Radical Biology and Medicine*, 72: 76-90.
- John, Sealander. 1956. Influence of Temperature Stress on Uptake of P^{32} in the Rat. *Americal Journal of Physiology*, 86(2).
- Kattappagari, Kiran Kumar *et al.* 2015. Role of Antioxidants in Facilitating the Body Functions: A Review. *Journal of Orofacial Sciences*, 7(2): 71-75.
- Kementerian Agama RI. 2009. *Al-Qur'an dan Tafsirnya*. Jakarta: Bayt Al-Qur'an dan Museum Istiqlal. [Online]. Diakses di <https://quran.kemenag.go.id/>
- Kementerian Kesehatan RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Kementerian Kesehatan RI. 2018. *Hasil Utama RISKESDAS 2018*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Kode, Aruna, Se-Ran Yang and Irfan Rahman. Differential Effects of Cigarette Smoke on Oxidative Stress and Proinflammatory Cytokine Release in Primary Human Airway Epithelial Cells and in Variety of Transformed Alveolar Epithelial Cells. *Respiratory Research*, 2006, 7:132
- Koolhaas, De Boer, De Rutter, Meerlo, Sgoifo. 1997. Social Stress in Rats and Mice. *Journal of Physiological Sciences*. Vol 161.
- Kumar, Shashank and Abhay K. Pandey. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013(162750).
- Kusuma, Andina Rizkia Putri. 2011. Pengaruh Merokok Terhadap Kesehatan Gigi Dan Rongga Mulut. *Majalah Ilmiah Sultan Agung*, 49(124).
- Kusumastuty, Inggita *et al.* Pengaruh Pemberian Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas Lam*) terhadap Kadar TNF-A, IL-6 dan Nf-Kb pada Tikus yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 2015, 28(3): 228-232.
- Lawrence, Toby. 2009. The Nuclear Factor NF- κ B Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harbor Perspect Biol*.
- Lestari, Nurkhalifah. 2018. *Formulasi Gel Antioksidan Minyak Atsiri Daun Kemangi (Ocimum Citriodorum Vis)*. Yogyakarta: Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia

- Liu H, Guo X, Chu Y, Lu S. 2014. Heart Protective Effects and Mechanism of Quercetin Preconditioning on Antimycardial Ischemia Reperfusion (IR) Injuries in Rats. *Gene*, 545(1): 149-55.
- Lung, Jackie Kang Sing dan Dika Pramita Destiani. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH. *Farmaka Suplemen*, 15(1): 53-62.
- Makmur, Kurnia. 2016. *Analisis Keragaman Genetik Kemangi (Ocimum × africanum Lour.) berdasarkan Marka Morfologi dan Inter-Simple Sequence Repeats*. Tesis. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Manisha *et al.* 2017. Oxidative Stress and Antioxidants: an Overview. *International Journal of Advanced Research and Review*, 2(9): 110-119.
- Marwat S.K., Khan, M.A., Rehman F., Bhatti, I.U. 2009. *Aromatic Plant Species Mentioned in the Holy Qura'n and Ahadith and Their Ethnomedicinal Importnace*. *Pakistan Journal of Nutrition* 8(5): 1472-1479
- Mead, David. 2014. Basils (*Ocimum spp.*) in Indonesia. *Sulang Lang Data Work Pap.* 1: 1-10
- Menteri Kesehatan RI. 2017. PERMENKES No. 56 Tahun 2017 Tentang Perubahan Atas Peraturan Menteri Kesehatan No. 28 Tahun 2013 Tentang Pencamtuman Peringatan Kesehatan dan Informasi Kesehatan pada Kemasan Produk Tembakau.
- Mittal, Manish, Mohammad Rizwan S., Khiem T., Sekhar P.R., Asrar B. M. 2014. Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(7): 1126-1167.
- Moldoveanu, B. *et al.* 2009. Inflammatory Mechanisms in the Lung. *Journal of Inflammation Research*. 2: 1-11.
- Musthofa, Daris (penerjemah). 2016. *Tafsir Al-Madinah Al-Munawwarah*. Madinah: Markaz Ta'dzhim Al-Qur'an Al-Karim.
- Nasution, Ade Saputra, Bambang Wirjatmadi dan Merryana Adriani. 2016. Efek Preventif Pemberian Ekstrak Kulit Buah Naga Berdaging Super Merah (*Hylocereus Costaricensis*) Terhadap Malondialdehid Tikus Wistar yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 29(1): 21-24.
- Nelawati, A'yunin, Soemardini dan Bambang Prijadi. Pengaruh Pemberian Vitamin E pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Bunting yang Dipapar Asap Rokok Subakut terhadap Berat Badan Bayi Lahir Aterm. *Majalah Kesehatan FK UB*, 3(2): 76-85
- Nimse, Satish Balasaheb dan Dilipkumar Pal. 2015. Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms. *The Royal Societsy of Chemistry*, 5: 27986-28006
- Nurjanah, Lily Kresnowati dab Abdun Mufid. 2014. Gangguan Fungsi Paru Dan Kadar Cotinine Pada Urin Karyawan Yang Terpapar Asap Rokok Orang Lain. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 10(1): 43-52

- O'Shea, John J. *et al.* 2015. The JAK-STAT Pathway: Impact on Human Disease and Therapeutic Intervention. *Annu Rev Med.* 66: 311-328
- Pahriyani, Ani, Hadi Sunaryo, dan Desti Kurnia. 2017. Aktivitas Ekstrak Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack) sebagai Hepatoprotektor pada Tikus yang Terpapar Asap Rokok. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(1): 18-25.
- Panche, A. N., A. D. Diwan and S. R. Chandra. Flavonoids: an Overview. *Journal of Nutritional Science*, 2016, 5(47): 1-15.
- Papathanasiou, George, Anastasia Mamali, Spyridon Papafloratos, Efthimia Zerva. Effects of Smoking on Cardiovascular Function: The Role of Nicotine and Carbon Monoxide. *Health Science Journal*, 2014, 8(2): 274-290.
- Parwata, I Made Oka Adi. 2015. *Antioksidan*. Badung: Universitas Udayana.
- Permata, Fajar Shodiq dan Ahmad Febrianto. 2019. Salep Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylicereus costaricensis*) Menurunkan Ekspresi Interleukin-2 (IL-2) dan Jumlah Sel Radang Mononuklear terhadap Luka Terbuka di Kulit Tikus Strain Wistar. *Vet Bio Clin J*, 1(2): 24-34.
- Petrescu, Florin, Sebastian Cosmin Voican, Isabela Silosi. Tumor Necrosis Faktor- α Serum Levels in Healthy Smokers and Nonsmokers. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 2010, 5: 217-222.
- Phaniendra, Alugoju, Dinesh Babu Jestadi and Latha Periyasamy. 2014. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1): 11-26.
- Prasonto, Djuned, Eriska Riyanti dan Meirina Gartika. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*). *ODONTO Dental Journal*, 2017, 4(2): 122-128.
- Prianugraha, Aditya Reza. 2018. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pepaya Terhadap Kadar Malondialdehida Plasma Darah Tikus Studi Eksperimental Tikus Jantan Galur Wistar Yang Dipapar Asap Rokok Kretek*. Skripsi, Fakultas Kedokteran. Semarang: Universitas Sultan Agung Semarang.
- Ramadhani, Dwi *et al.* 2012. Analisis Serta Stitching Citra Imunohistokimia Mib-1 Dengan Immunoratio Dan Perangkat Lunak Nish Element D 2.30. *Lokakarya Komputasi dalam Sains dan Teknologi Nuklir*: 187-196.
- Ratulangi, Maria R. J., Hedison Polii dan Herlina I. S. W. Profil TNF- α Sesaat setelah Melakukan Senam Zumba. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 49(1): 76-80.
- Rohmani, Afiana, Noor Yazid dan Aulia Ajeng Rahmawati. 2018. Rokok Elektrik dan Rokok Konvensional Merusak Alveolus Paru. *Prosiding Seminar Nasional Unimus*. Vol. 1: 27-32.
- Rohmaniyah, Makhshushotul. Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* Brogn) Menggunakan

- Metode DPPH Serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. Skripsi, Fakultas Sains dan Teknologi. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
- Saboori et al. 2015. Effect of Vitamin E Supplementation on Serum C-reactive Protein Level: A Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *European Journal of Clinical Nutrition*, 69: 867–873.
- Salawati, Liza. Hubungan Merokok dengan Derajat Penyakit Paru Obstruksi Kronik. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 2016, 16(3):165-169.
- Sanlier, N., & Unusan, N. 2007. The Relationship Between Body Weight and Stress and Nutritional Status in Turkish Women. *Pakistan Journal of Nutrition*, 6(4): 339-344.
- Santoso, Yohanes Ivan Kristian. 2013. *Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum basilicum L.) Topikal pada Edema Punggung Mencit Betina Galur Swiss Terinduksi Karagenin*. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Santos-Sánchez, Norma Francenia, Raúl Salas-Coronado, Claudia Villanueva-Cañongo dan Beatriz Hernández-Carlos. 2019. Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.85270. Available from: <https://www.intechopen.com/books/antioxidants/antioxidant-compounds-and-their-antioxidant-mechanism>
- Saputri, Fadlina Chany dan Rita Zahara. 2016. Uji Aktivitas Anti-Inflamasi Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) pada Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Karagenan. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(3): 107-119.
- Setyo, Aditya Rizqi Abdi. 2016. *Uji Aktivitas Antiinflamasi Isolat Alkaloid Lada (Piper Nigrum L.) pada Tikus Galur Wistar: Studi In Vivo Dan In Silico*. Skripsi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Yogyakarta: UMY Yogyakarta
- Silalahi, Marina. 2018. Minyak Essensial pada Kemangi (*Ocimum basilicum* L.). *Jurnal Pro-Life*, 5(2): 557-566.
- Sirait, Reynold Christian. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Kadar MDA Serum Tikus Sprague Dawley Setelah Diberikan Paparan Asap Rokok. Skripsi, Fakultas Kedokteran. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Strzelak, Agnieszka, Aleksandra R., Aleksander A., Wojciech F. 2018. Tobacco Smoke Induces and Alters Immune Responses in the Lung Triggering Inflammation, Allergy, Asthma and Other Lung Diseases: A Mechanistic Review. *Int J Environ Res Public Health*, 15(5): 1033-1068.
- Sujari, Mohamad Rohkim. 2017. *Identifikasi Faktor Yang Melatarbelakangi Ketidakpatuhan Penggunaan Smoking Area Di Alun-Alun Kota Batu*. Skripsi, Fakultas Ilmu Kesehatan. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.

- Sukmawati, Rachmat Kosman dan Nurwasi Saharuddin. 2018. Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Bacilicum* L.) dan Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp) sebagai Antiinflamasi pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Jantan yang Diinduksi Karagen. *As-Syifaa*, 10(01): 1-10.
- Supit, Ivander A, Damajanty H. C. Pangemanan dan Sylvia R. Marunduh. 2015. Profil Tumor Necrosis Factor (TNF- α) Berdasarkan Indeks Massa Tubuh (IMT) Pada Mahasiswa Fakultas Kedokteran Unsrat Angkatan 2014. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 3(2): 640-643.
- Suryadinata, Rivan Virlando. Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Proses Inflamasi pada Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK). *Amerta Nutrition*, 2018, 2(4): 317-324.
- Suryantisa, Intan. 2018. *Situasi Umum Konsumsi Tembakau di Indonesia*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI.
- Tahira, Riffat *et al.* 2013. Variation in Bioactive Compounds in Different Plant Parts of Lemon Basil (*Ocimum Basilicum* Var *Citriodorum*). *International Journal of Innovation in Science and Mathematics*, 1(1): 33-36.
- Team Markaz Tafsir. *Tafsir Al-Mukhtashar*. Riyadh: Markaz Tafsir Lid Diraasatil Qur'aniyyah.
- Tirtosastro, Samsuri dan A. S. Murdiyati. 2010. *Kandungan Kimia Tembakau dan Rokok*. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*, 2(1): 33-43.
- Trimawati dan Abdul Wakhid. 2018. Studi Deskriptif Perilaku *Emotional Eating* Mahasiswa yang Mengerjakan Skripsi di Universitas Ngudi Waluyo Ungaran. *Jurnal SMART Keperawatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes)*, 5(1): 52:60
- Tuominen, Vilppu J *et al.* 2010. Immunoratio: A Publicly Available Web Application for Quantitative Image Analysis of Estrogen Receptor (ER), Progesterone Receptor (PR), and Ki-67. *Breast Cancer Research*, 12(R56)
- Turner, Mark D., Belinda Nedjai, Tara Hurst and Daniel J. Pennington. 2014. Cytokines and Chemokines: At the Crossroads of Cell Signalling and Inflammatory Disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1843(11): 2563-2582.
- Valvanidis, Athanasios, Thomais Vlachogianni dan Konstantinos Fiotakis. 2009. Tobacco Smoke: Involvement of Reactive Oxygen Species and Stable Free Radicals in Mechanisms of Oxidative Damage, Carcinogenesis and Synergistic Effects with Other Respirable Particles. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 6:445-462. doi:10.3390/ijerph6020445
- Wardhani, Dyah Kusumaning. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Occimum cannum*) terhadap Ekspresi Tumor Nekrosis Faktor Alfa (TNF- α) dan Gambaran Histopatologi Bronkus pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Model Asma yang Diinduksi Ovalbumin (OVA) dan

- Lipopolisakarida (LPS). Skripsi, Fakultas Kedokteran Hewan. Malang: Universitas Brawijaya.
- Widayati, Eni. 2012. Oksidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioxidant. *Majalah Ilmiah Sultan Agung*, 50(128).
- World Health Organization, Regional Office for South-East Asia. 2015. *Global Youth Tobacco Survey (GYTS) Indonesia Report 2014*. New Delhi: WHO-SEARO
- Wulandari, Ulfa Septiana et al. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Anggur (*Vitis vinifera*) terhadap Viabilitas Spermatozoa Dan Ekspresi Tumor Necrosis Faktor Alpha (TNF- α) Testis Pada Hewan Model Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diberi Paparan Asap Rokok. Malang: FKH UB.
- Wulansari, Anisa Nur. Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinum varingiaefolium*) sebagai Antioksidan Alami: Review. *Farmaka Suplemen*, 2018, 16(2): 419-429.
- Yamada, Mitsuhiro, Naoya Fujino dan Masakazu Ichinose. 2016. Inflammatory Responses in the Initiation of Lung Repair and Regeneration: Their Role in Stimulating Lung Resident Stem Cells. *Inflammation and Regeneration*, 36:15.
- Zahra, Salsabila dan Yoppi Iskandar. Review Artikel: Kandungan Senyawa Kimia dan Bioaktivitas *Ocimum Basilicum L.* *Farmaka*, 2017, 15(3): 143-152.

LAMPIRAN

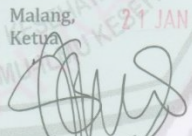
Lampiran 1. *Ethical Clearance* dari KEPK FKIK UIN Maliki Malang

	FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN Gedung Klinik UMMI It 2 Jalan Gajayana No. 50, Dinoyo, Kec Lowokwaru, Kota Malang E-mail: kepk.fkik@uin-malang.ac.id - Website : http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id
	KETERANGAN KELAIKAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE) No. 016/EC/KEPK-FKIK/2020

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG TELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :

Judul	Pengaruh Pemberian ekstrak etanol Daun Kemangi (<i>Ocimum citriodorum</i>) Terhadap Kadar SOD, Kadar MDA, Kadar TNF- α , Kadar Hemoglobin, Jumlah dan Morfologi Eritrosit, Jumlah Neutrofil, serta Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar Jantan Setelah Paparan Asap Rokok
Peneliti	- Shanaz Hanani Tazuyyun - Aldita Husna Violita - Taufiq Basuki Putra - Rithio Chandraca Islamy - Tiara Yudha Puspita - Safira dita Arviana
Unit / Lembaga	Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Tempat Penelitian	Materia Medica Batu, Laboratorium Hewan Coba, Laboratorium Histologi dan Laboratorium Fitokimia FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, Laboratorium Patologi Klinik dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Biomolekuler Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.

Mengetahui, Dekan FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang  Prof. Dr. dr. Bambang Fardjianto, SpB. SpBP-RE(K) NIP. 2016120114115	Malang, Ketua  dr. Avin Azzur F, MBIomed NIP. 19800203200912 2 002
--	--

Keterangan:

- Keterangan Laik Etik Ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan.
- Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk *soft copy*.
- Apabila ada perubahan protokol dan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 2. Hasil Determinasi Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*)



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/035A/102.7/2020
 Sifat : Biasa
 Perihal : Determinasi Tumbuhan Kemangi

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : SAFIRA DITA ARVIANA
 NIM : 16910048
 Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
 UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tumbuhan kemangi

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpenyuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Lamiales
Suku	: Lamiaceae
Marga	: <i>Ocimum</i>
Jenis	: <i>Ocimum citriodorum</i> Sims.
Sinonim	: <i>Ocimum africanum</i> Lour., <i>Ocimum citriodorum</i>
Nama Daerah	: Kemangi, surung (Sunda), lampus
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-16a-239b-243b-244b-245b-249b-250b-266b-267b-273b-276b-278b-279b-282a-1a-2b-4b-6b-7b-8

2. Morfologi : Habitus: Terna, tinggi 60-70cm. Batang: Halus dengan daun pada setiap ruas. Daun: Hijau muda, bentuk oval, panjang 3-4cm, berambut halus di permukaan bagian bawah, aromanya khas, kuat namun lembut dengan sentuhan aroma lemon. Bunga: Putih, kurang menarik, terdapat dalam tandan, bila disusutkan berbunga, maka pertumbuhan daun lebih sedikit dan tanaman cenderung cepat memita dan mati.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

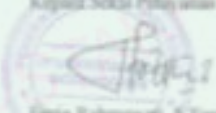
4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 07 Januari 2020
 An. Kepala UPT Lab. Herbal Materia Medica Batu
 Kepala Seksi Pelayanan Laboratorium Herbal,


 Endang Rahmawati, S.Parm., Apt.
 NIP 19900430 291413 2 002

Lampiran 3. Hasil Pemeriksaan TNF- α



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
LABORATORIUM ILMU FAAL
 Jalan Veteran – Kampus Sumbersari Malang – 65145
 Telp. (0341) 569117, 567192, 551611 - Psw.213 – Fax. (62) (0341) 564755 E-mail :Skr_fkub@fk.unibraw.ac.id

SURAT KETERANGAN HASIL UJI
 No. **496** /UN10.7/UJI/2020

Nama Peneliti : Tiara
 Kode Sampel : S-00730
 NIP / NIM :
 Sampel : Preparat
 Tanggal Penerimaan : 12 April 2020
 Volume Sampel : -

Sehubungan dengan pemeriksaan terhadap sampel uji Saudara, maka berikut kami sampaikan hasil pemeriksaan seperti sebagai berikut :

KELOMPOK	ULANGAN	DATA IMMUNORATIO (%)				
		1	2	3	4	5
Kontrol Normal	1	20.19	34.22	13.36	29.16	6.49
	2	37.41	37.41	14.55	22.39	14.5
	3	14.70	36.88	17.06	39.30	19.85
	4	22.64	37.41	10.72	21.44	16.63
Kontrol Negatif	1	87.94	41.06	17.15	89.33	65.32
	2	19.97	29.70	71.99	21.44	62.71
	3	86.88	57.66	98.58	66.01	75.73
	4	76.17	44.26	72.70	71.99	83.97
Kontrol Positif	1	44.01	74.47	90.21	50.18	16.14
	2	44.89	71.28	86.38	55.28	13.71
	3	56.83	89.36	85.73	60.74	21.77
	4	92.40	68.19	72.70	57.43	31.25
P1	1	14.97	44.89	23.51	62.41	26.33
	2	48.85	85.53	25.10	27.36	34.68
	3	48.05	79.96	67.88	62.31	37.29
	4	63.48	81.06	70.25	68.44	24.27
P2	1	44.89	80.35	75.18	63.48	16.03
	2	34.62	55.64	50.02	42.88	18.22
	3	41.01	73.39	46.58	50.15	18.22
	4	39.26	82.01	46.99	53.57	22.04
P3	1	40.62	68.37	46.45	50.02	13.39
	2	38.88	72.33	48.12	51.04	10.21
	3	23.26	21.90	31.55	27.80	27.32
	4	23.04	23.26	26.95	28.14	18.30

Demikian hasil pemeriksaan ini. Hasil pemeriksaan ini sesuai dengan SOP yang tercantum dalam Kriteria Pelayanan Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan sesuai dengan prosedur kit uji yang digunakan selama analisis.

Dikeluarkan di : Malang
 Pada tanggal : 27 April 2020
 Koordinator Riset
 Laboratorium Ilmu Faal
 Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya


 Satuman, S.Si, MKes
 NIK. 20055077706181001

Lampiran 4. Hasil Pengukuran Berat Badan Sampel Hewan Coba

1. Berat Badan Tikus Masa Adaptasi (Minggu 1)

Kelompok	No	Tanggal								Nilai Rata
		10/03	11/03	12/03	13/03	14/03	15/03	16/03	17/03	
Kel. 1	1	185	185	196	197	193	195	189	193	191
P1	2	193	189	199	195	197	204	197	199	196
	3	167	167	168	171	170	178	175	177	171
	4	244	245	255	251	254	261	257	260	253
	5	198	199	207	202	203	209	207	211	204
Kel. 2	1	-	220	227	228	233	234	229	239	230
P2	2	198	198	204	202	205	211	205	213	204
	3	204	206	209	203	208	213	206	215	208
	4	224	225	230	225	230	230	223	230	227
	5	-	162	167	170	171	175	172	171	169
Kel. 3	1	207	207	213	208	208	214	214	217	211
P3	2	194	195	191	190	194	198	193	194	193
	3	249	251	256	256	253	263	262	268	257
	4	184	185	188	182	182	192	189	189	186
	5	257	262	264	264	265	271	265	269	264
Kel. 4	1	195	196	196	197	202	208	198	204	199
K+	2	-	243	247	242	248	252	245	248	246
	3	-	264	272	268	270	276	266	270	269
	4	-	185	185	183	183	188	184	187	185
	5	-	248	243	246	251	250	251	250	248
Kel. 5	1	-	201	204	199	205	211	207	210	205
K-	2	-	200	198	196	200	201	198	200	199
	3	-	198	197	194	201	210	201	206	201
	4	-	211	217	214	216	222	214	219	216
	5	-	199	199	196	199	202	193	197	197
Kel. 6	1	155	157	160	162	165	168	164	162	161
N	2	157	162	164	165	170	175	173	175	167
	3	166	167	169	169	169	174	171	170	169
	4	203	202	204	203	196	205	200	201	201
	5	-	170	173	176	179	183	175	183	177

2. Berat Badan Tikus Masa Perlakuan (Minggu 2-3)

Kelompok	No.	Tanggal						
		18/03	19/03	20/03	21/03	22/03	23/03	24/03
Kel. 1	1	197	197	196	199	196	-	197
P1	2	203	208	204	207	206	-	206
	3	176	180	174	176	177	-	181
	4	267	269	261	274	268	-	268
	5	211	209	205	201	KO	KO	KO
Kel. 2	1	230	227	224	223	226	-	225
P2	2	217	217	210	214	211	-	208
	3	220	219	213	219	217	-	220
	4	241	243	234	228	228	-	226
	5	169	182	176	180	184	-	184
Kel. 3	1	220	218	219	219	218	224	219
P3	2	203	198	198	198	200	199	195
	3	273	273	276	275	274	273	265
	4	190	188	178	180	174	181	179
	5	271	274	277	275	267	282	276
Kel. 4	1	201	203	202	205	207	208	207
K+	2	256	256	251	256	256	250	247
	3	280	283	277	279	281	278	272
	4	193	193	189	195	194	191	188
	5	253	256	254	260	261	267	268
Kel. 5	1	202	205	207	209	204	211	201
K-	2	200	200	204	203	207	207	202
	3	218	212	215	219	219	218	213
	4	226	228	224	225	233	231	221
	5	207	202	197	201	206	207	198
Kel. 6	1	165	166	165	173	178		177
N	2	183	183	186	186	187	189	183
	3	173	175	171	173	173	177	174
	4	202	201	202	197	197	203	202
	5	194	202	193	186	197	210	200

Kelompok	No	Tanggal							Nilai Rata
		25/03	26/03	27/03	28/03	29/03	30/03	31/03	
Kel. 1	1	191	196	-	-	180	175	177	191
P1	2	218	213	-	-	221	223	213	211
	3	187	190	-	-	188	192	191	182
	4	274	274	-	-	274	269	272	270
	5	KO	KO	KO	KO	KO	KO	KO	
Kel. 2	1	229	228	237	-	234	233	233	229
P2	2	215	212	211	-	210	212	210	212
	3	224	220	228	-	225	227	226	221
	4	232	228	231	-	235	228	230	232
	5	196	186	192	-	198	189	195	185
Kel. 3	1	216	210	-	217	216	218	220	217
P3	2	193	189	-	194	196	197	204	196
	3	256	246	-	243	242	232	228	256
	4	173	168	-	166	170	168	176	176
	5	277	267	-	267	264	268	274	271
Kel. 4	1	215	206	221	210	214	210	219	209
K+	2	242	234	238	230	233	230	239	244
	3	277	269	280	274	277	272	276	276
	4	185	180	185	180	184	185	190	188
	5	272	266	278	271	268	264	272	265
Kel. 5	1	209	201	209	206	211	209	213	206
K-	2	208	202	208	210	213	216	216	206
	3	220	216	218	218	225	227	226	218
	4	220	212	222	222	231	232	230	225
	5	191	184	192	193	202	202	204	199
Kel. 6	1	177	176	180	182	185	184	182	176
N	2	190	190	193	191	193	195	196	188
	3	177	180	184	183	191	185	188	178
	4	203	203	204	199	204	209	216	203
	5	205	207	212	206	214	209	204	202

Lampiran 5. Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*) Terhadap Ekspresi TNF- α Tikus Setelah Paparan Asap Rokok

1. Analisis Deskriptif

Descriptives

kadar TNF- α

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Normal	4	23.3155	2.45618	1.22809	19.4072	27.2238	20.68	25.56
Pemberian Aquadest	4	62.0280	15.52296	7.76148	37.3275	86.7285	41.16	76.97
Vitamin E 1,44 mg/hari	4	59.1475	5.23157	2.61579	50.8229	67.4721	54.31	64.39
Ekstrak daun kemangi 50 mg/kgBB	4	49.8400	12.77538	6.38769	29.5115	70.1685	34.42	61.50
Ekstrak daun kemangi 100 mg/kgBB	4	47.7265	6.53894	3.26947	37.3216	58.1314	40.28	55.99
Ekstrak daun kemangi 200 mg/kgBB	4	34.5500	10.89185	5.44592	17.2186	51.8814	23.95	44.12
Total	24	46.1013	16.37777	3.34310	39.1855	53.0170	20.68	76.97

2. Asumsi Normalitas

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kadar TNF- α	Normal	.285	4	.	.853	4	.236
	Pemberian Aquadest	.202	4	.	.951	4	.721
	Vitamin E 1,44 mg/hari	.286	4	.	.828	4	.162
	Ekstrak daun kemangi 50 mg/kgBB	.266	4	.	.906	4	.463
	Ekstrak daun kemangi 100 mg/kgBB	.186	4	.	.992	4	.967
	Ekstrak daun kemangi 200 mg/kgBB	.301	4	.	.789	4	.084

a. Lilliefors Significance Correction

3. Asumsi Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

kadar TNF- α

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.432	5	18	.024

4. Uji One Way ANOVA

ANOVA

kadar TNF- α

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4372.430	5	874.486	8.760	.000
Within Groups	1796.894	18	99.827		
Total	6169.324	23			

5. Uji lanjutan Post Hoc Tamhane

Multiple Comparisons

Dependent Variable: kadar TNF- α
Tamhane

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Pemberian Aquadest	-38.71250	7.85804	.194	-101.5357	24.1107
	Vitamin E 1,44 mg/hari	-35.83200*	2.88973	.003	-52.8328	-18.8312
	Ekstrak daun kemangi 50 mg/kgBB	-26.52450	6.50467	.297	-77.1376	24.0886
	Ekstrak daun kemangi 100 mg/kgBB	-24.41100*	3.49251	.038	-47.0028	-1.8192
	Ekstrak daun kemangi 200 mg/kgBB	-11.23450	5.58268	.874	-53.3990	30.9300
Pemberian Aquadest	Normal	38.71250	7.85804	.194	-24.1107	101.5357
	Vitamin E 1,44 mg/hari	2.88050	8.19041	1.000	-52.3182	58.0792
	Ekstrak daun kemangi 50 mg/kgBB	12.18800	10.05202	.992	-35.7524	60.1284
	Ekstrak daun kemangi 100 mg/kgBB	14.30150	8.42199	.932	-37.6570	66.2600
	Ekstrak daun kemangi 200 mg/kgBB	27.47800	9.48149	.377	-19.7311	74.6871
Vitamin E 1,44 mg/hari	Normal	35.83200*	2.88973	.003	18.8312	52.8328
	Pemberian Aquadest	-2.88050	8.19041	1.000	-58.0792	52.3182
	Ekstrak daun kemangi 50 mg/kgBB	9.30750	6.90253	.986	-33.7912	52.4062
	Ekstrak daun kemangi 100 mg/kgBB	11.42100	4.18710	.423	-8.6693	31.5113
	Ekstrak daun kemangi 200 mg/kgBB	24.59750	6.04156	.179	-10.5862	59.7812
	Normal	26.52450	6.50467	.297	-24.0886	77.1376

Ekstrak daun kemangi 50 mg/kgBB	Pemberian Aquadest	-12.18800	10.05202	.992	-60.1284	35.7524
	Vitamin E 1,44 mg/hari	-9.30750	6.90253	.986	-52.4062	33.7912
	Ekstrak daun kemangi 100 mg/kgBB	2.11350	7.17579	1.000	-38.5035	42.7305
	Ekstrak daun kemangi 200 mg/kgBB	15.29000	8.39408	.852	-24.4844	55.0644
Ekstrak daun kemangi 100 mg/kgBB	Normal	24.41100*	3.49251	.038	1.8192	47.0028
	Pemberian Aquadest	-14.30150	8.42199	.932	-66.2600	37.6570
	Vitamin E 1,44 mg/hari	-11.42100	4.18710	.423	-31.5113	8.6693
	Ekstrak daun kemangi 50 mg/kgBB	-2.11350	7.17579	1.000	-42.7305	38.5035
	Ekstrak daun kemangi 200 mg/kgBB	13.17650	6.35197	.771	-20.3679	46.7209
Ekstrak daun kemangi 200 mg/kgBB	Normal	11.23450	5.58268	.874	-30.9300	53.3990
	Pemberian Aquadest	-27.47800	9.48149	.377	-74.6871	19.7311
	Vitamin E 1,44 mg/hari	-24.59750	6.04156	.179	-59.7812	10.5862
	Ekstrak daun kemangi 50 mg/kgBB	-15.29000	8.39408	.852	-55.0644	24.4844
	Ekstrak daun kemangi 100 mg/kgBB	-13.17650	6.35197	.771	-46.7209	20.3679

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

6. Uji Korelasi *Pearson Product Moment*

Variabel Bebas	Variabel Terikat	Sig	r
Dosis Ekstrak Kemangi	Ekspresi TNF- α	0,044	-0,588

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian



Proses Pengeringan Daun Kemangi



Hasil Ekstrak Cair Daun Kemangi



Proses Penyaringan Ekstrak Cair Daun Kemangi



Proses Penguapan Etanol Dengan Rotary Evaporator



Hasil Ekstrak Kental Daun Kemangi



Pemeliharaan tikus dalam kandang dan diberi pakan dan minum



Proses Pengasapan Kelompok Tikus
Dalam *Smoking Chamber*



Proses Pembuatan Larutan NaCMC
0,5%

