

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum  
Citriodorum*) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL TIKUS JANTAN  
YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

**SKRIPSI**

Oleh:

**RITHIO CHANDRACA ISLAMY**

**NIM. 16910040**



**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 JUMLAH NEUTROFIL  
TIKUS JANTAN YANG DIPAPAR 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:  
RITHIO CHANDRACA ISLAMY  
NIM. 16910040**

**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 JUMLAH NEUTROFIL  
TIKUS JANTAN YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

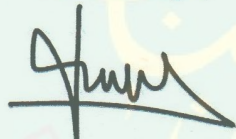
SKRIPSI

Oleh:

**RITHIO CHANDRACA ISLAMY**  
**NIM. 16910040**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:  
Tanggal: 25 Juni 2020

Pembimbing I,



dr. Riskiyah, MMRS  
NIP. 19850506 20170101 2 118

Pembimbing II,



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

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Nurlaili Susanti, M. Biomed  
NIP. 19831024 201 1012 007

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KEMANGI  
(*Ocimum Citriodorum*) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL  
TIKUS JANTAN YANG DIPAPAR ASAP ROKOK**

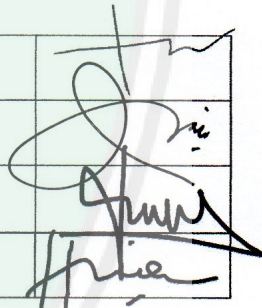
**SKRIPSI**

Oleh:

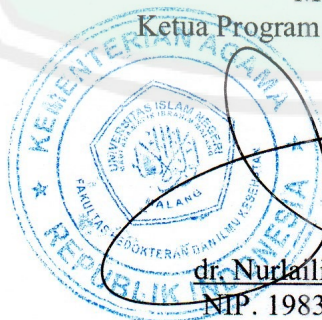
**RITHIO CHANDRACA ISLAMY**  
**NIM. 16910040**

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

Tanggal: 30 Juni 2020

Penguji Utama	<u>dr. Ana Rahmawati, M. Biomed</u> NIP. 197412032009122001	
Ketua Penguji	<u>dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed</u> NIP. 19831024 201 1012 007	
Sekretaris Penguji	<u>dr. Riskiyah, MMRS</u> NIP. 19850506 20170101 2 118	
Penguji Integrasi Keislaman	<u>drg. Anik Listiyana, M.Biomed</u> NIP. 198008052009122001	

Mengesahkan,  
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed  
NIP. 19831024 201 1012 007

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rithio Chandraca Islamy  
NIM : 16910040  
Program Studi : Pendidikan Dokter  
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya 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 di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 10 Juni 2020

Yang membuat pernyataan,



Rithio Chandraca Islamy  
NIM. 16910040

## KATA PENGANTAR

*Assalamuálaikum Wr. Wb.*

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Selanjutnya penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu hingga terselesainya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. DR. H. Abd. Haris, M. Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
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 FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan dosen pembimbing skripsi yang telah banyak memberikan ilmu, bimbingan dan arahan bagi penulis.
4. dr. Riskiyah, MMRS selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan ilmu, bimbingan dan arahan selama mengerjakan skripsi.

5. dr. Ana Rahmawati, M. Biomed selaku penguji utama proposal yang banyak memberikan ilmu yang berharga.
6. drg. Anik Listiyana, M.Biomed selaku penguji integrasi Islam yang telah memberi kritik dan saran yang membangun.
7. Segenap sivitas akademika Program Studi Pendidikan Dokter, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segala ilmu dan bimbingannya.
8. Ayahanda dan Ibunda tercinta yang selalu senantiasa memberikan doa, restu dan semangat kepada penulis dalam menuntut ilmu sampai terselesainya skripsi ini.
9. Teman-teman NEONATUS 2016 yang selalu menyemangati dan menjadi tempat berbagi canda dan tawa selama hari-hari menuntut ilmu di FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan 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.*

Batu, 10 Juni 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMBANG, SIMBOL, DAN SINGKATAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>xvi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>i</b>
<b>BAB I</b> .....	<b>1</b>
<b>PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah Penelitian.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat Bagi Ilmu Kedokteran.....	6
1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat.....	6
<b>BAB II</b> .....	<b>8</b>
<b>TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>8</b>
2.1 Rokok.....	8
2.1.1 Definisi Rokok.....	8
2.1.2 Jenis Rokok.....	9
2.1.3 Kandungan Kimia pada Asap Rokok.....	9
2.2 Stres Oksidatif.....	13
2.2.1 Definisi Stres Oksidatif.....	13
2.2.2 Mekanisme Terjadinya Kerusakan Sel Akibat Stres Oksidatif.....	13
2.2.3 Mekanisme Kerja Antioksidan.....	15
2.3 Inflamasi.....	16
2.3.1 Definisi Inflamasi.....	16
2.3.2 Etiologi Inflamasi.....	17
2.3.3 Mekanisme Terjadinya Respon Inflamasi.....	18

2.3.4	Penanda Inflamasi .....	19
2.3.5	Jenis Sel Dalam Respon Inflamasi .....	22
2.3.6	Resolusi Peradangan.....	23
2.4	Inflamasi yang Diinduksi Asap Rokok.....	24
2.5	Neutrofil.....	27
2.5.1	Morfologi Neutrofil.....	29
2.5.2	Metode Pengukuran Neutrofil.....	30
2.5.3	Jumlah Normal Neutrofil.....	34
2.6	Hewan Coba Model Paparan Asap Rokok.....	35
2.7	Kemangi ( <i>Ocimum Citriodorum</i> ).....	38
2.6.1	Klasifikasi Kemangi ( <i>Ocimum Citriodorum</i> ) .....	38
2.6.2	Morfologi Kemangi ( <i>Ocimum Citriodorum</i> ).....	39
2.6.3	Kandungan Kemangi ( <i>Ocimum Citriodorum</i> ) .....	40
<b>BAB III.....</b>		<b>34</b>
<b>KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....</b>		<b>34</b>
3.1	Kerangka Konsep .....	34
3.2	Hipotesis Penelitian.....	36
<b>BAB IV.....</b>		<b>37</b>
<b>METODE PENELITIAN.....</b>		<b>37</b>
4.1	Desain Penelitian.....	37
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	37
4.2.1	Tempat Penelitian.....	37
4.2.2	Waktu Penelitian.....	38
4.3	Sampel Penelitian.....	38
4.4	Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	40
4.4.1	Kriteria Inklusi .....	40
4.4.2	Kriteria Eksklusi.....	41
4.5	Alat dan Bahan .....	41
4.5.1	Alat.....	41
4.5.2	Bahan.....	42
4.6	Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional.....	43
4.6.1	Identifikasi Variabel.....	43
4.6.2	Definisi Operasional.....	43
4.7	Prosedur Penelitian.....	44
4.7.1	Persiapan Hewan Coba.....	44
4.7.2	Penyediaan Bahan Uji .....	45

4.7.3	Perlakuan Hewan Coba .....	48
4.7.4	Pengambilan Sampel Darah.....	49
4.7.5	Perhitungan Jumlah Neutrofil dengan Hematology Analyzer.....	50
4.8	Alur Penelitian.....	51
4.9	Analisis Data .....	52
4.10	Etik Penelitian.....	52
<b>BAB V .....</b>		<b>53</b>
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>53</b>
5.1	Hasil Penelitian .....	53
5.1.1	Berat Badan Tikus Selama Perlakuan .....	53
5.1.2	Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum Citriodorum) Terhadap Jumlah neutrofil pada Tikus yang Dipapar Asap Rokok .....	58
5.2	Pembahasan.....	65
5.2.1	Pembahasan Analisis Data SPSS .....	66
5.2.2	Pembahasan Integrasi Penelitian dengan Kajian dalam Alquran dan Hadis 72 .....	72
<b>BAB VI.....</b>		<b>79</b>
<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>		<b>79</b>
6.1	Kesimpulan .....	79
6.2	Saran .....	79
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>80</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>89</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1</b> Komponen kimia utama asap <i>Mainstream</i> .....	11
<b>Tabel 2.2</b> Komponen kimia utama asap <i>Sidestream</i> .....	12
<b>Tabel 2.3</b> Sitokin dan fungsinya .....	20
<b>Tabel 2.4</b> Jumlah neutrofil normal manusia .....	30
<b>Tabel 5.1</b> Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk .....	56
<b>Tabel 5.2</b> Uji Homogenitas <i>Levene Test</i> .....	56
<b>Tabel 5.3</b> Hasil Uji Beda One Way Anova .....	57
<b>Tabel 5.4</b> Hasil Pengukuran Jumlah Neutrofil .....	58
<b>Tabel 5.5</b> Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk .....	61
<b>Tabel 5.6</b> Uji Homogenitas <i>Levene Test</i> .....	61
<b>Tabel 5.7</b> Hasil Uji Beda One Way Anova .....	63
<b>Tabel 5.8</b> Hasil Uji <i>Post Hoc LSD</i> .....	64

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Mekanisme peredaman radikal bebas oleh senyawa fenolik.....	15
<b>Gambar 2.2</b> Mekanisme terjadinya respon inflamasi.....	17
<b>Gambar 2.3</b> Mekanisme Inflamasi yang Diinduksi Asap Rokok .....	25
<b>Gambar 2.4</b> Neutrofil .....	25
<b>Gambar 2.5</b> Dua jenis granul pada neutrofil.....	26
<b>Gambar 2.6</b> Bilik hitung Neubauer yang telah disempurnakan.....	27
<b>Gambar 2.7</b> Pemaparan asap rokok dengan smoking chamber .....	33
<b>Gambar 2.8</b> Kemangi ( <i>Ocimum Citriodorum</i> ).....	35
<b>Gambar 2.9</b> Kerangka C <sub>6</sub> – C <sub>3</sub> – C <sub>6</sub> flavonoid.....	37
<b>Gambar 5.1</b> Grafik harian berat badan tikus selama perlakuan.....	53
<b>Gambar 5.2</b> Grafik rata-rata berat badan tikus selama perlakuan.....	54
<b>Gambar 5.3</b> Grafik pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi ( <i>O. citriodorum</i> ) terhadap jumlah neutrofil .....	59

## DAFTAR LAMBANG, SIMBOL, DAN SINGKATAN

### SINGKATAN

ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
CO	: <i>Carbon Monoxyde</i>
COX	: <i>Cyclooxygenase</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Adcid</i>
DPPH	: <i>2,2-difenil-1-pikrillhidrazil</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ETS	: <i>Environmental Tobacco Smoke</i>
GPx	: <i>Glutathion peroxidase</i>
IL -10	: <i>Interleukin-10</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IL-12	: <i>Interleukin-12</i>
IL-1 $\beta$	: <i>Interleukin-1<math>\beta</math></i>
IL-4	: <i>Interleukin-4</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IL-8	: <i>Interleukin-8</i>
IU	: <i>International unit</i>
I $\kappa$ B	: <i>kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
LDL	: <i>Low density lipoprotein</i>
LSD	: <i>Least significance different</i>
MDA	: <i>Malondialdehida</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NF- $\kappa$ B	: <i>Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>

NO	: <i>Nitric Oxide</i>
NRF2	: <i>Nuclear factor erythroid 2-relates factor 2</i>
PAMPs	: <i>Pathogen Associated Molecular Patterns</i>
PPM	: <i>Parts Per Million</i>
PPOK	: <i>Penyakit paru obstruktif kronik</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SKM	: <i>Sigaret kretek mesin</i>
SKT	: <i>Sigaret kretek tangan</i>
SOD	: <i>Superoksida dismutase</i>
SPSS	: <i>Statistical program service solution</i>
TGF	: <i>Transforming Growth Factor</i>
TGF- $\beta$	: <i>Transforming Growth Factor-<math>\beta</math></i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Faktor-<math>\alpha</math></i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

**LAMBANG**

$\alpha$  : *Alpha*

$\beta$  : *Beta*



## ABSTRAK

**Islamy, Rithio Chandraca. 2020. PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN KEMANGI (*OCIMUM CITRIODORUM*) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL TIKUS JANTAN YANG DIPAPAR ASAP ROKOK. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.**

**Pembimbing: (I) dr. Riskiyah, MMRS (II) dr. Nurlaili Susanti, M. Biomed**

Radikal bebas yang berasal dari asap rokok dapat menyebabkan stress oksidatif yang mengakibatkan kerusakan sel dan menginduksi inflamasi. Daun kemangi (*Ocimum Citriodorum*) memiliki senyawa flavonoid yang dapat bekerja sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas sehingga efek dari stres oksidatif dapat dikurangi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun kemangi terhadap jumlah neutrofil tikus setelah paparan asap rokok. 30 ekor tikus jantan dibagi dalam 6 kelompok sebagai berikut: kelompok normal, 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. Paparan asap rokok diberikan selama 14 hari menggunakan 3 batang rokok kretek selama 1 jam setiap hari. Jumlah neutrofil dianalisa menggunakan uji *One-Way ANOVA*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada pemberian ekstrak daun kemangi sebagai antioksidan terhadap jumlah neutrofil dengan nilai signifikansi 0,010 ( $p < 0,05$ ). Dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) dapat berpengaruh dalam meminimalisir perubahan jumlah neutrofil tikus setelah paparan asap rokok. Dosis 200 mg/kgBB merupakan dosis yang mampu meminimalisir perubahan jumlah neutrofil secara signifikan dengan nilai signifikansi 0,040 ( $p < 0,05$ ).

**Kata kunci:** asap rokok, *Ocimum citriodorum*, radikal bebas, stress oksidatif, neutrofil

## ABSTRACT

**Islamy, Rithio Chandraca. 2020. THE EFFECT OF LEMON BASIL (*OCIMUM CITRIODORUM*) LEAVES EXTRACT TO RAT NEUTROPHIL COUNT 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. Riskiyah, MMRS (II) dr. Nurlaili Susanti, M. Biomed**

Free radicals derived from cigarette smoke can cause oxidative stress which results in cell damage and induces inflammation. Basil leaves (*Ocimum citriodorum*) have flavonoid compounds that can act as antioxidant by donating its hydrogen atoms to free radicals so so the effects of oxidative stress can be reduced. This study aims to determine the effect of basil leaf extract on the neutrophils count of mice after exposure to cigarette smoke. A total 30 male mice were divided into 6 groups as follows: normal group, positive control group with cigarette smoke exposure and given vitamin E therapy, negative control group (-) with cigarette smoke exposure without any therapy, treatment group with cigarette smoke exposure and lemon basil leaf extract therapy dose 50; 100; 200 mg / kg / day. Exposure to cigarette smoke were given for 14 days using 3 cigarettes for 1 hour every day. The neutrophil count were analyzed using One-Way ANOVA test. The results showed that there were significant differences on the use of basil leaf extract as antioxidant to the neutrophils count with p-value 0,010 ( $p < 0,05$ ). It can be concluded that lemon basil (*Ocimum Citriodorum*) leaf extract can influence in minimizing changes in the neutrophils count of mice after exposure to cigarette smoke. A dose of 200 mg / kgBB is a dose that is able to minimize changes in the neutrophils count significantly with p-value of 0.040 ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** cigarette smoke, *Ocimum citriodorum*, free radicals, oxidative stress, neutrophil

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Merokok merupakan masalah kesehatan utama di dunia maupun di Indonesia. Prevalensi perokok semakin meningkat dari tahun ke tahun terutama di negara berkembang di dunia. Organisasi Kesehatan Dunia WHO melaporkan hampir 6 juta kematian per tahun disebabkan oleh perilaku merokok. Angka ini diperkirakan akan meningkat menjadi lebih dari 8 juta kematian di tahun 2030 (WHO, 2015).

Indonesia merupakan negara dengan konsumsi rokok terbesar ketiga di dunia setelah China dan India yakni mencapai 260,8 milyar batang rokok pada tahun 2009 (Tobacco Control Support Centre, 2012). Berdasarkan data dari hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) yang diselenggarakan pada tahun 2013, penduduk Indonesia yang mengkonsumsi rokok mencapai 29,3% dari total seluruh penduduk Indonesia. Provinsi dengan prevalensi merokok tertinggi di Indonesia adalah Jawa Barat (32,7%) sedangkan prevalensi merokok terendah adalah Provinsi Papua (21,9%) (Kementrian Kesehatan Indonesia, 2018).

Asap rokok diketahui mengandung berbagai komponen kimia dengan jumlah mencapai 4800 (Tirtosastro dan Murdiyati, 2017). Komponen kimia tersebut terdiri dari 2 fase yakni fase gas dan fase tar. Fase gas terdiri dari akrolein, amonia piridin, asetaldehida, formaldehid, hidrasin, hidrogen sianida, karbon monoksida, nitrogen oksida, nitrosamin, nitrosopirolidin, uretan, dan vinil klorida. Fase tar terdiri dari alkaloid tembakau, arsen, bensopirin, dibensakridin, dibensokarbasol, fluoranten, hidrokarbon aromatik, naftalen, nikel, nikotin,

nitrosamin yang tidak mudah menguap, piren, polinuklear, fenol, dan kresol (Haris *et al.*, 2012).

Paparan asap rokok disinyalir dapat menjadi penyebab berbagai penyakit pada kesehatan yang akhirnya akan menghantarkan seseorang kepada kematian. Penyakit tersebut dapat berupa penyakit paru obstruktif kronik (PPOK), kanker, dan berbagai gangguan kardiovaskular. Merokok juga dikaitkan dengan penurunan fungsi reproduksi, meningkatkan risiko kehamilan ektopik, gangguan pertumbuhan janin, dan risiko kematian perinatal (Tobacco Control Support Centre, 2015). Berdasarkan data dari Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) pada tahun 2013 jenis penyakit terbanyak terkait perilaku merokok adalah PPOK dengan kasus mencapai 284.310 kasus, berat bayi lahir rendah (*low birth weight*) sebanyak 216.050 kasus, penyakit jantung koroner sebanyak 183.950 kasus, stroke 144.780 kasus dan tumor pada sistem pernapasan dengan 54.300 kasus. Stroke dengan 45.012 kasus adalah penyebab kematian terbanyak terkait perilaku merokok, diikuti dengan kejadian bayi berat lahir rendah (34.800 kasus), serta tumor sistem pernapasan (28.897 kasus). Total jumlah kematian terkait perilaku merokok pada tahun 2013 diperkirakan mencapai 240.168 kasus atau 13,8% dari total kematian pada tahun yang sama (1.741.691 kasus) (Kementrian Kesehatan Indonesia, 2018).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, paparan asap rokok tidak hanya meningkatkan kadar oksidan, tetapi asap rokok juga memicu aktivitas sel-sel anti-inflamasi untuk membentuk radikal bebas secara tidak langsung sehingga jumlah oksidan di dalam tubuh semakin bertambah dan melebihi jumlah antioksidan yang tersedia (Diniz, 2013). Hal tersebut menyebabkan ketidakseimbangan antara oksidan dengan antioksidan di dalam tubuh yang dapat

ditinjau dari kadar *reactive oxygen species* (ROS) yang meningkat dibandingkan dengan jumlah antioksidan di dalam plasma (Wei, 2001; Lavi, 2007). Kerusakan yang dialami oleh sel dan jaringan akibat peningkatan kadar ROS di dalam tubuh dapat di artikan sebagai stres oksidatif (Widayati, 2019).

Kerusakan pada sel dan jaringan akan memicu terjadinya respon inflamasi sehingga mediator inflamasi seperti neutrofil dan leukosit lainnya akan meningkat jumlahnya pada sirkulasi (Van Eeden *et al.*, 2005). Beberapa penelitian terdahulu menyatakan bahwa terjadinya respon inflamasi disebabkan oleh peningkatan radikal bebas menyebabkan degradasi I $\kappa$ B dan aktivasi NF- $\kappa$ B oleh radikal bebas sehingga produksi IL-8 meningkat pada leukosit (Iho *et al.*, 2003). Sitokin IL-8 akan menginduksi mobilisasi neutrofil dari sumsum tulang sehingga terjadi peningkatan kadar neutrofil pada tubuh (Terashima *et al.*, 1998). Asap rokok yang masuk ke dalam paru akan menstimulasi makrofag alveolar untuk melepaskan mediator pro-inflamasi sehingga terjadi peningkatan produksi Interleukin (IL)-1, IL-6, IL-8, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), dan haematopoietic growth factors yakni granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) dan granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). Pelepasan mediator-mediator tersebut menyebabkan stimulasi pada sel prekursor hematopoetik yang mengakibatkan kecepatan proliferasi dan pelepasan neutrofil dari sumsum tulang ke sirkulasi meningkat (Ambrose dan Barua, 2004).

Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa paparan asap rokok menyebabkan peningkatan jumlah leukosit total, terutama pada sel polimorfonuklear pada sirkulasi darah (Smith *et al.*, 2003). Jumlah leukosit di darah meningkat sebesar  $20 \pm 25\%$  pada perokok dibandingkan dengan yang tidak

merokok (Van Eeden dan Hogg, 2000). Penelitian pada 24 tikus jantan galur Wistar yang dipapar dengan asap rokok dari 2 batang rokok perhari selama dua minggu menunjukkan peningkatan neutrofil dari hapusan darah perifer sebesar  $\pm 13\%$  (Prihandari dan Muniroh, 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Suryani dan Johan (2011) pada tikus jantan galur Wistar yang dipapar asap rokok dari 1 batang rokok setiap hari selama 30 hari juga ditemukan adanya inflamasi yang ditandai dengan meningkatnya jumlah leukosit dan neutrofil secara bermakna ( $p < 0,05$ ).

Indonesia kaya akan jenis tumbuh-tumbuhan, di antaranya adalah daun kemangi (*Ocimum Citriodorum*). Masyarakat Indonesia sering mengonsumsi daun kemangi sebagai *lalapan* ataupun sebagai penyedap masakan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Hakkim *et al* (2008), daun kemangi mengandung senyawa antioksidan kelompok fenolik. Jumlah senyawa fenolik pada ekstrak daun kemangi (*Ocimum Citriodorum*) kering mencapai  $96.3 \pm 3.0$  mg GA/g. Salah satu senyawa fenolik yang terkandung dalam daun kemangi adalah flavonoid berupa *flavonol glycoside*. Flavonoid adalah salah satu contoh senyawa fenolik yang mampu menetralkan ROS. Senyawa ini memiliki aktivitas sebagai agen pereduksi, penghilangan oksigen tunggal dan donor hydrogen (Lestari, 2018). Flavonoid memiliki kemampuan untuk menangkal radikal bebas di dalam tubuh sekaligus dapat memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak (Patil dan Jadhav, 2013). Penelitian lain menyatakan bahwa kemangi juga memiliki kandungan antioksidan golongan fenolik lainnya seperti senyawa *methyl chavicol* (Vani *et al.*, 2009) dan *rosmarinic acid* (Javanmardi *et al.*, 2002). Hal ini semakin menegaskan bahwa kemangi (*Ocimum citriodorum*) memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

Dalam Al-Qur'an surat Asy-Syu'ara' ayat 7:

﴿أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ﴾ الشورى: ٧

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik? (7).” (Q.S. Asy-Syu'ara [26]:7)

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik yakni setiap tumbuhan yang diciptakan Allah pasti mempunyai manfaat bagi manusia. Berdasarkan buku Tafsir Jalalain Allah SWT telah menumbuhkan berbagai macam jenis tumbuhan didunia. Dan masing-masing tumbuhan tersebut pasti memiliki manfaat yang terkandung didalamnya.

Adanya pengaruh mengenai rokok terhadap jumlah neutrofil pada tubuh dan adanya kandungan antioksidan dalam kemangi mendorong peneliti untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun kemangi (*Ocimum Citriodorum*) sebagai antioksidan pada tikus jantan yang dipapar asap rokok dengan mengamati perubahan jumlah neutrofil.

## 1.2 Rumusan Masalah Penelitian

Masalah yang mendasari penelitian ini adalah, “Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus jantan yang dipapar asap rokok?”

## 1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*Occimum citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus jantan yang dipapar asap rokok.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Bagi Ilmu Kedokteran**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai manfaat dari ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) sebagai antioksidan yang dapat mengurangi efek yang disebabkan oleh paparan asap rokok dan sebagai dasar penelitian lanjutan untuk menggali manfaat lain dari ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*).

### **1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat**

Memberikan informasi kepada masyarakat umum mengenai manfaat dari ekstrak daun kemangi (*Ocimum Citriodorum*) sebagai sumber antioksidan yang memiliki efek pencegahan terhadap masyarakat terdampak paparan asap rokok.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Rokok

##### 2.1.1 Definisi Rokok

Rokok adalah silinder dari kertas yang berisi daun-daun tembakau yang telah dicacah. Rokok berukuran panjang antara 70 hingga 120 mm (bervariasi tergantung negara) dan diameter sekitar 10 mm. Rokok dibakar pada salah satu ujungnya dan dibiarkan membara agar asapnya dapat dihisap lewat mulut pada ujung lainnya (Nurhidayati, 2005).

Berdasarkan sifatnya, perokok dapat dibedakan menjadi perokok aktif dan perokok pasif. Perokok aktif adalah orang yang melakukan aktivitas merokok secara langsung, sedangkan perokok pasif adalah orang tidak melakukan aktivitas merokok secara langsung, namun menghirup asap rokok dari perokok disekitarnya (Irnawati *et al.*, 2011). Menurut Roszkwinski *et al* (2014) perokok aktif adalah individu yang memiliki kebiasaan merokok dan merasa tidak nyaman bila tidak melakukan aktivitas merokok meski hanya satu hari. Perokok pasif adalah individu yang tidak memiliki kebiasaan merokok, namun menghirup asap rokok dari orang disekitarnya yang melakukan aktivitas merokok. Perokok pasif bisa dijumpai di rumah dan di tempat umum, seperti, area makan, alat transportasi umum, kantor, dan tempat lainnya (CDC, 2015).

### 2.1.2 Jenis Rokok

Terdapat beberapa jenis rokok yang diproduksi dan terdistribusi di Indonesia yang dapat dibedakan melalui : (Jaya, 2009).

#### a. Penggunaan filter

Rokok filter adalah rokok yang bagian pangkalnya terdapat gabus.

Pada rokok non filter tidak terdapat gabus pada bagian pangkalnya

#### b. Bahan baku

Rokok kretek adalah rokok dengan atau tanpa filter yang menggunakan tembakau rajangan dengan cengkeh untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu. Pada rokok putih adalah rokok dengan bahan baku hanya tembakau baik menggunakan filter maupun tidak.

### 2.1.3 Kandungan Kimia pada Asap Rokok

Asap rokok mengandung berbagai bahan kimia yang telah diketahui berbahaya bagi kesehatan. Dari hasil analisis terakhir, dinyatakan bahwa terdapat 2.500 komponen kimia pada tembakau yakni bahan utama dari pembuatan rokok. Dari jumlah tersebut 1.100 komponen diturunkan menjadi asap tanpa perubahan akibat pembakaran. Sebanyak 1.400 lainnya mengalami dekomposisi, lalu bereaksi dengan komponen lain dan membentuk komponen baru yang seluruhnya terbentuk sekitar 4.800 komponen kimia di dalam asap rokok (Tirtosastro dan Murdiyati, 2017).

Aliran asap rokok dibagi menjadi dua, yaitu aliran asap pada saat rokok diisap (*main-stream*), dan aliran asap pada saat tidak di-isap (*sidestream*). Massa asap dibagi menjadi dua sebagai berikut:

- a. Asap pada saat rokok dihisap disebut sebagai kondensat asap atau TPM (*Total Particulate Matter*) yang komponen utamanya adalah air, nikotin, dan tar. Kondensat kering adalah TPM setelah dikurangi air, sedangkan tar adalah TPM setelah dikurangi air dan nikotin. Kandungan kimia tar terdiri atas bermacam-macam senyawa. Hasil analisis kandungan kimia kondensat asap tercantum pada tabel 2.1.
- b. Asap yang keluar saat tidak dihisap disebut sebagai asap samping (*sidestream*). Kandungan kimia dari massa asap ini tercantum pada tabel 2.2 Di dalam asap ini juga terkandung B-a-P (benzo-a-pyrine) dan TSNA (*tobacco spesific nitrosamine*).



Tabel 2.1 Komponen kimia utama asap *Mainstream*

Senyawa	µg/batang rokok	Senyawa	µg/batang rokok
Nikotin	100-3000	<i>Scopoletin</i>	15-30
Nornikotin	5-150	Polifenol lain	
Anatabin	5-15	<i>Cyclotenes</i>	40-70
Anabasin	5-12	<i>Quiñónes</i>	0,5
Alkaloid tembakau yang lain	-	<i>Solanesol</i>	600-1000
<i>Bipyridils</i>	10-30	<i>Neophytadienes</i>	200-350
n-Hentriacontane	100	<i>Limonene</i>	30-60
Total nonvolatil HC	300-400	<i>Terpenes</i> lain	
Naftalena	2-4	Asam asetat	100-150
Naftalena lain	3-6	Asam stearat	50-75
<i>Penanthrene</i>	0,2-0,4	Asam oleat	40-110
<i>Anthracenes</i>	0,05-0,10	Asam linoleat	150-250
<i>Fluorenes</i>	0,6-1,0	Asam linolenat	150-250
<i>Pyrenes</i>	0,3-0,5	Asam laktat	60-80
<i>Fluoranthenes</i>	0,3-0,45	Indol	10-15
Karsinogen PAH	0,1-0,25	<i>Skatole</i>	12-16
Fenol	80-160	Indol lain	
Fenol lain	60-180	<i>Quinolines</i>	2-4
<i>Catechol</i>	200-400	<i>Aza-arenes</i> lain	
<i>Catechols</i> lain	100-200	<i>Benzofuranes</i>	200-300
<i>Dihydroxybenzenes</i> lain	200-400		

Sumber : Tirtosastro dan Murdiyati, 2017.

Tabel 2.2 Komponen kimia utama asap *Sidestream*

Senyawa	Konsentrasi/batang rokok (% aliran asap total)	Senyawa	Konsentrasi/batang rokok (% aliran asap total)
Nitrogen	280-120 mg (56-64%)	<i>Methyl-formate</i>	20-30 µg
Oksigen	50-70 mg (11-14%)	Asam volatil lain	5-10 µg
Karbon dioksida	45-65 mg (9-13%)	Formaldehida	20-100 µg
Karbon monoksida	14-23 mg (2-5%)	Asetaldehida	400-1400 µg
Air	7-12 mg (1,5-2,5%)	<i>Acrolein</i>	60-140 µg
Argon	5 mg (1%)	Aldehida volatil lain	80-140 µg
Hidrogen	0,5-1,0 mg	Aseton	100-650 µg
Amonia	10-130 µg	Keton volatil lain	50-100 µg
Nitrogen oksida Nox	100-680 µg	<i>Methanol</i>	80-100 µg
Hidrogen sianida	400-500 µg	Alkohol volatil lain	10-30 µg
Hidrogen sulfida	20-90 µg	<i>Acetonitrile</i>	100-150 µg
Metana	1,0-2,0 mg	<i>Volatile Nitriles</i> lain	50-80 µg
<i>Volatile alkene</i>	0,4-0,5 mg	<i>Furan</i>	20-40 µg
<i>Volatile alkenes</i> lain	1,0-1,6 mg	<i>Volatile Furanes</i> lain	45-125 µg
<i>Isoprene</i>	0,2-0,4 mg	<i>Pyridine</i>	20-200 µg
Butadiena	25-40 µg	<i>Picolines</i>	15-80 µg
Asetilena	20-35 µg	<i>3-Vinylpyridine</i>	7-30 µg
Benzena	6-70 µg	<i>Volatile Pyridines</i> lain	20-60 µg
Toluena	5-90 µg	<i>Pyrrole</i>	0,1-10 µg

Sumber : Tirtosastro dan Murdiyati, 2017

Dari sekian banyak kandungan dalam asap rokok, komponen kimia rokok yang berbahaya bagi kesehatan yakni tar, nikotin, gas CO, dan NO yang berasal dari tembakau. Bahan-bahan berbahaya lainnya dapat terbentuk saat penanaman, pengolahan, dan penyajian dalam perdagangan, yaitu residu pupuk dan pestisida, TSNA (*tobacco spesific nitrosamine*), B-a-P (*benzo-a-pyrene*), dan NTRM (*non-tobacco related material*) (Tirtosastro dan Murdiyati, 2017).

## 2.2 Stres Oksidatif

### 2.2.1 Definisi Stres Oksidatif

Stres oksidatif adalah sebuah fenomena yang terjadi oleh karena produksi dan akumulasi berlebihan dari *reactive oxygen species* (ROS) di dalam sel dan jaringan. Hal ini tidak dapat diimbangi oleh kemampuan sistem biologis untuk mendetoksifikasi produk reaktif ini (Pizzino *et al.*, 2017). Stres oksidatif juga dapat diartikan sebagai kerusakan yang dialami oleh sel dan jaringan akibat berlebihnya ROS di dalam tubuh, sedangkan faktor yang dapat melindungi sel dan jaringan terhadap kerusakan tersebut adalah antioksidan. Berbagai jaringan yang dapat mengalami kerusakan akibat ROS di antaranya adalah *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA), lipid, dan protein (Widayati, 2019).

### 2.2.2 Mekanisme Terjadinya Kerusakan Sel Akibat Stres Oksidatif

*Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah molekul yang tidak berpasangan sehingga memiliki sifat tidak stabil dan sangat reaktif. ROS hanya dapat bertahan dalam hitungan milidetik sekitar  $10^{-9}$  hingga  $10^{-12}$  sebelum akhirnya menjadi molekul yang stabil dengan cara bereaksi dengan molekul lain. ROS yang telah berhasil diidentifikasi oleh peneliti diantaranya adalah superoksida ( $O_2^-$ ), hydroxyl

(OH), dan perhydroxyl ( $\text{O}_2\text{H}$ ). Ketiga ROS tersebut merupakan jenis ROS yang memiliki efek yang paling berbahaya dan merusak (Widayati, 2019).

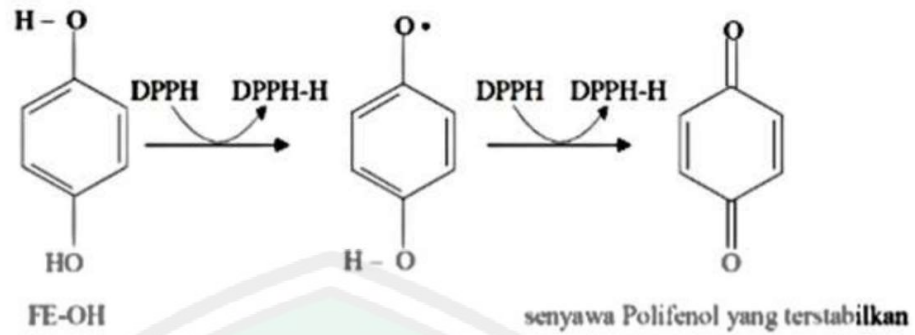
Interaksi ROS dengan basa dari DNA dapat merubah struktur kimia DNA, apabila tidak diperbaiki akan mengalami mutasi yang dapat diturunkan, terutama bila terjadi pada DNA sel germinal, baik di dalam testis maupun ovarium. Kerusakan DNA pada sel somatik dapat mengarah pada inisiasi keganasan (Bender, 2009). Reaksi ROS terhadap lipid tidak jenuh membran sel dan plasma lipoprotein menyebabkan pembentukan lipid peroksida (malondialdehyde) yang secara kimia dapat memodifikasi protein dan basa pada asam nukleat. ROS secara kimia juga dapat memodifikasi langsung asam amino dalam protein, sehingga tidak lagi dikenal sebagai milik sendiri (self) tetapi sebagai (nonself) oleh sistem imun tubuh (Bender, 2009) (Fuente dan Miquel, 2009). Antibodi yang dihasilkan juga akan bereaksi silang dengan protein dari jaringan normal, yang akhirnya akan memicu berbagai penyakit autoimun. ROS dapat memodifikasi struktur kimia dalam protein dan lemak, sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan pada endothelium. ROS juga menyebabkan kerusakan tyrosin residu dalam protein sehingga mengarahkan kepada pembentukan dihidroxyphenilalanin yang selanjutnya mampu bereaksi secara non enzimatik untuk membentuk radikal bebas baru (Bender, 2009).

Tubuh akan merespon peningkatan kadar ROS dengan memproduksi enzim catalase (CAT), glutathion peroksidase (GPx), dan superoksida dismutase (SOD) untuk menetralkan ROS. Radikal bebas superoksida ( $\text{O}_2^-$ ) akan dinetralkan atau dikonversi menjadi  $\text{H}_2\text{O}_2$  oleh enzim superoksida dismutase (SOD).  $\text{H}_2\text{O}_2$  akan diubah menjadi  $\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{O}_2$  oleh enzim CAT. Peroksida yang terbentuk dari reaksi radikal OH dengan asam lemak tak jenuh pada membrane dan fosfolipid plasma

akan direduksi menjadi asam lemak oleh enzim glutathion peroksidase (GPx). Namun demikian tetap ada sebagian ROS yang masih tersisa, terutama bila produksi ROS berlebihan. Untuk meredam ROS yang masih tersisa perlu disediakan antioksidan tambahan seperti vitamin C, vitamin E, asam urat, polyfenol (flavonoid), dan lain-lain untuk meminimalisir efek ROS tersebut (Widayati, 2019).

### 2.2.3 Mekanisme Kerja Antioksidan

Antioksidan adalah golongan senyawa yang mampu menangkal dan mengurangi efek dari stres oksidatif (Pizzino *et al.*, 2017). Antioksidan dapat dibagi menjadi tiga berdasarkan mekanisme pertahanannya yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier. Antioksidan primer menetralkan dengan mendonasikan 1 elektronnya sehingga kehilangan 1 elektron dan menjadi radikal bebas baru namun sifatnya relatif stabil dan akan dinetralkan oleh antioksidan lainnya. Vitamin E, vitamin C, dan flavonoid adalah beberapa contoh dari antioksidan primer. Antioksidan sekunder seperti transferin, albumin, dan laktoferin bekerja dengan mengikat logam, menyingkirkan berbagai logam transisi pemicu ROS. Antioksidan tersier bekerja dengan cara mencegah penumpukan molekul yang telah rusak sehingga tidak menimbulkan kerusakan lebih lanjut. Dalam hal ini enzim metionin sulfaoksida reduktase memperbaiki kerusakan DNA, enzim proteolitik memproses protein yang teroksidasi dan sebagainya (Ardhie, 2011).



Gambar 2.1. Mekanisme peredaman radikal bebas oleh senyawa fenolik  
(Cholisoh dan Utami, 2008)

Mekanisme dari senyawa fenolik dalam meredam radikal bebas dapat dilihat pada gambar 2.1. Radikal bebas sintetik DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) akan bereaksi dengan senyawa antioksidan polifenol yang memiliki kemampuan sebagai penangkal radikal yang umumnya merupakan pendonor atom hidrogen (H). Melalui pengambilan atom hidrogen (H) dari senyawa antioksidan polifenol ini bertujuan untuk mendapatkan pasangan elektron. DPPH bereaksi dengan antioksidan sebagai pendonor hidrogen sehingga atom H tersebut dapat ditangkap oleh radikal DPPH membentuk DPPH - H sehingga absorbansi dari DPPH akan berkurang dan berubah menjadi bentuk netralnya (Rajesh dan Natvar, 2011).

## 2.3 Inflamasi

### 2.3.1 Definisi Inflamasi

Inflamasi atau peradangan adalah respons sistem kekebalan tubuh terhadap rangsangan yang dianggap berbahaya, seperti patogen, sel yang rusak, senyawa beracun, atau iradiasi. Inflamasi bekerja dengan cara menghilangkan rangsangan yang merugikan tersebut dan memulai proses penyembuhan. Inflamasi merupakan suatu mekanisme pertahanan vital bagi kesehatan tubuh manusia (Chen *et al.*, 2018). Umumnya, selama respon inflamasi akut, interaksi seluler dan molekuler dapat secara efisien meminimalkan cedera atau infeksi yang akan datang. Proses

mitigasi ini berkontribusi pada pemulihan jaringan homeostasis dan perbaikan dari peradangan akut yang terjadi. Peradangan akut yang tidak terkontrol dapat menjadi peradangan kronis, yang selanjutnya akan menjadi penyebab terhadap berbagai penyakit kronis (Zhou *et al.*, 2016).

Pada tingkat jaringan, inflamasi ditandai dengan adanya gejala kemerahan, bengkak, panas, nyeri, dan kehilangan fungsi jaringan. Hal ini disebabkan oleh respon imun lokal, vaskular dan respons sel inflamasi terhadap infeksi atau cedera (Takeuchi dan Akira, 2010). Peristiwa mikro-sirkulasi terjadi selama proses inflamasi yakni perubahan permeabilitas pembuluh darah, akumulasi leukosit, dan pelepasan mediator inflamasi (Chen *et al.*, 2018).

### 2.3.2 Etiologi Inflamasi

Berbagai faktor patogen, seperti infeksi, jaringan cedera, atau infark jantung dapat menyebabkan peradangan yang menyebabkan kerusakan jaringan. Etiologi atau penyebab peradangan dapat dikelompokkan menjadi sebagai berikut : (Chen *et al.*, 2018).

a. Tidak menular

1. Fisik :

Terbakar, radang dingin (*Frostbite*), trauma, cedera fisik, benda asing, radiasi

2. Kimia :

Glukosa, asam lemak, racun, alkohol, bahan kimia iritan (termasuk fluorida, nikel dan elemen lainnya)

3. Biologis :

Sel-sel yang rusak

b. Menular

1. Bakteri
2. Virus
3. Jamur
4. Mikroorganisme lainnya

Sebagai respon dari cedera jaringan, tubuh memulai kaskade pensinyalan kimiawi yang merangsang respon dengan tujuan untuk menyembuhkan jaringan yang terkena. Sinyal-sinyal ini mengaktifkan kemotaksis leukosit dari sirkulasi ke bagian bagian yang mengalami kerusakan. Leukosit teraktivasi ini akan menghasilkan sitokin – sitokin yang nantinya akan menginduksi respon inflamasi (Chen *et al.*, 2018).

### 2.3.3 Mekanisme Terjadinya Respon Inflamasi

Komponen mikroba dapat melepaskan endotoksin dan eksotoksin. Toksin dapat memicu pelepasan mediator pro-inflamasi. Begitu pula dengan jaringan yang rusak, toksin bakteri dan komponen bakteri lipopolisakarida, dapat menyebabkan munculnya berbagai trombin, histamin dan sitokin pro-inflamasi seperti Interleukin (IL)-1, 6, 12, 18, TNF- $\alpha$  dan TNF- $\beta$  (Calder *et al.*, 2013).

Respon peradangan dimulai segera setelah terjadinya cedera. Histamin dan bradikinin adalah bahan-bahan yang dibebaskan selama peradangan histamin menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler pada awal peradangan. Selama peradangan sel-sel endotel kapiler disekitarnya yang dalam keadaan normal, mulai tersusun rapat dan saling menjauh satu sama lain sehingga permeabilitas meningkat. Sel-sel darah merah dan cairan keluar dari kapiler dan masuk dalam ruang interstinum. Hal ini menyebabkan pembengkakan (turgor), kemerahan

(rubor) karena peningkatan aliran darah ke daerah peradangan, serta rasa nyeri (dolor) selama peradangan yang disebabkan oleh bradikinin dan panas (kalor) akibat peningkatan aliran darah (Corwin 2000).

Menurut Calder *et al* (2013) respon peradangan melibatkan empat tahapan mekanisme yaitu :

- 1) Terjadinya peningkatan aliran darah ke bagian peradangan, sehingga terjadi karakteristik inflamasi berupa (rubor) kemerahan dan (kalor) panas.
- 2) Sel darah putih dan trombosit tertarik ke daerah tersebut dan bermigrasi melalui kapiler yang bocor untuk mengelilingi sel yang rusak
- 3) Terjadi fagositosis pada sel yang mati dan mikroorganisme serta merangsang pembekuan untuk mengisolasi infeksi dan mengontrol perdarahan.
- 4) Pelepasan mediator ke daerah peradangan berperan dalam melakukan perbaikan jaringan di lokasi peradangan. Termasuk mediator lipid (misalnya prostaglandin (PG), leukotrien,), mediator peptida (misalnya sitokin, kemokin;), spesies oksigen reaktif (mis superoksida), turunan asam amino (misalnya histamin) dan enzim (misalnya protease matrix). Hal ini tergantung pada jenis sel yang terlibat dan sifat pemicu peradangan selama terjadinya respon inflamasi.

#### 2.3.4 Penanda Inflamasi

Rangsangan akan mengaktifkan sel-sel inflamasi, seperti makrofag dan adiposit, dan menginduksi produksi sitokin inflamasi, seperti IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , dan protein inflamasi serta enzim. Molekul-molekul ini berfungsi sebagai penanda biologis untuk diagnosis penyakit, prognosis, dan pengambilan keputusan terapeutik. Penanda inflamasi dapat digunakan dalam aplikasi klinis untuk mengindikasikan adanya proses perlawanan tubuh terhadap patogen, dan menilai

respon tubuh terhadap intervensi terapeutik yang sedang dilakukan (Goldstein *et al.*, 2009; Gupta *et al.*, 2012).

a. Sitokin Inflamasi

Sitokin sebagian besar dilepaskan oleh sel-sel kekebalan tubuh, termasuk monosit, makrofag, dan limfosit. Sitokin pro-inflamasi berguna untuk memfasilitasi terjadinya inflamasi sedangkan sitokin anti-inflamasi untuk menghambat peradangan. Sitokin inflamasi diklasifikasikan sebagai Interleukin (IL), *coloni stimulating factor* (CSF), IFN, TNF, TGF, dan kemokin, sitokin diproduksi oleh sel dengan fungsi utama untuk memberitahu agar leukosit bergerak ke tempat infeksi atau cedera (Turner *et al.*, 2014). Sitokin memodulasi respons imun terhadap infeksi atau peradangan dan mengatur peradangan itu sendiri melalui jaringan interaksi yang kompleks. Produksi sitokin inflamasi yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan jaringan, perubahan hemodinamik, kegagalan organ, dan akhirnya kematian (Czaja, 2014; Liu *et al.*, 2016).

Tabel 2.3 Sitokin dan fungsinya

Sitokin	<i>Family</i>	Sumber Utama	Fungsi
IL-1 $\beta$	IL-1	Makrofag, Monosit	Pro-inflamasi, proliferasi, apoptosis, diferensiasi
IL-4	IL-4	Sel Th	Anti inflammasi, Proliferasi sel T dan sel B, diferensiasi sel B
IL-6	IL-6	Makrofag, sel T, adiposit	Pro-inflamasi, diferensiasi, produksi sitokin
IL-8	CXC	Makrofag, sel epitel, sel endotel	Pro-inflamasi, kemotaksis, angiogenesis
IL-10	IL-10	Monosit, sel T, sel B	Anti-inflamasi, inhibisi dari sitokin pro-inflamasi
IL-12	IL-12	Sel dendritik, makrofag, neutrofil	Pro-inflamasi, diferensiasi sel, aktivasi <i>NK cell</i>

IL-11	IL-6	Fibroblast, Neuron, sel epitel	Anti-inflamasi, diferensiasi, pemicu fase akut protein
TNF- $\alpha$	TNF	Makrofag, <i>NK cells</i> , CD4 <sup>+</sup> limfosit, adiposit	Pro-inflamasi, produksi sitokin, proliferasi sel, apoptosis, anti-infeksi
IFN- $\gamma$	INF	Sel T, <i>NK cells</i> , <i>NKT cells</i>	Pro-inflamasi, kekebalan bawaan, kekebalan anti-viral adaptif
GM-CSF	IL-4	Sel T, makrofag, fibroblast	Pro-inflamasi, aktivasi makrofag, peningkatan jumlah neutrofil dan fungsi monosit
TGF- $\beta$	TGF	Makrofag, Sel T	Anti-inflamasi, inhibisi dari sitokin pro-inflamasi

Sumber : Chen *et al.*, 2018

b. Protein dan Enzim Inflamasi

Protein peradangan dalam darah, yakni *C-reactive protein* (CRP), haptoglobin, serum amyloid A, fibrinogen, dan *alpha 1-acid glycoprotein*, membantu memulihkan homeostasis dan mengurangi pertumbuhan mikroba selama trauma, stres, atau infeksi. Aktivasi abnormal dari enzim tertentu, seperti *high-mobility group box 1* (HMGB1), *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPx), *NADPH oxidase* (NOX), *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) and *cyclooxygenase* (COX)-2, menjadi peran kunci dalam pengembangan penyakit penyakit terkait inflamasi, seperti penyakit kardiovaskular dan kanker. Protein dan enzim inflamasi telah digunakan sebagai biomarker peradangan, infeksi, dan trauma dalam dunia kedokteran (Chen *et al.*, 2018).

c. Penanda Inflamasi Lainnya

Stres oksidatif yang tinggi dapat menyebabkan produksi *reactive oxygen species* (ROS), *malondialdehyde* (MDA), *8-Hydroxy-2-deoxyguanosine* (8-OHdG) and *isoprostanes* (Chen *et al.*, 2018), masing-masing dari molekul tersebut dapat

mengaktifkan berbagai faktor transkripsi, termasuk NF- $\kappa$ B, AP-1, p53, dan STAT. Kaskade ini dapat meningkatkan ekspresi gen yang mengkode faktor pertumbuhan, sitokin inflamasi, dan kemokin. Stres oksidatif dikaitkan dengan patogenesis berbagai penyakit, seperti penyakit kardiovaskular, kanker, diabetes, hipertensi, penuaan, dan aterosklerosis. Produk dari stres oksidatif juga dapat digunakan sebagai penanda respon inflamasi (Reuter *et al.*, 2010).

### 2.3.5 Jenis Sel Dalam Respon Inflamasi

Respon inflamasi sangat melibatkan koordinasi antar jaringan yang tinggi dari banyak jenis sel. Makrofag teraktivasi, monosit, dan sel-sel lain memediasi respons lokal terhadap kerusakan dan infeksi jaringan. Di tempat jaringan yang cedera, sel epitel dan endotel yang rusak melepaskan faktor yang memicu kaskade inflamasi, bersama dengan kemokin dan faktor pertumbuhan yang menarik neutrofil dan monosit. Sel yang pertama tertarik pada jaringan yang cedera adalah neutrofil, diikuti oleh monosit, limfosit (sel *Natural Killer* [sel NK], sel T, dan sel B), dan sel mast. Monosit berdiferensiasi menjadi makrofag dan sel dendritik lalu bergerak ke dalam jaringan yang rusak. Peradangan yang dimediasi oleh perubahan sel imun berhubungan dengan berbagai penyakit, termasuk asma, kanker, aterosklerosis, diabetes, dan autoimun dan penyakit degeneratif (Chen *et al.*, 2018).

Jenis sel dalam respon inflamasi dapat dibedakan sebagai berikut :

- a. Neutrofil adalah mediator utama respon inflamasi, memprogram sel yang menyajikan antigen untuk mengaktifkan sel T dan melepaskan faktor terlokalisasi untuk menarik monosit dan sel dendritik. Neutrofil, yang menyasar mikroorganisme dalam tubuh, juga dapat merusak sel dan jaringan inang (Nathan, 2006).

- b. Makrofag adalah komponen penting dari sistem fagosit mononuclear yang sangat penting dalam inisiasi inflamasi, pemeliharaan, dan resolusi. Selama peradangan, makrofag menghadirkan antigen, menjalankan fagositosis, dan memodulasi respons imun dengan memproduksi sitokin dan faktor pertumbuhan (Fujiwara dan Kobayashi, 2005).
- c. Sel mast adalah sel efektor yang memulai inflamasi tanggapan yang berada di matriks jaringan ikat dan epitel permukaan. Sel mast yang diaktifkan melepaskan berbagai mediator inflamasi, termasuk sitokin, kemokin, histamin, protease, prostaglandin, leukotrien, dan *serglycin proteoglycans* (Huang *et al.*, 1998).

### 2.3.6 Resolusi Peradangan

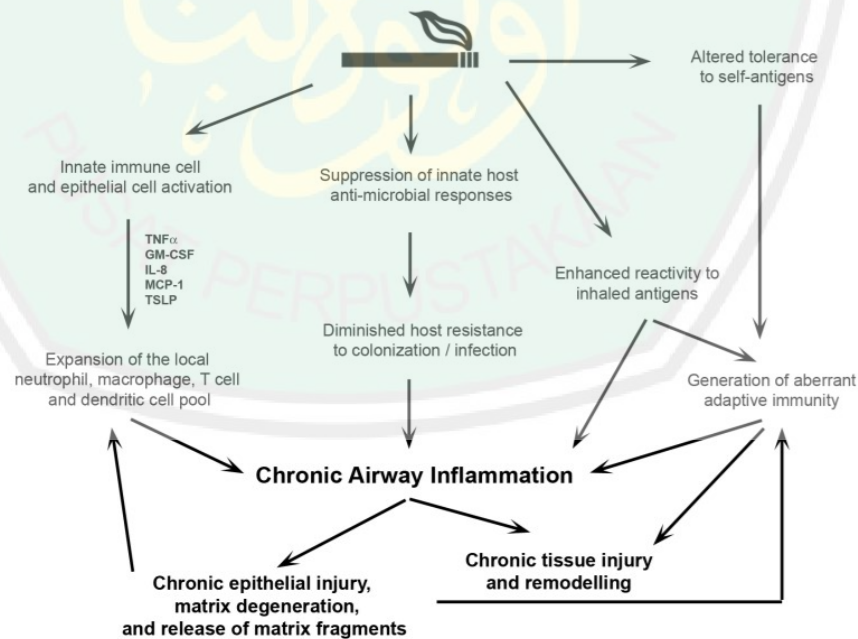
Untuk mencegah perkembangan dari peradangan akut ke peradangan kronis yang persisten, respons inflamasi harus ditekan untuk mencegah kerusakan jaringan tambahan. Resolusi peradangan adalah proses yang melibatkan produksi mediator yang dikendalikan secara spasial dan sementara agar gradien *chemokine* sedikit demi sedikit akan berkurang. Sel darah putih yang bersirkulasi akhirnya tidak lagi mendeteksi gradien ini dan tidak bergerak lagi menuju lokasi inflamasi. Disregulasi dari proses ini dapat menyebabkan peradangan kronis yang tidak terkontrol (Headland dan Norling, 2015).

Proses resolusi peradangan akan memperbaiki homeostasis jaringan dengan cara pengurangan atau penghentian infiltrasi jaringan oleh neutrofil dan apoptosis neutrophil yang tersisa, kontra regulasi dari kemokin dan sitokin, transformasi makrofag, dan inisiasi penyembuhan. Peradangan kronis terjadi ketika mekanisme inflamasi akut gagal mengeliminasi jaringan yang rusak, dan dapat menyebabkan

sejumlah penyakit, seperti penyakit kardiovaskular, aterosklerosis, diabetes tipe 2, rheumatoid arthritis, dan kanker (Serhan dan Savill, 2005; Sugimoto *et al.*, 2016).

#### 2.4 Inflamasi yang Diinduksi Asap Rokok

Asap rokok mengandung 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 dapat 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 mampu menyebabkan infiltrasi dari makrofag, neutrofil dan limfosit T ke dalam saluran pernafasan dan memicu produksi kemokin, ROS, protease dan sitokin termasuk TNF- $\alpha$ , 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 2.3 Mekanisme Inflamasi yang Diinduksi Asap Rokok  
(Lee *et al.*, 2012)

Sel epitel saluran pernapasan adalah regulator respon imun terhadap rangsangan berbagai stimulus berbahaya, termasuk asap rokok. Asap rokok mengaktifasi sel epitel melalui TLR secara langsung dan menginduksi pengeluaran kemokin dan sitokin inflamasi dari sel epitel (Lee *et al.*, 2012). Respon inflamasi sel epitel terhadap asap rokok diperantarai oleh perubahan berbagai jalur pensinyalan intraseluler seperti *protein kinase C* (PKC), MAPK, NF $\kappa$ B dan activatory protein-1 (AP-1) (Strzelak *et al.*, 2018). NF- $\kappa$ B dapat diaktivasi sebagai respon terhadap kondisi stres oksidatif. Fosforilasi terhadap *Ikappa Beta* (I $\kappa$ B) membebaskan NF- $\kappa$ B dan memungkinkannya untuk masuk ke dalam nukleus untuk mengaktifkan transkripsi gen antioksidan dan sitokin proinflamasi seperti IL1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8 dan beberapa molekul adhesi sel (Birben *et al.*, 2012).

Sel epitel juga mensekresikan *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), *soluble intercellular adhesion molecule-1* (sICAM-1), dan *granulocytemacrophage 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 mengaktifasi 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- $\gamma$  yang disekresi oleh Th1 (Strzelak *et al.*, 2018). Makrofag M1 dapat menginduksi kerusakan jaringan paru melalui sekresi mediator inflamasi (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12) dan enzim seperti MMP-1, MMP2, 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- $\beta$  (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).

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).

## 2.5 Neutrofil

Neutrofil merupakan jenis leukosit yang menjangkau daerah lokasi inflamasi pertama kali dan mengawali pertahanan tubuh. Neutrofil dikenal sebagai sel leukosit polimorfonuklear (PMN). Neutrofil merupakan tipe sel leukosit yang paling melimpah jumlahnya dalam darah manusia (Craig *et al.*, 2009).

Neutrofil adalah sel imun yang dominan dalam darah manusia, neutrofil berpatroli dan melindungi tubuh dari patogen dan reagen berbahaya lainnya. Pada kasus di mana proses inflamasi dihasilkan oleh cedera itu sendiri, yang juga dikenal sebagai peradangan steril, neutrofil memiliki efek menguntungkan yang dapat berkontribusi untuk memperbaiki parenkim atau pembuluh darah (Wang, 2018).

Neutrofil diproduksi di sumsum tulang dari sel induk hematopoietik dalam proses yang disebut granulopoiesis. Setelah dilepaskan ke dalam darah, neutrofil berpatroli di sirkulasi hingga mereka menemukan sinyal inflamasi. *Damage-associated molecular patterns* (DAMPs) merupakan sinyal pertama yang bertanggung jawab untuk rekrutmen awal neutrofil yang dilepaskan dari sel-sel yang rusak dan nekrotik setelah cedera jaringan. Molekul DAMP ini termasuk

DNA, *histones*, *high mobility group protein B1* (HMGB1), *N-formyl* peptida, Adenosin trifosfat (ATP), interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) dan banyak lainnya (Wang, 2018).

DAMP dapat bertindak sebagai chemoattractants dan dirasakan oleh neutrofil melalui reseptor *G-protein-coupled* (GPCRs). DAMP yang dilepaskan dari sel yang rusak dapat mengaktifkan jaringan di sekitarnya dan menginduksi produksi kemokin dan mediator lipid, misalnya *C-X-C motif chemokine ligand 8* (CXCL8) dan *leukotriene B4* (LTB4), keduanya merupakan penginduksi kuat kemotaksis neutrofil. Setelah dirilis oleh kedua sel imun (neutrofil, makrofag, dan sel T) dan sel non-hematopoietik (sel epitel dan endotel) sebagai respons terhadap cedera dan infeksi, CXCL8 dapat mengikat glikosaminoglikan pada dinding sel dan dalam matriks ekstraseluler untuk membuat gradien kemokin sepanjang jaringan dan struktur di mana neutrofil bermigrasi (Wang, 2018).

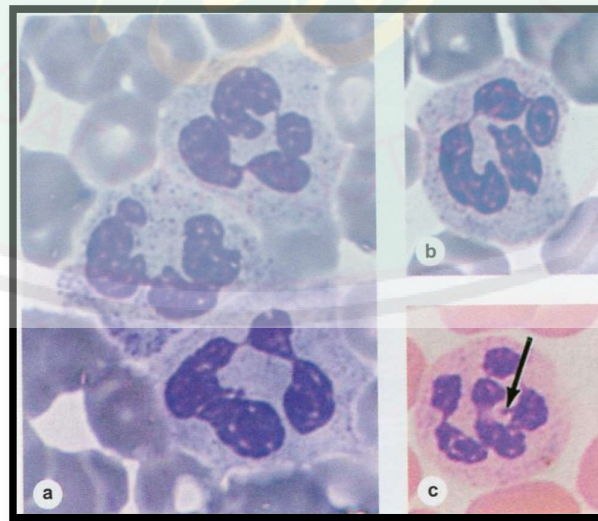
Akumulasi neutrofil juga memiliki peran dalam perbaikan dan regenerasi epitel paru-paru. Fungsi perbaikan dari akumulasi neutrofil ini adalah untuk membersihkan debris epitel dari lokasi kerusakan yang bertujuan untuk membuat matriks bersih yang diperlukan untuk regenerasi epitel. Neutrofil juga dapat secara langsung mengaktifkan respons perbaikan dengan mengaktifkan proliferasi sel epitel paru-paru. Neutrofil juga mempromosikan proliferasi pneumosit tipe II, yang sangat penting untuk regenerasi epitel alveolar pada cedera paru akut yang diinduksi asam (Wang, 2018).

Neutrofil diproduksi di sumsum tulang dalam jumlah besar, sekitar  $10^{11}$  sel per hari. Dalam kondisi homeostatis, neutrofil memasuki sirkulasi, bermigrasi ke jaringan, menyelesaikan fungsinya, dan akhirnya dihilangkan oleh makrofag, semuanya dalam selang satu hari (Mayadas *et al.*, 2014). Neutrofil di dalam

sirkulasi akan bertahan hidup selama 4-10 jam, sedangkan di dalam jaringan akan bertahan hidup selama 1-2 hari. Pembentukan utama neutrofil di dalam stem sel dalam sumsum tulang merah terdiri dari stem sel, pool proliferasi, dan pool maturasi. Proses pembentukan neutrofil diawali dengan bentuk: progranulocyte, myelocyte, metamyelocyte, neutrofil muda (neutrofil *band*) dan terakhir adalah neutrofil matang (neutrofil *segment*) (Rosales, 2018)

### 2.5.1 Morfologi Neutrofil

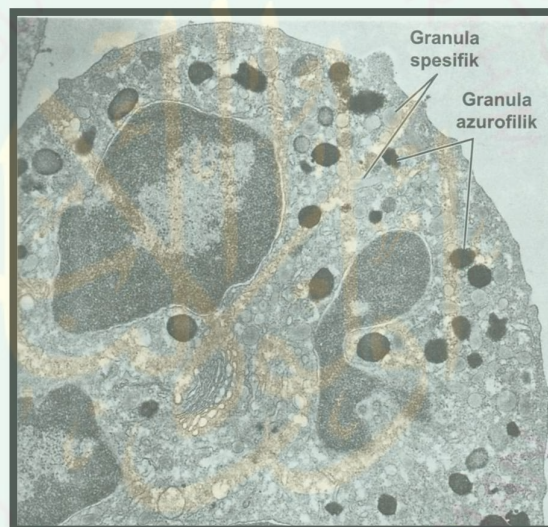
Pada apusan darah, neutrofil dapat diidentifikasi dari intinya yang berlobus banyak, dengan lobulus yang dihubungkan oleh untaian tipis. Sel-sel tersebut bersifat dinamis dan bentuk inti sering berubah. Gambaran ini menjadikan neutrofil sering disebut sebagai leukosit polimorfonuklear. (gambar 2.4 a). Neutrofil memiliki diameter sebesar 12-15  $\mu\text{m}$ , yaitu sekitar 2 kali diameter dari eritrosit. Inti neutrofil terdiri dari 2-5 lobus yang dihubungkan oleh jembatan inti yang halus. Granula sitoplasmanya relatif sedikit dan terpusat heterogen, meskipun umumnya terpusat pucat dan tidak menutup bagian inti (gambar 2.4 b) (Mescher, 2011).



**Gambar 2.4 Neutrofil**  
(Mescher, 2011)

Pada wanita, kromosom X yang inaktif tampak sebagai alat pemukul drum di salah satu lobus inti (gambar 2.4 c) meskipun ciri khas ini tidak jelas terlihat di semua neutrofil. Neutrofil berbentuk sferis saat tidak aktif atau berada dalam sirkulasi tetapi menjadi aktif dan ameboid selama diapedesis dan saat melekat pada substrat solid seperti kolagen pada matriks ekstrasel (Mescher, 2011).

Sitoplasma neutrofil mengandung 2 jenis granul utama (gambar 2.5). Granul yang lebih banyak adalah granul spesifik, yang sangat kecil dan di dekat ambang batas resolusi mikroskop cahaya dan granul azurofilik yang merupakan lisosom khusus dengan komponen untuk membunuh bakteri yang ditelan (Mescher, 2011).



Gambar 2.5 Dua jenis granul pada neutrofil  
(Mescher, 2011)

### 2.5.2 Metode Pengukuran Neutrofil

Pengukuran jumlah neutrofil pada darah tepi dapat dilakukan dengan 2 cara, yakni metode manual dan metode *Automatic Hematologi Analyzer*.

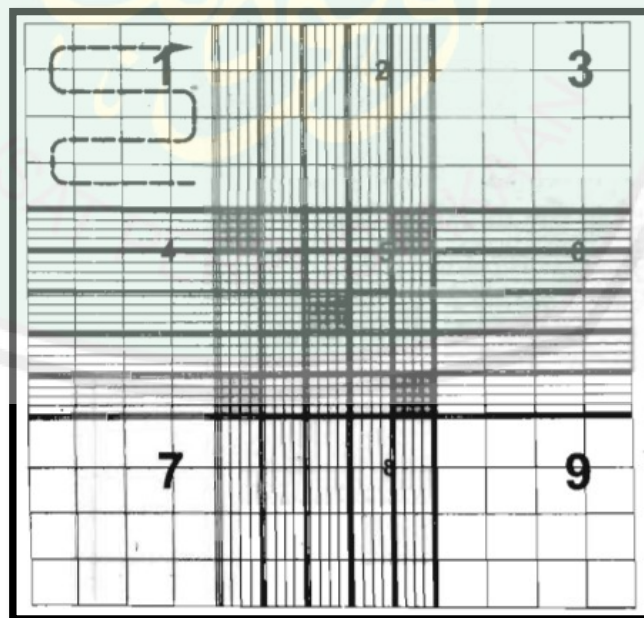
#### 1. Metode Manual

Hemositometer adalah alat yang dipakai untuk menghitung jumlah sel darah dan terdiri dari kamar hitung, kaca penutupnya dan dua macam pipet. Mutu kamar

hitung serta pipet-pipet harus memenuhi syarat-syarat ketelitian tertentu. Kelebihan dari metode ini adalah biaya pemeriksaan yang lebih murah, peralatan yang digunakan lebih sederhana dan dapat dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya (elektrik) atau mikroskop manual (Gandasoebrata, 2012).

a. Kamar Hitung

Dalam laboratorium klinik, bilik hitung adalah alat yang berguna untuk menghitung sel darah. Ada beberapa jenis bilik hitung tapi yang paling banyak digunakan adalah bilik hitung *Neubauer* yang telah disempurnakan (*Improved Neubauer*). Bilik hitung *Improved Neubauer* memiliki luas  $9 \text{ mm}^2$  yang terbagi menjadi 9 bidang dengan luas masing-masing  $1 \text{ mm}^2$ . Leukosit dihitung pada empat bidang besar yang terletak di sudut-sudut area penghitungan dan setiap bidang besar tersebut dibagi menjadi 16 kotak sedang. Jadi, keempat bidang besar yang digunakan untuk hitung leukosit memiliki luas  $4 \text{ mm}^2$ . Kedalaman bilik hitung adalah  $0,1 \text{ mm}$ , maka volume keempat bidang adalah  $0,4 \text{ mm}^3$  (Riswanto, 2013).



**Gambar 2.6** Bilik hitung *Neubauer* yang telah disempurnakan  
(Chairlan, 2011)

b. Kaca Penutup

Kaca penutup yang digunakan adalah kaca penutup yang khusus diperuntukkan bagi kamar hitung. Kaca penutup tersebut lebih tebal dan sangat datar. Kaca penutup biasa dapat dipakai pada penghitungan leukosit hanya dalam keadaan darurat saja (Gandasoebrata, 2012).

c. Pipet Pengencer

Pipet pengencer terdiri dari 2 macam pipet yang dapat digunakan dalam menghitung eritrosit dan leukosit. Pipet ini terdiri dari sebuah pipa kapiler yang memiliki bulatan yang besar dan lonjong dibagian tengahnya. Didalam bulatan tersebut terdapat sebutir kaca berwarna putih. Untuk mengencerkan darah dapat juga digunakan mikropipet yang sudah diketahui volumenya yang pasti (Gandasoebrata, 2012).

2. Metode *Automatic Hematologi Analyzer*

*Automatic Hematologi Analyzer* adalah suatu alat yang dapat menghitung dan mengukur sel-sel darah secara otomatis berdasarkan variasi impedansi atau berkas cahaya terhadap sel yang diperiksa. Ribuan sel dialirkan melalui celah kecil sehingga sel dapat lewat satu per satu, kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel dan ukurannya. Alat ini juga dapat memberikan informasi intraselular, termasuk inti sel (Fahmy, 2015). Kelebihan menggunakan alat ini adalah pemeriksaan cepat dan pengoperasiannya yang mudah sehingga dapat menghemat waktu, dapat mengeluarkan beberapa hasil pemeriksaan darah dalam satu kali pemeriksaan, tingkat ketelitian atau akurasi dapat diandalkan dan beberapa parameter yang secara manual tidak dapat diukur (misalnya volume sel), dengan menggunakan alat ini dapat dengan mudah dihitung (Riswanto, 2013).

a. Prinsip Impedansi (*Impedance*) Listrik

Prinsip kerja impedansi didasarkan pada deteksi dan pengukuran perubahan hambatan listrik yang dihasilkan oleh sel-sel darah saat melintasi sebuah lubang kecil (*aperture*). Ukuran sel darah akan diketahui dari getaran elektroda. Penghitungan sel darah dihitung dari banyaknya getaran-getaran dan akan dibaca berdasarkan besar sel itu sendiri. Hasil hitung leukosit dengan analyzer ditampilkan pada lembar hasil sebagai WBC (Riswanto, 2013).

b. Prinsip *Light Scattering*

Prinsip yang digunakan adalah pendaran cahaya atau *light scattering* yang terjadi ketika sel mengalir melewati celah dan berkas cahaya yang difokukan ke *sensing area* yang ada pada *aperture* tersebut. Apabila cahaya mengenai sel, maka cahaya akan dihamburkan, dipantulkan, atau dibiaskan ke semua arah. Beberapa detektor yang diletakkan pada sudut-sudut tertentu akan menangkap berkas-berkas sinar yang terpengaruh oleh sel tersebut (Mengko, 2013).

Pulsa cahaya yang berasal dari hamburan cahaya, intensitas warna, atau fluoresensi, akan diubah menjadi pulsa listrik. Program komputer mengolah pulsa tersebut untuk menghitung jumlah, ukuran, maupun isi bagian dalam sel yang merupakan ciri dari masing-masing sel. Hamburan cahaya dengan arah lurus (*forward scattered light*) mendeteksi volume dan ukuran sel. Cahaya yang dihamburkan dengan sudut 90 derajat menunjukkan informasi yang terkait dengan isi granula sitoplasma (Mengko, 2013).

Untuk lebih meningkatkan kemampuan deteksi dan mengenali ciri-ciri dari sel darah, pada metode pendaran cahaya ini juga dapat dilakukan pewarnaan dengan jalan menambahkan pewarna pada reagen. Sel yang telah diberi pewarna akan

memberikan pendaran cahaya yang berbeda-beda, sehingga akan lebih banyak informasi yang didapat untuk membedakan berbagai jenis sel (Riswanto, 2013).

### 2.5.3 Jumlah Normal Neutrofil

Nilai total neutrofil atau *Absolute Neutrophil Count* (ANC) adalah jumlah neutrofil imatur dan neutrofil matur yang beredar di dalam darah tepi. Jumlah ANC umumnya meningkat bila terdapat infeksi bakteri (Howard, 2008; Levy, 2004). Jumlah neutrofil normal di dalam darah pada bayi baru lahir umumnya tinggi (6.000 – 26.000/ml), dan menurun pada umur 1 minggu. Pada umur lebih dari 6 bulan, jumlah neutrofil berkisar antara 1500-8500 sel/ml (Segel dan Halterman, 2008)

**Tabel 2.4 Jumlah neutrofil normal manusia**

Umur	Jumlah Neutrofil Normal		
	Rata rata	Kisaran	Persentase
<i>Birth</i>	11.0	6.0 – 26.0	61
12 Jam	15.5	6.0 – 28.0	68
24 Jam	11.5	5.0 – 21.0	61
1 Minggu	5.5	1.5 – 10.0	45
2 Minggu	4.5	1.0 – 9.5	40
1 Bulan	3.8	1.0 – 9.0	35
6 Bulan	3.8	1.0 – 8.5	32
1 Tahun	3.5	1.5 – 8.5	31
2 Tahun	3.5	1.5 – 8.5	33
4 Tahun	3.8	1.5 – 8.5	42
6 Tahun	4.3	1.5 – 8.0	51
8 Tahun	4.4	1.5 – 8.0	53
10 Tahun	4.4	1.8 – 8.0	54
16 Tahun	4.4	1.8 – 8.0	57
21 Tahun	4.4	1.8 – 7.7	59

\* Jumlah neutrofil dalam ribuan / ml ( $\times 10^6/L$ ), neutrofil meliputi sel neutrofil muda pada segala usia dan sejumlah kecil *metamyelocytes* dan *myelocytes* dalam beberapa hari pertama pasca-kelahiran. Kolom persentase menunjukkan persentase neutrofil terhadap leukosit total.

Sumber : Segel dan Halterman , 2008

## 2.6 Hewan Coba Model Paparan Asap Rokok

Beberapa tahun terakhir telah diteliti mengenai model hewan coba dengan PPOK yang dipicu oleh asap rokok. Neutrofil, makrofag, metalloprotease yang diturunkan makrofag, limfosit, TNF- $\alpha$ , dan oksidan semuanya telah terbukti memainkan peran dalam patogenesis PPOK pada model hewan coba. Asap rokok telah terbukti menginduksi remodeling vaskular dan hipertensi paru pada hewan laboratorium. Keterbatasan utama yang ada pada model hewan coba adalah sebagian besar percobaan menghasilkan penyakit yang relatif ringan (tidak lebih parah daripada tahap GOLD 2 pada PPOK manusia), dan tidak ada model yang menunjukkan penyakit progresif yang terlihat pada manusia dengan PPOK GOLD 3 atau 4. Belum ditemukan adanya model bronkitis kronis dan model eksaserbasi akut PPOK yang diinduksi asap rokok pada hewan coba hingga saat ini (Wright dan Churg, 2010).

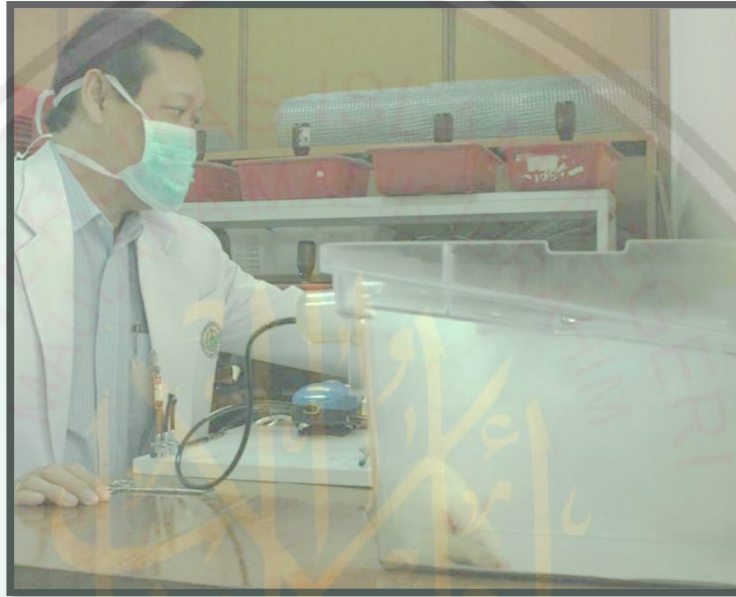
Untuk penelitian kesehatan umumnya dan gizi khususnya, tikus putih telah dikenal sebagai model hewan percobaan yang baik (Gelfand, 2002). Sebagai alasan antara lain karena mudah ditangani, dapat diperoleh dalam jumlah besar, dan memberi hasil nilai ulangan yang dapat dipercaya (Aminah, 2004). Tikus adalah hewan mamalia yang sering dimanfaatkan sebagai hewan coba atau hewan uji dalam berbagai penelitian ilmiah karena memiliki kesamaan fisiologis dengan manusia, siklus hidup yang relatif singkat, tubuhnya yang tidak terlalu besar sehingga mudah dalam pemeliharaan dan penanganannya serta memiliki daya adaptasi yang baik. Tikus juga memiliki kemampuan reproduksi yang tinggi dan masa kehamilan yang singkat sehingga mudah untuk dikembangbiakkan (Kartika *et al.*, 2013).

Paparan asap rokok pada hewan coba tikus telah terbukti menyebabkan stress oksidatif yang ditandai dengan peningkatan kadar MDA, menurunnya kadar SOD dan terjadinya respon inflamasi yang ditandai dengan peningkatan leukosit terutama neutrofil. Berdasarkan hasil penelitian oleh Prayitno *et al* (2018) mencit yang dipapar asap rokok sebanyak 2 batang perhari selama 14 hari mengalami kenaikan kadar MDA jaringan paru yang signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan rerata  $1504,6 \pm 36,0$  ng/mL dibandingkan yang tidak diberi paparan asap rokok dengan rerata  $1294,0 \pm 16,6$  ng/mL serta mengalami penurunan kadar SOD jaringan paru yang signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan rerata  $2,15 \pm 0,36$  U/mL dibandingkan yang tidak diberi paparan asap rokok dengan rerata  $1,33 \pm 0,33$  U/mL. Penelitian lain menyebutkan bahwa pemaparan asap rokok pada tikus wistar sebanyak 3 batang per hari selama 14 hari menyebabkan peningkatan kadar MDA plasma secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan rerata  $13,743 \pm 2,839$  ppm dibandingkan yang tidak diberi paparan asap rokok dengan rerata  $0,094 \pm 0,080$  ppm (Adyitia *et al.*, 2014).

Penelitian juga dilakukan oleh Prihandari dan Muniroh (2018) pada 24 tikus jantan galur Wistar yang dipapar dengan asap rokok dari 2 batang rokok perhari selama dua minggu menunjukkan peningkatan neutrofil dari hapusan darah perifer sebesar  $\pm 13\%$ . Penelitian yang dilakukan oleh Suryani dan Johan (2011) pada tikus jantan galur Wistar yang dipapar asap rokok dari 1 batang rokok setiap hari selama 30 hari juga ditemukan adanya inflamasi yang ditandai dengan meningkatnya jumlah leukosit dan neutrofil secara bermakna ( $p < 0,05$ ).

Untuk meneliti adanya efek paparan asap rokok pada hewan coba dapat menggunakan alat berupa *smoking chamber*. *Smoking chamber* adalah ruang khusus berbentuk kotak terbuat dari plastik tembus pandang berukuran  $40 \times 30 \times 20$

cm<sup>3</sup> yang memungkinkan pengamatan perilaku tikus selama paparan asap rokok (Gambar 2.5). Kompartemen ini dirancang khusus agar dapat menampung asap rokok yang dialirkan melalui pipa plastik dengan bantuan pompa yang dirancang untuk keperluan ini. Terdapat pipa atau kabel plastik yang terpasang ke dalam kompartemen ini yang berfungsi untuk mengalirkan asap rokok (Widodo, 2006).



**Gambar 2.7** Pemaparan asap rokok dengan *smoking chamber*  
(Widodo, 2006)

Pajanan asap rokok kretek pada tikus dilakukan setiap hari. Satu batang rokok sejak awal dinyalakan hingga habis memerlukan waktu 10-12 menit. Tahapan pemajanan asap rokok dilakukan dengan terlebih dahulu mempersiapkan peralatan yang digunakan dalam pemajanan ini. Smoking chamber memiliki lubang penghubung di bagian depan dihubungkan dengan pump. Smoking chamber juga memiliki lubang di sebagai ventilasi yang memungkinkan pertukaran udara. Tikus dimasukkan ke dalam smoking chamber melalui lubang di bagian atas smoking chamber, kemudian ditutup kembali. Penutup smoking chamber hanya terdapat pada bagian atas sehingga keluar masuknya tikus hanya dapat dilakukan dari

smoking chamber bagian atas. Rokok kretek dipasang pada pipa kemudian dibakar menggunakan korek api dan dipompa, sehingga asap rokok masuk ke dalam smoking chamber. Stopwatch / penghitung waktu dipasang untuk mengetahui waktu yang digunakan untuk menghabiskan saat pemaparan asap rokok. Selama proses pemaparan asap rokok, perilaku tikus dapat diamati dalam smoking chamber. Pemaparan batang rokok selanjutnya dilakukan setelah batang rokok pertama telah habis dan keadaan smoking chamber bersih dari asap rokok, hal ini dilakukan pada pipa yang sama dengan rokok ke-1. Kegiatan tersebut dilanjutkan dengan tahapan yang sama, untuk rokok ke-2 hingga rokok terakhir. Pada akhir kegiatan yakni saat semua kelompok perlakuan telah selesai diberi pemaparan asap rokok, tikus-tikus dikembalikan ke kandang dan seluruh peralatan yang digunakan dibersihkan dan disimpan untuk pemaparan selanjutnya (Widodo, 2006).

## **2.7 Kemangi (*Ocimum Citriodorum*)**

### **2.7.1 Klasifikasi Kemangi (*Ocimum Citriodorum*)**

Klasifikasi kemangi (*Ocimum Citriodorum*) adalah sebagai berikut : (Ikhlās, 2013; Mead, 2014)

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Ordo : Lamiales
- Famili : Lamiaceae
- Subfamili : *Nepetoideae*
- Tribe : *Ocimeae*
- Subtribe : *Ociminae*

Genus : *Ocimum* L  
 Spesies : *Ocimum x africanum* Lour  
 Sinonim : *O. x citriodorum*, *O. americanum var. pilosum*, *O. anisatum* dan *O. basilicum var. pilosum*

### 2.7.2 Morfologi Kemangi (*Ocimum Citriodorum*)

*Ocimum Citriodorum* adalah tumbuhan dengan aroma lemon yang khas dan kuat, memiliki batang dan banyak cabang, daun tunggal pada tiap cabang, bentuk daun membulat-memanjang dengan tulang daun menyirip, ujung daun meruncing dan tepinya menggergaji (Patel *et al.*, 2015). Terdapat ciri morfologi yang dapat membedakan *Ocimum Citriodorum* dengan kemangi jenis lain yakni dapat dilihat dari kerapatan cabang berukuran sedang, memiliki bunga berwarna hijau dengan jarak internodus perbungaan sedang hingga panjang. Kemangi jenis ini memiliki daun, batang serta cabang berwarna hijau dengan bentuk tepi daun bergelombang, dan tepi daun bergerigi dangkal (Makmur, 2016).



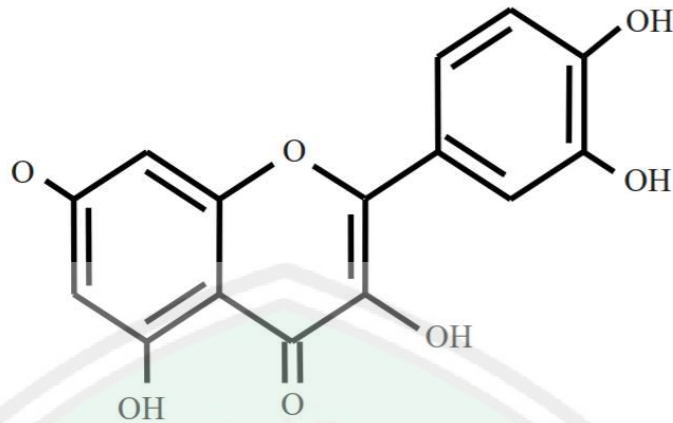
Gambar 2.8 Kemangi (*Ocimum Citriodorum*)  
(Makmur, 2016)

*Ocimum Citriodorum* memiliki beberapa nama sinonim yaitu *O. × africanum* L. (paling umum), *O. anisatum*, *O. americanum var. pilosum*, dan *O. basilicum var. pilosum* (Mead, 2014). Pada beberapa penelitian sebelumnya

dilaporkan bahwa *O. citriodorum* merupakan sinonim dari *O. americanum* L. namun hasil revisi terbaru menyebutkan bahwa kedua spesies tersebut berbeda serta dapat dibuktikan terutama dari ukuran kelopak (Paton, 2012; Mead, 2014) dan kelembatan indumentumnya (Conn, 2014).

### 2.7.3 Kandungan Kemangi (*Ocimum Citriodorum*)

Kemangi mengandung senyawa antioksidan kelompok fenolik seperti yang ditunjukkan pada penelitian yang dilakukan oleh Hakkim *et al* (2008). Jumlah senyawa fenolik pada ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) kering mencapai  $96.3 \pm 3.0$  mg GA/g. Salah satu senyawa fenolik yang terkandung dalam daun kemangi adalah flavonoid berupa *flavonol glycoside*. Flavonoid adalah salah satu contoh senyawa fenolik yang mampu menetralkan ROS. Senyawa ini memiliki aktivitas sebagai agen pereduksi, penghilangan oksigen tunggal dan donor hydrogen (Lestari, 2018). Flavonoid memiliki kemampuan untuk menangkal radikal bebas di dalam tubuh sekaligus dapat memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak (Patil dan Jadhav, 2013). Flavonoid juga mampu meningkatkan ekspresi gen untuk sintesis antioksidan endogen melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2-relates factor 2* (NRF2) yang berakibat pada peningkatan sintesis enzim antioksidan endogen, seperti superoksida dismutase (SOD) (Sumardika dan Jawi, 2012).



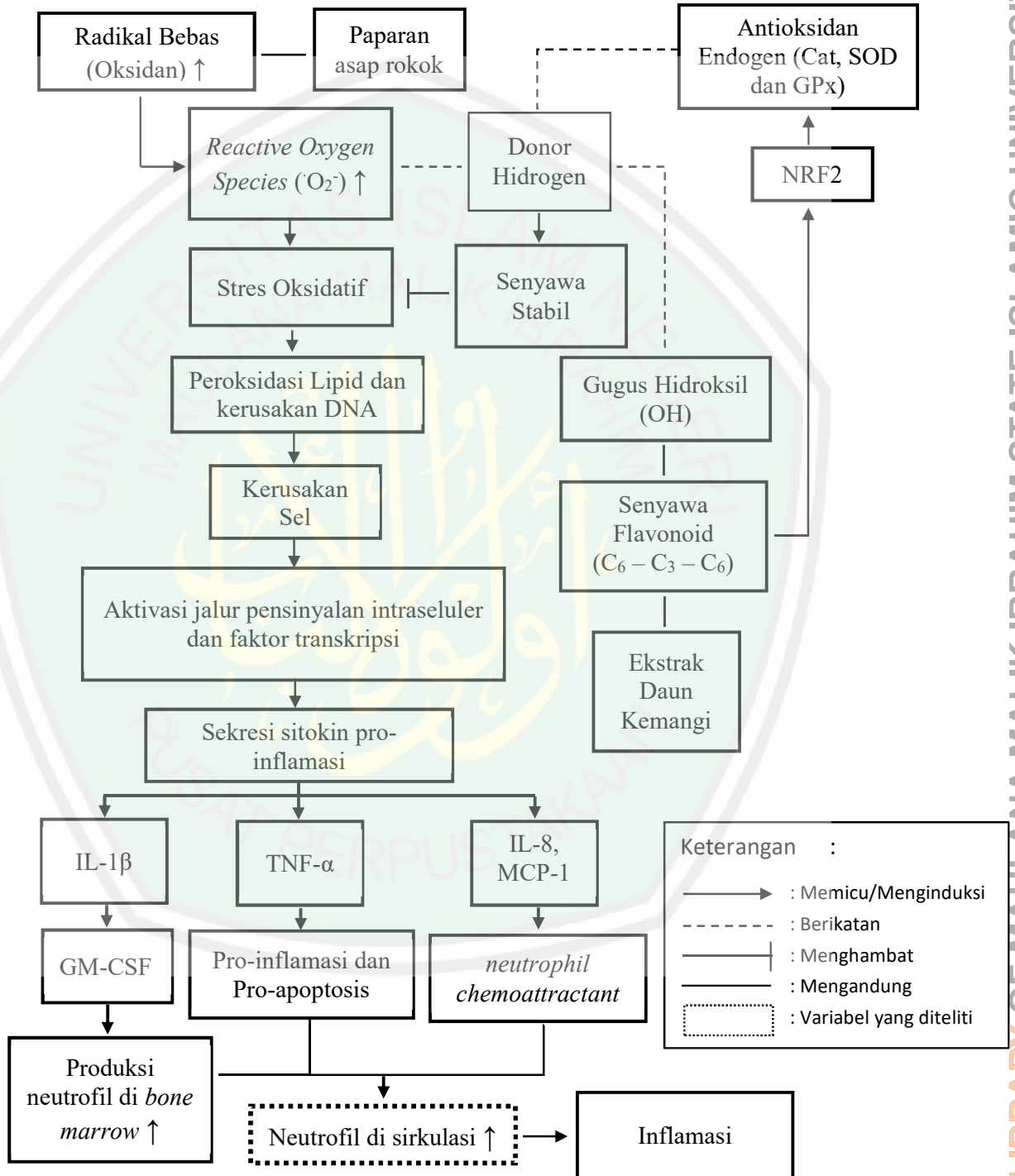
Gambar 2.9 Kerangka C<sub>6</sub> – C<sub>3</sub> – C<sub>6</sub> Flavonoid  
(Redha, 2013)

Penelitian lain menyatakan bahwa kemangi juga memiliki kandungan antioksidan golongan fenolik lainnya seperti senyawa *methyl chavicol* (Vani *et al.*, 2009) dan *rosmarinic acid* (Javanmardi *et al.*, 2002). Daun kemangi memiliki kandungan bioaktif seperti fenol, flavonoid, dan terpen (Tahira, 2013). Pada penelitian lain disebutkan senyawa bioaktif pada *Ocimum Citriodorum* adalah eukaliptol, linalool, kamfer, estragol, eugenol, methyl  $\epsilon$ -Cinnamate, caryophyllene,  $\alpha$ -bergamotene,  $\beta$ -bisabolene,  $\alpha$ farnesene, sphenatulenol (Vieira dan Simon 2006), navadensin, salvigenin, cirsimaritin (Vieira *et al.*, 2003), estragol, geranial dan neral (Stanko *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2015). Pada penelitian yang dilakukan Ikhlas (2013) membuktikan bahwa ekstrak daun *Ocimum Citriodorum* mengandung senyawa alkaloid, fenol, tannin, amilum, saponin, flavonoid, minyak atsiri, lignin, amilum, dan fitosterol.

**BAB III**

**KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS**

**3.1 Kerangka Konsep**



**Penjelasan :**

Paparan asap rokok yang mengandung sekitar 4800 komponen kimia menjadi sumber oksidan atau radikal bebas (*reactive oxygen spesies/ROS*) eksogen di dalam tubuh. Hal ini menjadikan paparan asap rokok sebagai faktor yang dapat mengakibatkan tingginya kadar ROS di dalam tubuh selain dari radikal bebas yang dihasilkan secara alami melalui proses metabolisme sel. Peningkatan jumlah ROS yang tidak diimbangi oleh produksi antioksidan untuk menetralkan peningkatan tersebut akan menyebabkan ketidakseimbangan jumlah ROS dan jumlah antioksidan. Ketidakseimbangan ini dinamakan stres oksidatif.

Dalam kondisi stress oksidatif, radikal bebas (ROS) dapat menginduksi peroksidasi membran sel (terutama peroksidasi lipid), dan menginduksi kerusakan DNA pada sel. Mekanisme ini menyebabkan kerusakan pada sel yang akan menginduksi aktivasi jalur pensinyalan intraseluler dan mengaktifkan kaskade intraseluler untuk memproduksi gen sitokin inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-8, MCP-1 (*monocytes chemoattractant protein-1*), dan IL-1 $\beta$ . Peningkatan produksi dari IL-8 dan MCP-1 yang berfungsi sebagai *neutrophil chemoattractant* menyebabkan akumulasi neutrofil pada lokasi inflamasi. Peningkatan IL-1 $\beta$  menyebabkan peningkatan GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) yang memicu produksi neutrofil dari sumsum tulang.

Ekstrak daun kemangi (*Ocimum Citriodorum*) memiliki aktivitas antioksidan (antioksidan eksogen) karena mengandung senyawa kimia golongan fenolik didalamnya. Senyawa fenolik yang terkandung di dalam daun kemangi adalah flavonoid, yang dapat berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan atom hidrogennya kepada molekul radikal bebas sehingga membentuk senyawa

intermediet radikal fenoksil. Senyawa intermediet radikal fenoksil relatif stabil sehingga tidak mampu lagi menginisiasi reaksi radikal selanjutnya. Aktivitas biologis yang tinggi pada senyawa fenolik ini terletak pada posisi dan jumlah gugus hidroksil (-OH). Flavonoid diketahui mampu berfungsi sebagai antiinflamasi karena flavonoid mampu menghambat terbentuknya sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ . Flavonoid juga dapat meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui aktivasi *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (NRF2) sehingga terjadi peningkatan sintesis enzim antioksidan endogen, seperti superoksida dismutase (SOD).

### 3.2 Hipotesis Penelitian

H0 : Tidak ada perbedaan pengaruh perlakuan yang signifikan pada pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok

H1 : Minimal ada satu pasang perlakuan yang berbeda signifikan pada pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik (*true experimental laboratories*) karena dilakukan di laboratorium yang menggunakan hewan coba tikus wistar jantan sebagai subjek penelitian yang dibagi secara acak menjadi beberapa kelompok. Penelitian ini menggunakan metode *post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui efek dari perlakuan yang dilakukan. Intervensi yang dilakukan berupa pemberian ekstrak daun kemangi pada tikus wistar jantan yang dipapar asap rokok dan parameter yang digunakan berupa neutrofil.

#### 4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

##### 4.2.1 Tempat Penelitian

No.	Penelitian	Tempat
1.	Persiapan hewan coba	Laboratorium hewan coba FKIK UIN Malang
2.	Pembuatan ekstrak daun kemangi a. Penggilingan daun kemangi b. Pembuatan ekstrak	a. Materia Medica Batu b. Laboratorium fitokimia Farmasi FKIK UIN Malang.
3.	Pengambilan sampel darah	Laboratorium hewan coba FKIK UIN Malang

4.	Pengukuran jumlah neutrofil	Laboratorium Patologi Klinik FK Universitas Brawijaya
----	-----------------------------	--

#### 4.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari 2020 – Februari 2020.

#### 4.3 Sampel Penelitian

Estimasi besar sampel penelitian ini dihitung menggunakan rumus Federer :

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

Keterangan:

n : jumlah sampel

p : jumlah kelompok kontrol dan perlakuan

Jika  $p = 6$  maka  $n \geq 4$

Berdasarkan perhitungan tersebut, total sampel yang digunakan minimal 4 sampel untuk masing-masing kelompok. Perhitungan faktor koreksi untuk menjaga kemungkinan hewan coba yang mati yang dihitung menggunakan rumus :  $(f) \pm 10\%$ , sehingga besar sampel dikalikan  $1/1-f$ , sehingga :  $1/(1-0,1) \times 4 = 4.4$  yang dibulatkan menjadi 5, sehingga total sampel dalam penelitian ini adalah 30 ekor tikus.

Tikus dibagi dalam 6 kelompok yaitu kelompok normal, kelompok kontrol negatif (-), kelompok kontrol positif (+), kelompok perlakuan I, kelompok perlakuan II, dan kelompok perlakuan III. Masing-masing kelompok berjumlah 5 ekor yang dipilih secara acak.

No.	Nama Kelompok	Keterangan
1	Normal (N)	Kelompok tikus yang tidak diberi paparan asap rokok (hanya paparan udara lingkungan) dan diberi aquadest
2	Kontrol negatif (K-)	Kelompok tikus yang dipapar asap rokok selama 14 hari sebanyak 3 batang per hari dan diberi aquadest
3	Kontrol positif (K+)	Kelompok tikus yang dipapar asap rokok selama 14 hari sebanyak 3 batang per hari dan diberi Vitamin E dengan dosis 1,44 mg/hari
4	Perlakuan 1 (P1)	Tikus dipapar asap rokok selama 14 hari sebanyak 3 batang per hari dan diberi ekstrak daun kemangi dengan dosis 50 mg/ kgBB (0,05 mg/grBB) setiap hari selama 14 hari.
5	Perlakuan 2 (P2)	Tikus dipapar asap rokok selama 14 hari sebanyak 3 batang per hari dan diberi ekstrak daun kemangi dengan dosis 100 mg/ kgBB (0,1 mg/grBB) setiap hari selama 14 hari.
6	Perlakuan 3 (P3)	Tikus dipapar asap rokok selama 14 hari sebanyak 3 batang per hari dan diberi ekstrak

		daun kemangi dengan dosis 200 mg/ kgBB (0,2 mg/grBB) setiap hari selama 14 hari.
--	--	--

Penentuan jumlah batang rokok dan lama waktu paparan merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Adytia *et al* (2014) yakni pemaparan asap rokok pada tikus wistar sebanyak 3 batang per hari selama 14 hari menyebabkan peningkatan kadar MDA plasma secara signifikan ( $p < 0,05$ ). Penentuan dosis antioksidan Vitamin E merujuk pada penelitian oleh Iswara (2009) yakni dosis vitamin E sebesar 1,44 mg/hari pada hewan coba tikus wistar (berat 150-200 gram) dapat mencegah kerusakan oksidatif utama seperti degradasi oksidatif protein dan peroksidasi lipid yang disebabkan oleh suatu radikal bebas. Penentuan dosis ekstrak kemangi merujuk pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya bahwa efek analgesik dan antiinflamasi dari kemangi (*O. basilicum*) memberikan efek yang optimal pada dosis 100 mg/kgBB (Al- Ghurabi, 2014). Maka peneliti memutuskan dosis perlakuan yang akan diberikan adalah 50mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB.

#### 4.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

##### 4.4.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus wistar putih.
- b. Berjenis kelamin jantan.
- c. Sehat.
- d. Berat badan sekitar 150-250 gram.
- e. Berusia sekitar 10-12 minggu.
- f. Tingkah laku dan aktivitas normal.

g. Tidak ada kelainan anatomi yang tampak.

#### 4.4.2 Kriteria Eksklusi

- a. Sakit (memiliki kelainan anatomi yang tampak, aktivitas tidak normal, keluarnya eksudat yang tidak normal dari mata, mulut, anus dan genital).
- b. Terdapat penurunan berat badan >10% setelah masa adaptasi di laboratorium.
- c. Mati selama masa adaptasi tikus.

#### 4.5 Alat dan Bahan

##### 4.5.1 Alat

No.	Nama Alat	Spesifikasi
1.	Blender	
2.	<i>Container box</i>	volume 6 L
3.	Gelas ukur	Bahan kaca Pyrex berukuran 25 ml dan 1000 ml
4.	<i>Hematology analyzer</i>	Merk Sysmex 300
5.	Kandang tikus	Baskom plastic berukuran 36 cm x 28 cm x 12 cm
6.	<i>Minor set</i>	1 set yang terbuat dari <i>stainless steel</i>
7.	Neraca digital	Merk Camry model EK 3650 max 5 kg
8.	Pengaduk	Bahan pyrex berukuran 19 cm
9.	<i>Rotary evaporator</i>	

10.	<i>Smoking chamber</i>	Terbuat dari kaca dengan penutup berukuran 42 cm x 29 cm x 33 cm
11.	Sonde lambung	One med ukuran 6 ml
12.	Stopwatch	
13.	Wadah minum	Botol kaca dengan volume 250 ml

#### 4.5.2 Bahan

No.	Nama Bahan	Spesifikasi
1.	Darah tikus	Darah yang diambil dari jantung tikus
2.	Ekstrak daun kemangi	Spesies <i>Ocimum Citriodorum</i>
3.	Etanol	Kadar 70%
4.	Handsoen	Terbuat dari bahan karet
5.	Pakan hewan	Pakan standar BR-1
6.	Rokok	Sigaret Kretek Tangan dengan kandungan Nikotin 2.2 mg dan Tar 38mg
7.	Sekam	
8.	Spuit	Berukuran 5 cc
9.	Spuit	Berukuran 3 cc
10.	Tabung EDTA	Berukuran 1 ml
11.	Tikus putih jantan	Galur wistar berusia 10-12 minggu dengan berat 150-250 gram
12.	Tissue	

## 4.6 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

### 4.6.1 Identifikasi Variabel

#### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun kemangi yang diberikan per oral sesuai dosis pada kelompok perlakuan.

#### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah neutrofil dalam darah perifer.

#### 3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah jenis hewan coba yakni tikus wistar jantan, sehat, usia 6-8 minggu, berat 150-250 gram pakan dan minum hewan coba, paparan asap rokok, dan prosedur pengujian jumlah neutrofil.

### 4.6.2 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah:

1. Paparan asap rokok adalah pemberian asap rokok dengan cara membakar rokok yang telah disambungkan ke *smoking pump* sehingga asap rokok akan masuk ke dalam *smoking chamber* dan dihirup oleh tikus yang ada di dalamnya. Paparan asap rokok diberikan sebanyak 3 batang rokok per hari dalam jangka waktu 14 hari.
2. Jumlah neutrofil adalah jumlah neutrofil dalam darah perifer yang disajikan dalam bentuk persentase terhadap jumlah leukosit total. Jumlah neutrofil diukur menggunakan alat *Hematology Analyzer* di laboratorium Histologi Patologi-Anatomi RS UMM.

3. Ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) adalah daun kemangi yang didapatkan dari pasar Karangploso kemudian dipisahkan dengan daun dan batangnya untuk kemudian dikeringkan dan dihaluskan. Simplisia diekstraksi dengan metode UAE dengan pelarut etanol 70% dan diuapkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak yang dihasilkan diberikan pada tikus secara peroral menggunakan sonde lambung selama 14 hari. Dosis yang digunakan adalah 50, 100, dan 200 mg/kgBB/hari.
4. Vitamin E adalah jumlah vitamin E dalam bentuk sediaan gel murni dan dilarutkan ke dalam larutan NaCMC 0,5% yang kemudian kepada tikus per hari nya dengan dosis yaitu 1,44 mg/hari. Dosis didapatkan dari hasil perhitungan:
  - Dosis vitamin E dengan asumsi bahwa  $1 \text{ IU} = 0,666 \text{ mg}$
  - Dosis pencegahan untuk manusia =  $120 \text{ IU/hari} = 80 \text{ mg/hari}$
  - Dosis konversi untuk tikus =  $0,018 \times 80 \text{ mg} = 1,44 \text{ mg/hari}$  (Iswara, 2009).
  - Vitamin E dengan dosis diatas akan diberikan dengan dilarutkan terlebih dahulu pada NaCMC 0,5%.

#### 4.7 Prosedur Penelitian

##### 4.7.1 Persiapan Hewan Coba

- a. Sebelum penelitian dilakukan, tempat pemeliharaan hewan coba disiapkan yakni meliputi kandang, sekam, tempat makan dan minum serta pakan dan minum hewan coba.

b. Hewan coba diadaptasikan selama 7 hari di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Malang dengan diberi pakan dan minum sesuai kebutuhan.

c. Pakan yang diberikan berupa BR1 berbentuk pelet. 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).

d. Tikus yang telah diadaptasikan dibagi secara acak menjadi 6 kelompok, yaitu :

- (a) Kelompok normal yaitu kelompok tikus yang hanya terpapar udara bebas dan aquades
- (b) Kelompok kontrol negatif yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok dan diberi aquades
- (c) Kelompok kontrol positif yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok dan diberi vitamin E sebagai antioksidan dengan dosis 1,44 mg/hari
- (d) Kelompok perlakuan 1 yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok dan diberi ekstrak kemangi dengan dosis 50 mg/kgBB/hari
- (e) Kelompok perlakuan 2 yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok dan diberi ekstrak kemangi dengan dosis 100 mg/kgBB/hari
- (f) Kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok dan diberi ekstrak kemangi dengan dosis 200 mg/kgBB/hari

#### **4.7.2 Penyediaan Bahan Uji**

a. Tanaman kemangi (*Ocimum citriodorum*) segar didapat dari pasar lokal kota Batu dikumpulkan dan dibersihkan dari bahan asing yang terbawa.

- b. Kemangi dijemur hingga kering dibawah terik matahari.
- c. Daun-daun kemangi yang kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga didapatkan serbuk daun kemangi (simplisia).
- d. Simplisia kemudian diekstraksi dengan metode UAE menggunakan pelarut etanol 70%.
- e. Sebanyak 100 gram serbuk daun kemangi diultrasonik dengan 1000 ml etanol 70% kemudian diaduk setiap 2 menit. Pengadukan diulang hingga 3 kali.
- f. Ekstrak cair yang dihasilkan kemudian disaring menggunakan kertas saring dan diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak yang kental untuk kemudian dicampurkan dengan larutan Na CMC 0,5% sebelum diberikan kepada tikus secara per oral (Maulidiyah, 2018).

#### 4.7.3 Pembuatan Sediaan Larutan Na CMC 0,5%

- a. 1000 ml aquades dipanaskan hingga mendidih.
- b. 500 mg serbuk Na CMC dimasukkan perlahan sembari diaduk dengan bantuan *magnetic stirrer* hingga larutan mengental.
- c. Pemanasan bisa dihentikan setelah larutan homogen, dan larutan NaCMC 0,5% disimpan di dalam kulkas.

#### 4.7.4 Persiapan Sediaan Ekstrak Etanol Daun Kemangi

Dosis daun kemangi pada penelitian ini adalah 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB, dengan perhitungan dosisnya sebagai berikut :

- a. Menentukan Konsentrasi Sediaan

Dosis Perlakuan (mg/kgBB) : Persen Pemberian (mL/100gBB)

Dosis 1 = 50 mg/kgBB : 1 mL/100gBB

$$= 5 \text{ mg/mL}$$

$$= 0,5\% \text{ (g/mL)}$$

$$\text{Dosis 2} = 100 \text{ mg/kgBB} : 1 \text{ mL/100gBB}$$

$$= 10 \text{ mg/mL}$$

$$= 1\% \text{ (g/mL)}$$

$$\text{Dosis 3} = 200 \text{ mg/kgBB} : 1 \text{ mL/100gBB}$$

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

$$= 2\% \text{ (g/mL)}$$

b. Menentukan Berat Ekstrak yang Ditimbang

Dosis Perlakuan x Total Berat Hewan (rata-rata berat x jumlah hewan)

$$\text{Dosis 1} = 50 \text{ mg/kgBB} \times (200\text{gBB} \times 5)$$

$$= 50 \text{ mg/hari untuk 5 ekor tikus}$$

$$\text{Dosis 2} = 100 \text{ mg/kgBB} \times (200\text{gBB} \times 5)$$

$$= 100 \text{ mg/hari untuk 5 ekor tikus}$$

$$\text{Dosis 3} = 200 \text{ mg/kgBB} \times (200\text{gBB} \times 5)$$

$$= 200 \text{ mg/hari untuk 5 ekor tikus}$$

c. Menentukan Volume Sediaan Ekstrak yang Dibuat

Berat Ekstrak yang Diperlukan : Konsentrasi Sediaan

$$\text{Dosis 1} = 50 \text{ mg} : 0,5\% \text{ (0,5g / 100 mL)}$$

$$= 10 \text{ mL/hari untuk 5 ekor tikus}$$

$$\text{Dosis 2} = 100 \text{ mg} : 1\% \text{ (1g / 100 mL)}$$

$$= 10 \text{ mL/hari untuk 5 ekor tikus}$$

$$\text{Dosis 3} = 200 \text{ mg} : 2\% \text{ (2g / 100 mL)}$$

$$= 10 \text{ mL/hari untuk 5 ekor tikus}$$

Perhitungan diatas menggunakan persen pemberian sebesar 1% (1mL/100gBB) yaitu persen pemberian yang umum bagi obat/ekstrak yang akan diberikan melalui oral. Konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi yang diberikan secara oral ini akan dicampurkan dalam larutan Na CMC 0,5% dan akan diberikan dengan menggunakan sonde lambung dan volume 2 mL untuk tiap tikus sehingga tidak melebihi volume maksimal lambung tikus yaitu pada 3-5mL. Jika ekstrak yang diberikan melebihi volume lambung maka bisa terjadi komplikasi yang tidak diinginkan pada penelitian ini.

#### 4.7.5 Persiapan Sediaan Larutan Vitamin E

Dosis vitamin E adalah jumlah vitamin E dalam bentuk sediaan gel murni dan dilarutkan ke dalam larutan NaCMC 0,5% yang kemudian kepada tikus per harinya dengan dosis yaitu 1,44 mg/hari. Dosis ini didapatkan dari hasil perhitungan sebagai berikut:

Dosis vitamin E dengan asumsi bahwa 1 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).

#### 4.7.3 Perlakuan Hewan Coba

- a. Masing-masing kelompok tikus dimasukkan ke dalam *smoking chamber* (kecuali kelompok kontrol negatif)
- b. Tikus diberi paparan asap rokok secara akut yaitu 3 batang rokok per hari pada setiap kelompok
- c. Tikus diberi perlakuan sesuai dengan kelompok perlakuan masing-masing (kelompok kontrol positif diberikan aquadest, kelompok perlakuan diberikan ekstrak daun kemangi secara per oral sesuai dosisnya)

d. Pemaparan dan perlakuan dilakukan selama 14 hari.

#### 4.7.4 Pengambilan Sampel Darah

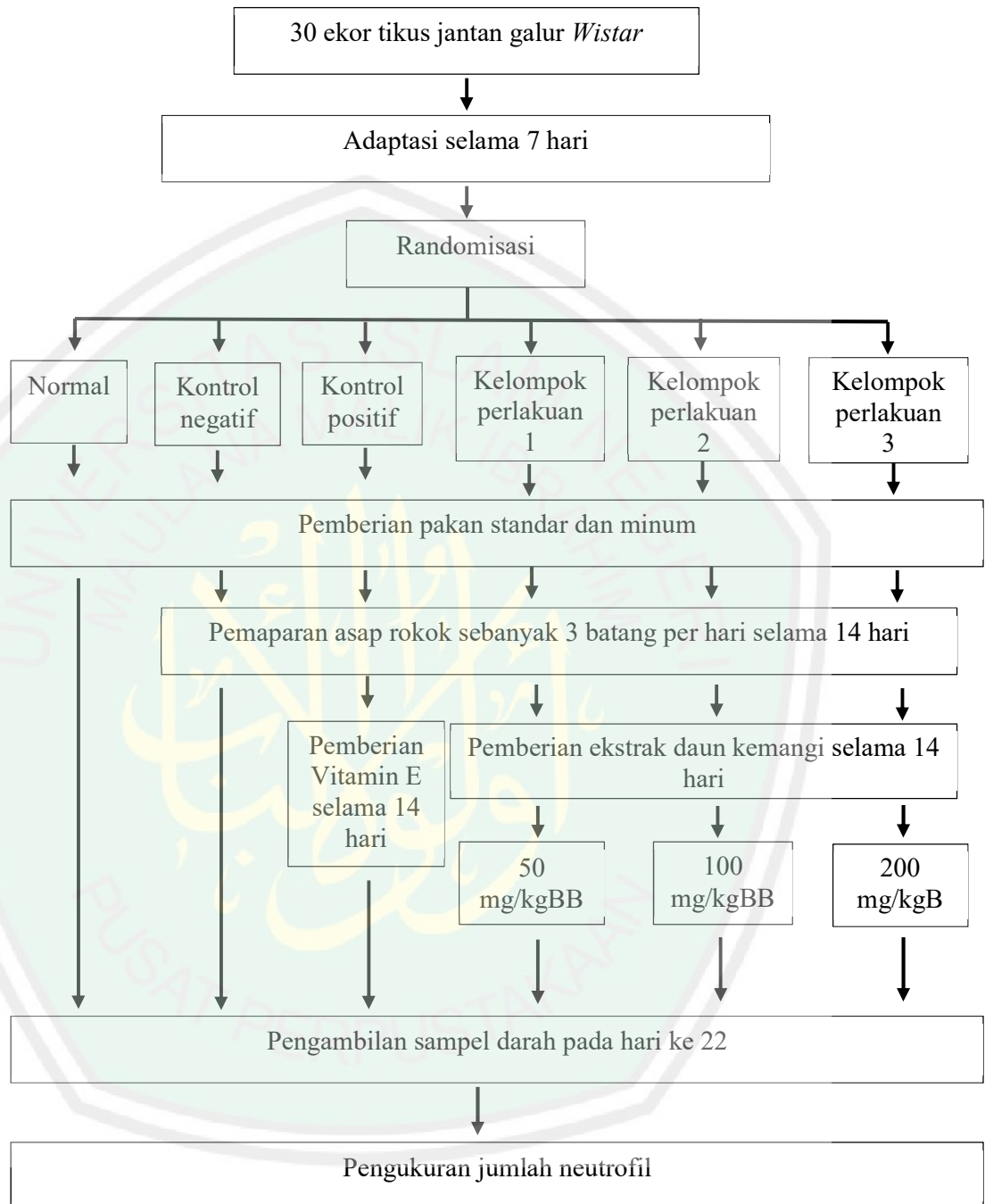
- a. Pada hari ke 21, tikus dipuasakan selama minimal 8 jam sebelum dilakukan pembedahan
- b. Dilakukan euthanasia secara fisik dengan cara dislokasi servikal, yaitu dengan memisahkan tulang tengkorak dan otak dari sumsum tulang belakang (Adyttia, 2014).
- c. Tikus diposisikan terlentang diatas papan datar dengan alat gerak difiksasi menggunakan jarum pentul untuk kemudian dilakukan pembedahan.
- d. Darah tikus diambil dari jantung dan ditampung dalam tabung EDTA
- e. Sampel darah dibawa ke laboratorium guna mengetahui jumlah neutrofil tikus yang telah diberi perlakuan. Penyimpanan darah dalam EDTA dalam waktu satu jam atau lebih dalam suhu ruangan (Muslim, 2015) atau lebih dari 20 jam pada suhu 2-8°C menyebabkan kesalahan penghitungan jumlah neutrofil (Dameuli *et al.*, 2018).
- f. Pengukuran jumlah neutrofil dilakukan menggunakan *hematology analyzer*. Kesalahan dalam pemeriksaan dapat ditemui pada tahap pra analitik seperti prosedur pengambilan serta penyimpanan sampel, transportasi dan distribusi sampel (Dameuli *et al.*, 2018). Pada tahap analitik seperti tahap pemeliharaan dan kalibrasi alat *hematology analyzer* serta prosedur pembuatan sediaan apus darah seperti lama waktu fiksasi. Kesalahan pada tahap pasca analitik seperti kesalahan perhitungan dan kesalahan interpretasi (Permenkes RI, 2013).

#### 4.7.5 Perhitungan Jumlah Neutrofil dengan Hematology Analyzer

- a. Alat *Hematology Analyzer* dihidupkan dengan menekan tombol on/off hingga muncul tulisan “*READY*”
- b. Pemeriksaan jumlah neutrofil dilakukan dengan memilih mode *Whole Blood* “WB” pada layar
- c. Sampel darah yang akan diperiksa diletakkan di bawah *Aspiration Probe* untuk dihisap oleh alat.
- d. Sampel darah akan terhisap setelah tombol *Start* ditekan.
- e. Hasil pemeriksaan akan ditampilkan pada layar alat *Hematology Analyzer*.
- f. Hasil pemeriksaan dicetak untuk selanjutnya dilakukan analisis.



#### 4.8 Alur Penelitian



#### 4.9 Analisis Data

Data jumlah neutrofil yang diperoleh dari 6 kelompok berupa data numerik selanjutnya diolah dengan cara tabulasi. Data tabulasi dilakukan uji statistik dengan menggunakan program *Statistical Program Service Solution* (SPSS). Apabila dari uji normalitas (uji *Shapiro Wilk*) dan uji homogenitas (uji *Levene*) data dinyatakan normal dan homogen, maka akan dilanjutkan dengan uji statistik *One Way ANOVA*. Uji statistik *ANOVA* (*Analysis of Variance*) dilakukan untuk menguji signifikansi perbedaan rata-rata data tiap kelompok. Perbedaan disebut signifikan bila didapatkan nilai signifikansi ( $p$ )  $< 0.05$ . Pada uji selanjutnya dilakukan analisis lanjutan dengan menggunakan Post Hoc LSD (*Least Significance Different*) untuk mengetahui kelompok mana saja yang menunjukkan adanya perbedaan rata-rata. Apabila data yang didapatkan tidak terdistribusi normal maka dilakukan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*.

#### 4.10 Etik Penelitian

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

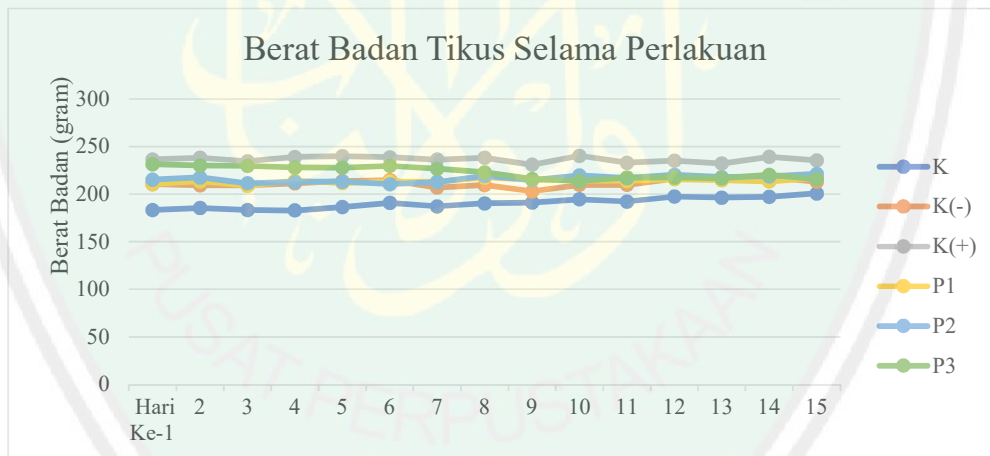
## BAB V

### 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 jumlah neutrofil dalam darah tikus. Sampel yang digunakan telah dipilih berdasarkan kriteria inklusi yakni merupakan tikus putih galur wistar jantan yang berusia 10-12 minggu dengan berat badan 150-250 gram dengan tingkah laku aktivitas normal serta tidak tampak kelainan anatomi pada tubuh tikus. Sampel terbagi dalam 6 kelompok, masing-masing terdiri dari 4 sampel tikus wistar.

##### 5.1.1 Berat Badan Tikus Selama Perlakuan



Keterangan :

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.

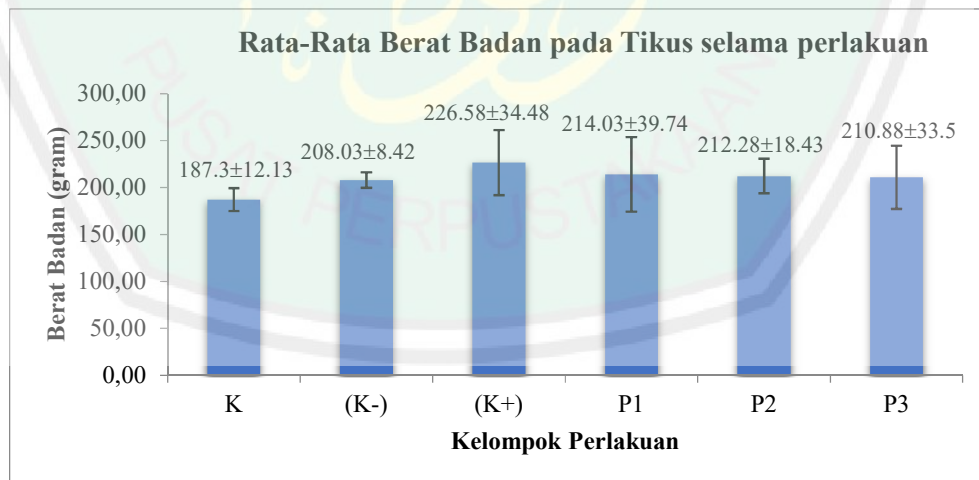
**Gambar 5.1. Grafik Harian Berat Badan Tikus Selama Perlakuan**

Selama 15 hari perlakuan dengan pemberian paparan asap rokok kretek, dilakukan pengukuran dan pencatatan berat badan pada seluruh kelompok tikus setiap harinya. Pengukuran menggunakan neraca digital yang diukur sesaat

sebelum dilakukan paparan asap rokok maupun penyondean. Hasil pengukuran berat badan tikus adalah sebagai berikut :

Kelompok Normal (K) mempunyai rata-rata berat badan yang paling rendah diantara kelompok lainnya meskipun ditemukan adanya kenaikan berat badan. Sebaliknya pada kelompok K+ memiliki rata-rata berat badan tikus yang tertinggi. Pada kelompok P3 didapatkan berat badan yang sedikit menurun dari hari ke hari. Pada kelompok K-, P1 dan P2 berat badan tikus secara keseluruhan hampir sama setiap harinya. Data pada gambar 5.1 kemudian diolah dengan analisis deskriptif kuantitatif serta dilanjutkan dengan uji statistik menggunakan program *Statistical Program Service Solution (SPSS)* versi 26.

Berdasarkan pengolahan statistik dari hasil pengukuran berat badan pada 6 kelompok tikus yaitu kelompok normal, kelompok kontrol negatif (-), kelompok kontrol positif (+), serta kelompok perlakuan yang terdiri dari 3 dosis yaitu dosis 1 (50 mg/kgBB), dosis 2 (100 mg/kgBB) dan dosis 3 (200 mg/kgBB) didapatkan hasil grafik sebagai berikut:



Keterangan :

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.

**Gambar 5.2. Grafik rata-rata berat badan tikus selama perlakuan**

Gambar 5.2. menginformasikan rata-rata dan standar deviasi berat badan pada tikus dari 6 kelompok, untuk kelompok perlakuan normal yaitu kelompok tikus tanpa paparan asap rokok dan diberikan aquades memiliki rata-rata berat badan sebesar  $187.3 \pm 12.13$ . Kelompok berikutnya yaitu kelompok kontrol negatif yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok disertai pemberian aquades memiliki rata-rata berat badan sebesar  $208.03 \pm 8.42$ . Kelompok perlakuan kontrol positif yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok kemudian diberikan vitamin E sebagai antioksidan poten memiliki rata-rata berat badan sebesar  $226.58 \pm 34.48$ .

Pada kelompok perlakuan 1 yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok kemudian diberi ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dengan dosis 50 mg/kgBB memiliki rata-rata berat badan sebesar  $214.03 \pm 39.74$ . Pada kelompok perlakuan 2 yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok kemudian diberi ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dengan dosis 100 mg/kgBB memiliki rata-rata berat badan sebesar  $212.28 \pm 18.43$  serta yang terakhir, kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok kemudian diberi ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dengan dosis 200 mg/kgBB memiliki rata-rata berat badan sebesar  $210.88 \pm 33.57$ .

Uji normalitas terhadap berat badan pada tikus selama perlakuan bertujuan untuk mengetahui distribusi pada data berat badan normal atau tidak. Uji normalitas dilakukan menggunakan uji *Shapiro Wilk*, dengan kriteria apabila nilai probabilitas  $> level\ of\ significance$  ( $\alpha = 5\%$ ) ( $p > 0,05$ ) maka data dinyatakan normal. Hasil uji normalitas terhadap berat badan pada tikus selama perlakuan dapat dilihat melalui tabel berikut :

Tabel 5.1. Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*

Kelompok	<i>Shapiro-Wilk</i>	Keterangan
Normal	0,551	Normal
Kontrol negatif (K-)	0,661	Normal
Kontrol positif (K+)	0,835	Normal
P1 (dosis 50 mg/ kgBB )	0,205	Normal
P2 (dosis 100 mg/ kgBB )	0,574	Normal
P3 (dosis 200 mg/ kgBB )	0,918	Normal

Sumber : Data primer penulis, 2020

Berdasarkan Tabel 5.1. dapat diketahui bahwa uji normalitas terhadap berat badan pada tikus selama perlakuan menghasilkan nilai signifikansi *Shapiro Wilk* pada masing-masing kelompok  $>$  alpha (5%). Hal ini dapat diartikan bahwa uji normalitas terhadap berat badan pada tikus selama perlakuan dinyatakan memenuhi asumsi normalitas sehingga data tersebut memiliki distribusi yang normal.

Pengujian homogenitas terhadap berat badan pada tikus selama perlakuan bertujuan untuk mengetahui keragaman data homogen atau tidak. Uji homogenitas terhadap berat badan pada tikus yang dipapar asap rokok dilakukan menggunakan *Levene Test*, dengan kriteria apabila nilai probabilitas  $>$  *level of significance* (alpha = 5%) ( $p > 0,05$ ) maka dinyatakan homogen. Hasil uji homogenitas terhadap berat badan pada tikus selama perlakuan dapat dilihat melalui tabel berikut:

Tabel 5.2. Uji Homogenitas *Levene Test*

<i>Levene Statistic</i>	2,176
Probabilitas	0,102

Sumber : Data primer penulis, 2020

Berdasarkan Tabel 5.2. dapat diketahui bahwa uji homogenitas terhadap berat badan pada tikus selama perlakuan menghasilkan statistik *Levene* sebesar 2,176 dengan probabilitas sebesar 0,102. Hal ini dapat diartikan bahwa uji homogenitas terhadap berat badan pada tikus selama perlakuan menghasilkan probabilitas  $>$  alpha (5%), sehingga data tersebut memiliki ragam yang homogen.

Data tersebut dinyatakan memenuhi syarat untuk dilakukan uji statistik parametrik karena data berdistribusi normal dan memiliki ragam yang homogen.

Uji beda berat badan pada tikus selama perlakuan dilakukan menggunakan *One Way ANOVA* dengan hipotesis berikut ini:

H0 : Tidak ada perbedaan pada berat badan pada tikus selama perlakuan

H1 : Minimal ada satu pasang perlakuan yang berbeda signifikan pada berat badan pada tikus selama perlakuan

Kriteria pengujian menyebutkan apabila probabilitas  $\leq$  *level of significance* (alpha = 5%) ( $p < 0,05$ ) maka H0 ditolak, sehingga dapat dinyatakan bahwa minimal ada satu pasang perlakuan yang berbeda signifikan pada berat badan pada tikus selama perlakuan. Hasil uji beda berat badan pada tikus selama perlakuan dapat dilihat melalui tabel berikut:

Tabel 5.3. Hasil Uji Beda *One Way Anova*

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	3263.682	5	652.736	0,879	0,515
Error	13360.438	18	742.247		
Total	16624.120	23			

Sumber : Data primer penulis, 2020

Tabel 5.3. menginformasikan bahwa uji beda berat badan pada tikus selama perlakuan menghasilkan statistik uji *F* sebesar 0,879 dengan probabilitas sebesar 0,515. Hal ini dapat diartikan bahwa tidak didapatkan probabilitas  $<$  alpha (5%), sehingga H1 ditolak. Oleh karena itu, dapat dinyatakan bahwa tidak ada perbedaan berat badan pada tikus selama perlakuan.

### 5.1.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Citriodorum*) Terhadap Jumlah neutrofil pada Tikus yang Dipapar Asap Rokok

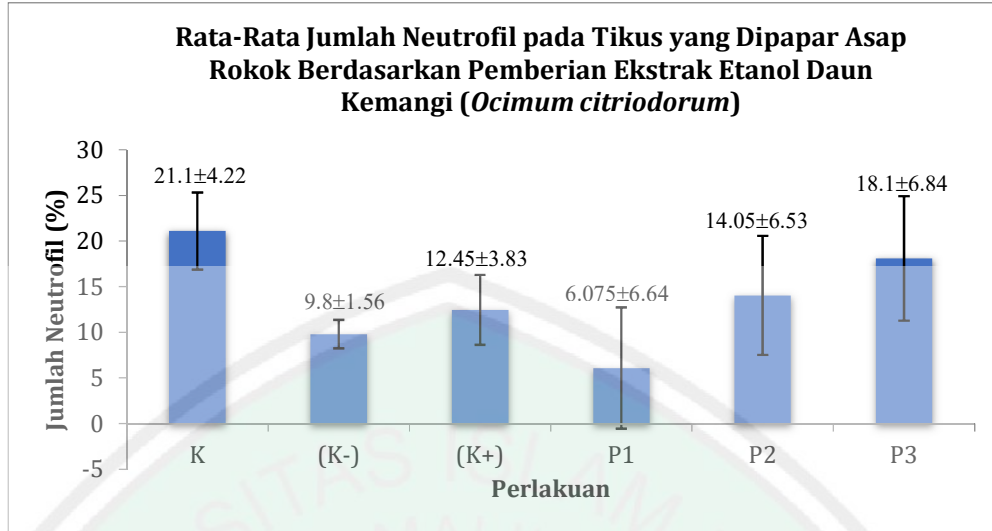
Pengukuran jumlah neutrofil dilakukan dengan menggunakan metode *Automatic Hematology Analyzer* menggunakan alat *hematology analyzer* milik Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Universitas Muhammadiyah Malang. Sampel yang digunakan merupakan sampel darah tikus yang telah di simpan dalam tabung EDTA agar tidak terjadi koagulasi. Hasil pengukuran disajikan pada tabel berikut:

Tabel 5.4. Hasil Pengukuran Jumlah Neutrofil

Perlakuan	Rerata Neutrofil (%)	Standar Deviasi
Kontrol (Normal)	21.1	4.22
Kontrol Negatif	9.8	1.56
Kontrol Positif	12.45	3.83
Dosis 50 mg/kgBB	6.075	6.64
Dosis 100 mg/kgBB	14.05	6.53
Dosis 200 mg/kgBB	18.1	6.84

Sumber : Data primer penulis, 2020

Data pada Tabel 5.4. kemudian diolah dengan analisis deskriptif kuantitatif serta dilanjutkan dengan uji statistik menggunakan program *Statistical Program Service Solution* (SPSS) versi 26. Berdasarkan pengolahan statistik dari hasil pengukuran jumlah neutrofil pada 6 kelompok yaitu kelompok normal, kelompok kontrol negatif (-), kelompok kontrol positif (+), serta kelompok perlakuan yang terdiri dari 3 dosis yaitu dosis 1 (50 mg/kgBB), dosis 2 (100 mg/kgBB) dan dosis 3 (200 mg/kgBB) didapatkan hasil grafik sebagai berikut:



Keterangan :

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.

**Gambar 5.3. Grafik Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*O. citriodorum*) terhadap Jumlah Neutrofil**

Gambar 5.3. menginformasikan rata-rata dan standar deviasi jumlah neutrofil dalam darah perifer pada tikus dari 6 kelompok, untuk kelompok perlakuan normal yaitu kelompok tikus tanpa paparan asap rokok dan diberikan aquades memiliki rata-rata jumlah neutrofil sebesar 21.1±4.22. Berikutnya yaitu kelompok perlakuan kontrol negatif yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok disertai pemberian aquades memiliki rata-rata jumlah neutrofil sebesar 9.8±1.56. Kelompok perlakuan kontrol positif yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok kemudian diberikan vitamin E sebagai antioksidan poten memiliki rata-rata jumlah neutrofil sebesar 12.45±3.83.

Pada kelompok perlakuan 1 yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok kemudian diberi ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dengan dosis 50 mg/kgBB memiliki rata-rata jumlah neutrofil sebesar 6.075±6.64. Pada kelompok perlakuan 2 yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok kemudian diberi ekstrak daun

kemangi (*O. citriodorum*) dengan dosis 100 mg/kgBB memiliki rata-rata jumlah neutrofil sebesar  $14.05 \pm 6.53$  serta yang terakhir, kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok tikus yang dipapar asap rokok kemudian diberi ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dengan dosis 200 mg/kgBB memiliki rata-rata jumlah neutrofil sebesar  $18.1 \pm 6.84$ .

Berdasarkan analisis deskriptif dari keenam kelompok perlakuan pada penelitian ini, dapat diketahui bahwa kelompok kontrol negatif yang dipapar asap rokok memiliki rata-rata jumlah neutrofil yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok normal yaitu kelompok tikus tanpa paparan asap rokok, sedangkan kelompok tikus yang diberi perlakuan penambahan antioksidan memiliki rata-rata jumlah neutrofil yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang tidak diberi tambahan antioksidan.

Pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun kemangi dengan dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB memiliki rata-rata jumlah neutrofil yang lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan pemberian vitamin E, sedangkan pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak daun kemangi dengan dosis 100 mg/kgBB memiliki rata-rata jumlah neutrofil yang lebih rendah.

Uji normalitas terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar rokok berdasarkan pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) bertujuan untuk mengetahui distribusi pada data jumlah neutrofil. Uji normalitas dilakukan menggunakan uji *Shapiro Wilk*, dengan kriteria apabila nilai probabilitas  $> level\ of\ significance$  ( $\alpha = 5\%$ ) ( $p > 0,05$ ) maka data dinyatakan normal. Hasil uji normalitas terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar rokok berdasarkan

pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dapat dilihat melalui tabel berikut :

**Tabel 5.5. Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk***

<b>Kelompok</b>	<b><i>Shapiro-Wilk</i></b>	<b>Keterangan</b>
<b>Normal</b>	0,170	Normal
<b>Kontrol negatif (K-)</b>	0,395	Normal
<b>Kontrol positif (K+)</b>	0,509	Normal
<b>P1 (dosis 50 mg/ kgBB )</b>	0,322	Normal
<b>P2 (dosis 100 mg/ kgBB )</b>	0,279	Normal
<b>P3 (dosis 200 mg/ kgBB )</b>	0,952	Normal

Sumber : Data primer penulis, 2020

Berdasarkan Tabel 5.5. dapat diketahui bahwa uji normalitas perbedaan pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok menghasilkan sig *Shapiro Wilk* pada masing-masing kelompok  $> \alpha$  (5%). Hal ini dapat diartikan bahwa uji normalitas perbedaan pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar rokok dinyatakan memenuhi asumsi normalitas.

Pengujian homogenitas terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar rokok berdasarkan pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) bertujuan untuk mengetahui keragaman data homogen atau tidak. Uji homogenitas pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok dilakukan menggunakan *Levene Test*, dengan kriteria apabila nilai probabilitas  $> \text{level of significance}$  ( $\alpha = 5\%$ ) ( $p > 0,05$ ) maka dinyatakan homogen. Hasil uji homogenitas terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar rokok berdasarkan pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dapat dilihat melalui tabel berikut:

**Tabel 5.6. Uji Homogenitas *Levene Test***

<i>Levene Statistic</i>	2,066
Probabilitas	0,177

Sumber : Data primer penulis, 2020

Berdasarkan Tabel 5.6. dapat diketahui bahwa uji homogenitas perbedaan pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok menghasilkan statistik *Levene* sebesar 2,066 dengan probabilitas sebesar 0,177. Hal ini dapat diartikan bahwa uji homogenitas perbedaan pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar rokok menghasilkan probabilitas  $>$  alpha (5%), sehingga data tersebut memiliki ragam yang homogen. Data dinyatakan memenuhi syarat untuk dilakukan uji statistik parametrik karena data berdistribusi normal dan memiliki ragam yang homogen.

Uji beda pengaruh pemberian paparan pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar rokok dilakukan menggunakan *One Way ANOVA* dengan hipotesis berikut ini:

H0 : Tidak ada perbedaan pengaruh perlakuan yang signifikan pada pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok

H1 : Minimal ada satu pasang perlakuan yang berbeda signifikan pada pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok

Kriteria pengujian menyebutkan apabila probabilitas  $\leq$  *level of significance* (alpha = 5%) ( $p < 0,05$ ) maka H0 ditolak, sehingga dapat dinyatakan bahwa minimal ada satu pasang kelompok perlakuan yang berbeda signifikan pada pemberian ekstrak

daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok. Hasil uji beda pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok dapat dilihat melalui tabel berikut:

Tabel 5.7. Hasil Uji Beda *One Way Anova*

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Perlakuan	596,362	5	119,272	4,252	0,010
Error	504,948	18	28,053		
Total	1101,310	23			

Sumber : Data primer penulis, 2020

Tabel 5.7. menginformasikan bahwa uji beda pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok menghasilkan statistik uji *F* sebesar 4,252 dengan probabilitas sebesar 0,010. Hal ini dapat diartikan bahwa didapatkan probabilitas  $< \alpha$  (5%), sehingga  $H_0$  ditolak. Oleh karena itu, dapat dinyatakan bahwa minimal ada satu pasang perlakuan yang berbeda signifikan pada pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok.

Analisa lanjutan dilakukan menggunakan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar masing-masing kelompok perlakuan terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok dengan kriteria bahwa apabila satu pasang perlakuan menghasilkan probabilitas  $\leq$  *level of significance* ( $\alpha = 5\%$ ) maka dapat dinyatakan terdapat perbedaan pengaruh pemberian perlakuan yang berbeda signifikan terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok. Hasil analisis *Post Hoc LSD* perbedaan pengaruh pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) terhadap jumlah neutrofil pada tikus yang dipapar asap rokok dapat diketahui melalui tabel berikut ini:

Tabel 5.8. Hasil Uji *Post Hoc* LSD

Perlakuan	Sig	Keputusan	
Normal	K+	0,007*	Ada perbedaan
	K-	0,033*	Ada perbedaan
	P1	0,001*	Ada perbedaan
	P2	0,076	Tidak ada perbedaan
	P3	0,434	Tidak ada perbedaan
K-	K+	0,488	Tidak ada perbedaan
	P1	0,333	Tidak ada perbedaan
	P2	0,271	Tidak ada perbedaan
	P3	0,040*	Ada perbedaan
K+	P1	0,106	Tidak ada perbedaan
	P2	0,674	Tidak ada perbedaan
	P3	0,149	Tidak ada perbedaan
P1	P2	0,047*	Ada perbedaan
	P3	0,005*	Ada perbedaan
P2	P3	0,294	Tidak ada perbedaan

Sumber : Data primer penulis, 2020

Hasil analisis di atas menunjukkan bahwa kelompok normal yaitu tikus tanpa dipapar asap rokok berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan perlakuan P1 yaitu pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dengan dosis 50 mg/kgBB. Pada kelompok kontrol negatif yaitu yang dipapar asap rokok dan diberi aquadest memiliki hasil yang berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan 3 yaitu pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) dengan dosis 200 mg/kgBB pada tikus yang dipapar asap rokok. Berdasarkan hasil analisis data tersebut dapat dilihat bahwa pemberian paparan

asap rokok dapat mempengaruhi jumlah neutrofil pada darah tikus secara signifikan dan pemberian zat antioksidan berupa ekstrak daun kemangi dapat mempengaruhi jumlah neutrofil pada darah tikus setelah diberi paparan asap rokok secara signifikan pada dosis 200 mg/kgBB.

## 5.2 Pembahasan

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus putih galur wistar jantan yang berusia 10-12 minggu dengan berat badan 150-250 gram sebanyak 24 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 pada setiap kelompok tikus 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 sampel darah dari organ jantung. Sampel darah yang didapatkan berjumlah 24 sampel kemudian dilakukan penghitungan jumlah neutrofil dengan alat *hematology analyzer*. Data

jumlah neutrofil yang didapat selanjutnya dilakukan pengolahan serta pengujian data secara statistik.

### **5.2.1 Pembahasan Analisis Data SPSS**

#### **Berat Badan Tikus Selama Perlakuan**

Pada kelompok normal (K) rata-rata berat badan tikus selama 15 hari perlakuan mengalami peningkatan, walaupun pada hari ketiga mengalami sedikit penurunan. Kelompok normal (K) ini adalah kelompok yang tidak diberi perlakuan sama sekali. Pada kelompok K- rata-rata berat badan tikus selama 15 hari perlakuan relatif stabil walaupun pada hari ke 9 ditemukan penurunan berat badan. Pada kelompok K- juga ditemukan faktor stres yakni beberapa tikus pada kelompok K- didapatkan luka pada bagian mulut, hidung dan telinga akibat berkelahi sesama satu kelompok. Pada kelompok K- tikus dipapar asap rokok sebanyak 3 batang setiap harinya. Asap yang terhirup seharusnya memberikan efek stres terhadap tikus dan memungkinkan tikus mengalami penurunan berat badan.

Pada kelompok K+, P1, P2, dan P3 rata-rata berat tikus juga relatif stabil selama 15 hari perlakuan. Kelompok K+ memiliki rata-rata berat badan yang tinggi dibanding dengan kelompok lainnya. Perbedaan rata-rata berat antara setiap kelompok P1, P2, dan P3 pada hari ke 15 sekitar 5 gram. Pada kelompok K+, P1, P2, dan P3 selain mendapatkan paparan asap rokok sebanyak 3 batang per hari juga mendapatkan sonde ekstrak daun kemangi setiap harinya. Stres yang diterima tikus lebih besar dibandingkan dengan kelompok normal (K). Tikus yang dipegang secara rutin, dipapar asap rokok, dan disonde akan meningkatkan tekanan darah, detak jantung, dan konsentrasi dari glukokortikoid. Hal inilah yang

menyebabkan stres pada tikus. Stres yang dialami tikus membuat tikus tidak tumbuh secara maksimal (Balcombe *et al.*, 2004).

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran berat badan pada kelompok normal untuk mengetahui berat badan pada keadaan normal dan dilakukan pengukuran berat badan pada kelompok negatif untuk mengetahui efek dari asap rokok terhadap berat badan tikus. Berdasarkan uji beda *One Way ANOVA* menghasilkan nilai probabilitas sebesar 0,515 ( $p > 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok normal dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini dapat diartikan bahwa tidak ada perbedaan pada berat badan pada tikus selama perlakuan yang dapat mempengaruhi hasil dari penelitian ini.

Setiap kelompok selama perlakuan mendapatkan porsi makanan, dan merk pakan yang sama. Untuk pakan tikus digunakan pelet merk BR-1 yang dicampur dengan air. 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). Satu ekor tikus setiap harinya membutuhkan kurang lebih sebanyak 15% dari bobot tubuhnya jika pakan yang dikonsumsi dalam bentuk basah. Kebutuhan minum se-ekor tikus setiap harinya kira-kira 15-30 ml air (National Research Council, 1978). Hal ini sudah dilakukan pada setiap kelompok dalam penelitian ini sehingga pakan dan minum dari tikus sudah terjamin dan tikus tidak akan kelaparan ataupun kehausan. Wahju (1997) menyatakan bahwa faktor yang mempengaruhi pertambahan bobot badan adalah 45% faktor internal dan 55% dari faktor lingkungan. Faktor lingkungan yang berpengaruh terutama pada kualitas pakan.

### **Pengaruh Paparan Asap Rokok terhadap Jumlah Neutrofil**

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran jumlah neutrofil pada kelompok normal untuk mengetahui jumlah neutrofil pada keadaan normal dan dilakukan pengukuran jumlah neutrofil pada kelompok negatif untuk mengetahui efek dari asap rokok terhadap jumlah neutrofil tikus. Didapatkan hasil rata-rata jumlah neutrofil pada kelompok normal sebesar 21,1% dan pada kelompok kontrol negatif sebesar 9,8%. Pada uji Post Hoc LSD menghasilkan nilai probabilitas sebesar 0,007 ( $p < 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok normal dengan kelompok kontrol negatif ditunjukkan dengan jumlah neutrofil yang lebih rendah pada kelompok kontrol negatif dibanding kelompok normal.

Penurunan jumlah neutrofil pada kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Prihandari dan Muniroh (2018) serta Suryani dan Johan (2011). Pada penelitian tersebut jumlah neutrofil mengalami kenaikan secara signifikan pada kelompok tikus yang diberi paparan asap rokok. Penurunan jumlah neutrofil yang terjadi pada penelitian ini mungkin dikarenakan waktu edar neutrofil dalam sirkulasi darah yang hanya 6-7 jam, sehingga memungkinkan persentasenya menurun dalam sirkulasi darah akibat terdistribusi ke jaringan dalam hal ini neutrofil terakumulasi di jaringan paru (Widyastuti, 2013).

Penurunan neutrofil yang terjadi pada penelitian ini juga terjadi pada penelitian yang dilakukan oleh Nighute *et al* pada tahun 2013. Pada penelitian yang dilakukan pada 50 orang perokok dan 50 orang non-perokok, ditemukan jumlah neutrofil sebesar 61% pada kelompok non-perokok dan sebesar 57% pada kelompok perokok ( $P < 0,05$ ). Hal ini mungkin disebabkan oleh efek dari produk

toksik yang mempengaruhi sumsum tulang dan pembentukan imun adaptif, alergi dan reaksi imunologis tubuh dalam kondisi antigenemia tembakau berkepanjangan (Nighute *et al.*, 2013). Penurunan jumlah neutrofil tersebut juga dapat menunjukkan tahapan perkembangan inflamasi akibat asap rokok, seperti pada penelitian Nighute *et al* pada tahun 2013 diketahui bahwa pada beberapa pekerja yang merokok awalnya mengalami neutrofilia dengan limfopenia relatif dan selanjutnya berkembang menjadi limfositosis dengan neutropenia relatif. Dalam penelitian Venulet dan Majcherrk juga ditemukan bahwa pemberian paparan asap rokok pada tikus putih selama 10 hari menunjukkan reaksi awal berupa limfopenia, dan setelah paparan dilanjutkan lebih lama pada tikus putih ini reaksi tersebut menghilang lalu muncul reaksi berupa limfositosis pada kebanyakan tikus (Nighute *et al.*, 2013).

Neutrofil diduga terlibat dalam proses fagositosis zat-zat toksik yang terkandung dalam asap rokok, yang kemudian neutrofil itu sendiri akan hancur atau apoptosis akibat zat toksik tersebut. Hal ini yang mungkin menyebabkan penurunan jumlah neutrofil pada penelitian ini (Savithri *et al.*, 2010). Apoptosis dan fagositosis neutrofil akan menurunkan IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-8, GCS-F meskipun secara statistik tidak signifikan dan meningkatkan TGF  $\beta$ . Penurunan mediator-mediator proinflamasi ini disebabkan bukan karena kurangnya stimulus tetapi karena efek supresi dari TGF- $\beta$  (Fadok *et al.*, 1998). Penurunan dari IL1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-8, GCS-F akan menyebabkan penurunan produksi dan aktivasi neutrofil sehingga pada penelitian ini terjadi penurunan jumlah neutrofil pada kelompok yang diberi paparan asap rokok.

Menurut Zhang *et al* (2018) dalam penelitiannya yang berjudul “*Suppression of Neutrophil Antimicrobial Functions by Total Particulate Matter*

*From Cigarette Smoke*” TPM atau Total Particulate Matter dari asap rokok dapat berperan sebagai regulator negatif pada aktivasi inflamasi neutrofil. TPM dapat mengurangi ekspresi TNF- $\alpha$  yang terinduksi oleh lipopolisakarida melalui induksi homeostasis yang dimediasi autophagy, TPM juga menekan aktivitas antimikroba dari neutrofil karena TPM dapat mengurangi ekspresi dari komponen NADPH oksidase yakni gp91 dan iNOS, Zhang *et al* (2018) juga menyebutkan bahwa TPM dapat mengurangi aktivasi STAT1. STAT1 merupakan kunci faktor transkripsi yang bertanggung jawab pada ekspresi gen-gen inflamasi.

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 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-6, supresi dari reaksi Th1 dan Th17 tetapi tidak mensupresi reaksi Th2 (Arnson et al., 2010).

Pada penelitian yang dilakukan Schwartz *et al* pada tahun 1994 didapatkan jumlah neutrofil yang tidak berbeda pada kelompok perokok yang mengonsumsi rokok kurang dari 20 batang per-hari selama 20 tahun (<20 *pack-years*) dibandingkan dengan kelompok individu yang tidak merokok. Peningkatan neutrofil baru terlihat pada kelompok individu (>20 *pack-years*) yakni merokok lebih dari 20 batang per-hari selama 20 tahun. Pada penelitian tersebut Schwartz *et al* (1994) juga menyimpulkan bahwa paparan asap rokok menyebabkan peningkatan pada jumlah leukosit total darah perifer tetapi efek pada hitung jenis leukosit darah perifer masih belum banyak dipelajari.

### **Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi terhadap Jumlah Neutrofil**

Perlakuan pemberian antioksidan eksogen berupa ekstrak daun kemangi mampu menstabilkan atau menormalkan kembali jumlah neutrofil tikus setelah paparan asap rokok. Hal ini dapat dilihat dari gambar 5.2 yang menunjukkan bahwa jumlah neutrofil lebih tinggi pada kelompok perlakuan ekstrak daun kemangi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Pada hasil penelitian yang tertera pada gambar 5.2 dapat dilihat bahwa pemberian ekstrak daun kemangi (*O. citriodorum*) juga mampu menaikkan jumlah neutrofil jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (9.8%). Dapat dilihat jumlah neutrofil pada kelompok P2 dengan dosis terapi 100 mg/kgBB yaitu sebesar 14.05% dan pada kelompok P3 dengan dosis terapi 200 mg/kgBB yaitu sebesar 18.10%. Berbeda halnya pada jumlah neutrofil kelompok P1 dengan dosis terapi 50 mg/kgBB dengan jumlah neutrofil yang lebih rendah daripada kelompok kontrol negatif yakni sebesar 6,08%.

Kenaikan jumlah neutrofil pada perlakuan 2, dan 3 menunjukkan adanya aktivitas antioksidan 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. Asam rosmarin memiliki sifat yang sinergis dengan  $\alpha$ -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). 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). Apabila pembentukan radikal bebas dapat dicegah, maka perubahan jumlah neutrofil dapat di minimalisir.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ervina *et al.* (2016) bahwa ekstrak etanol *Ocimum basilicum* memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 52,68 µg/mL. Hasil penelitian tersebut mendukung hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa terdapat kenaikan jumlah neutrofil pada kelompok perlakuan P2 dan P3 yang diberi ekstrak daun kemangi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang hanya diberi akuades.

### **5.2.2 Pembahasan Integrasi Penelitian dengan Kajian dalam Alquran dan Hadis**

Allah SWT telah menciptakan alam semesta beserta segala isinya, secara tidak main-main, sekecil apapun ciptaan itu. 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 وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا  
وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ  
شَتَّىٰ ﴿طه: ٥٣﴾

*“Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam.”* (QS. Thaha: 53) (Departemen Agama RI, 2015)

Berdasarkan tafsir dari kitab *Zubdatut Tafsir min Fathil Qadir*, Ayat ini menjelaskan bahwa Allah telah menjadikan bumi yang terhampar ini sebagai tempat hidup manusia dengan segala kemudahan yang telah Ia berikan. Allah juga telah menunjukkan jalan yang mudah untuk dilalui, menurunkan air hujan, serta menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang bermacam bau, aroma, dan rasanya sebagai rezeki yang dapat dikonsumsi.

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. Hal ini juga dijelaskan pada QS. Asy-Syu'ara ayat 7-8 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ وَلَوْ شَاءَ  
 اللَّهُ لَجَعَلَهُمْ أُمَّةً وَاحِدَةً وَلَكِنْ يُدْخِلُ مَنْ يَشَاءُ فِي رَحْمَتِهِ ۗ وَالظَّالِمُونَ  
 مَا لَهُمْ مِنْ وَلِيٍّ وَلَا نَصِيرٍ ﴿٨﴾ (الشورى: ٧-٨)

*“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah, dan kebanyakan mereka tidak beriman.”* (QS. Asy-Syu'ara: 7-8) (Departemen Agama, 2015).

Dalam tafsir Al-Mukhtashar dijelaskan bahwa perkara ditumbuhkannya tanaman-tanaman di muka bumi benar-benar terkandung bukti petunjuk yang jelas tentang kesempurnaan kuasa Allah, dan kebanyakan manusia tidak beriman. Dan sesungguhnya Allah, benar-benar Dzat yang Mahaperkasa atas segala makhluk, juga Maha penyayang yang rahmatNya meliputi segala sesuatu (Yassin, 2019).

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 beliau 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 tumbuhan herbal yang mudah ditemukan di Indonesia (Makmur, 2016). Tumbuhan ini banyak dimanfaatkan di Indonesia sebagai bumbu untuk memasak atau sebagai lalap karena memiliki bau dan rasa yang khas (Zahra dan Iskandar, 2017).

Kemangi sebagai tanaman yang harum baunya juga disinggung dalam Alquran pada QS. Ar-Rahman ayat 12. Allah berfirman:

وَالْحَبُّ ذُو الْعَصْفِ وَالرَّيْحَانُ ۗ وَالرَّحْمَنِ: ١٢ ﴿

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

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 menstabilkan jumlah neutrofil

mendekati nilai normal pada tikus setelah diberi paparan asap rokok. Hal ini dapat ditinjau dari jumlah neutrofil pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun kemangi P1, P2 dan P3 sebesar 6,08%, 14,05% dan 18,10% yang mendekati jumlah neutrofil pada kelompok normal yaitu sebesar 21,1%.

Ekstrak daun kemangi dapat mengurangi efek buruk rokok melalui mekanismenya dalam menangkap radikal bebas yang berasal dari asap rokok yakni kandungan flavonoid 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 dapat merusak tubuh kita adalah merokok. Tidak hanya merugikan diri sendiri, asap rokok yang dihasilkan juga dapat merugikan orang-orang di sekitarnya. Merokok menyebabkan peningkatan radikal bebas di dalam tubuh yang akhirnya menimbulkan respon peradangan di dalam saluran pernafasan manusia (Birben *et al.*, 2012).

Merokok dapat merugikan penggunaannya maupun orang di sekitarnya karena zat kimia yang terkandung dalam rokok yang bermacam-macam, 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).

Paparan asap rokok yang terbukti mampu menurunkan fungsi fisiologis tubuh. Hal ini merupakan salah satu dampak buruk yang ditimbulkan dari merokok, Allah telah melarang manusia untuk meninggalkan hal yang buruk, sesuai dengan firmanNya dalam QS. Al-A'raf ayat 157, Allah berfirman :

الَّذِينَ يَتَّبِعُونَ الرَّسُولَ النَّبِيَّ الْأُمِّيَّ الَّذِي يَجِدُونَهُ مَكْتُوبًا عِنْدَهُمْ فِي  
التَّوْرَةِ وَالْإِنْجِيلِ يَأْمُرُهُمْ بِالْمَعْرُوفِ وَيَنْهَاهُمْ عَنِ الْمُنْكَرِ وَيُحِلُّ لَهُمُ  
الطَّيِّبَاتِ وَيُحَرِّمُ عَلَيْهِمُ الْخَبَائِثَ وَيَضَعُ عَنْهُمْ إِصْرَهُمْ وَالْأَغْلَالَ الَّتِي  
كَانَتْ عَلَيْهِمْ ۚ فَالَّذِينَ ءَامَنُوا بِهِ وَعَزَّرُوهُ وَنَصَرُوهُ وَاتَّبَعُوا النُّورَ  
الَّذِي أُنزِلَ مَعَهُ ۙ أُولَٰئِكَ هُمُ الْمُفْلِحُونَ

﴿الأعراف: ١٥٧﴾

“(Yaitu) orang-orang yang mengikut Rasul, Nabi yang ummi yang (namanya) mereka dapati tertulis di dalam Taurat dan Injil yang ada di sisi mereka, 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 dan membuang dari mereka beban-beban dan belenggu-belenggu yang ada pada mereka. Maka orang-orang yang beriman kepadanya, memuliakannya, menolongnya dan mengikuti cahaya yang terang yang diturunkan kepadanya (Al Quran), mereka itulah orang-orang yang beruntung.” (QS. Al-A'raf: 157) (Departemen Agama RI, 2015).

Dijelaskan dalam Tafsir Al-Mukhtashar bahwa Allah menyuruh pengikut Nabi Muhammad untuk melakukan sesuatu yang diketahui merupakan sebuah kebaikan dan mendatangkan keselamatan, melarang melakukan yang jelas merupakan keburukan menurut akal sehat dan fitrah. Maka orang-orang ini adalah termasuk orang-orang yang beruntung dan akan mendapat apa yang diinginkan serta dijauhkan dari apa yang ditakutkan. Keburukan yang disebabkan oleh zat beracun dalam rokok diantaranya adalah penyakit yang merusak sistem tubuh dan

lebih jauh akan menjerumuskan perokok dalam kebiasaan. Diceritakan bahwa pada masa Khalifah Utsmani pada abad ke-12 Hijriyah merokok pernah dilarang, orang yang merokok dikenakan sanksi, dan rokok yang beredar disita pemerintah untuk kemudian dimusnahkan. Pengharaman rokok ini disepakati oleh ulama dan dokter pada masa itu dengan pertimbangan banyaknya penyakit akibat merokok dan bahkan menyebabkan kematian mendadak (Yassin, 2019).

Dari penelitian yang telah dilakukan diharapkan mampu menjadi khazanah ilmu pengetahuan khususnya ilmu tentang manfaat kemangi bagi kesehatan sehingga penelitian ini bisa bermanfaat bagi umat islam dalam meningkatkan ibadah kepada Allah SWT dengan selalu menjaga 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

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Kesimpulan

Pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum Citriodorum*) dapat berpengaruh terhadap jumlah neutrofil pada tikus jantan yang dipapar asap rokok.

#### 6.2 Saran

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

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek dari paparan asap rokok terhadap jumlah neutrofil dalam darah.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme regulasi neutrofil dalam darah pada kondisi stress oksidatif.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) selain sebagai sumber antioksidan sehingga pemanfaatannya dan penggunaannya dalam kehidupan sehari-hari dapat maksimal.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan rentang dosis yang lebih besar untuk mengetahui efektivitas dan toksisitas ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*).
5. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengembangan sediaan ekstrak daun kemangi (*Ocimum citriodorum*) sehingga dapat menjadi produk yang aman untuk dikonsumsi oleh masyarakat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adyttia, A., Untari, E.K. dan Wahdaningsih, S., 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).
- Al-Asqalani, I.H. Bulughul Maram. Hakim, I.M. (penerjemah) 2010. *Bulughul Maram: Panduan Lengkap Masalah Fiqih, Akhlak, dan Keutamaan Amal*. Jakarta: Mizan Pustaka
- Alexander, Laura E. C., Stephanie Shin dan John H. Hwang. 2015. Inflammatory Diseases of the Lung Induced by Conventional Cigarette Smoke. *Recent Advances in Chest Medicine*.
- Al-Ghurabi, Seab. 2014. Study The Analgesic and Sedative Effect of *Ocimum basilicum* Alcoholic Extract In Male Rats. *Diyala Agricultural Sciences Journal*. Al-Kut: Diyala Agricultural Sciences Journal
- Ambrose, J.A. and Barua, R.S., 2004. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *Journal of the American college of cardiology*, 43(10).
- Aminah R. 2004. Pengembangan Model Kesehatan Koloni Tikus dan Mencit Percobaan Ditinjau dari Aspek Hematologis, Parasitologis, dan Histologis. Center for Research and Development of Disease Control.
- Ardhie, A. M., 2011. Radikal bebas dan peran antioksidan dalam mencegah penuaan. *Radikal Bebas dan Peran Antioksidan Dalam Mencegah Penuaan*.
- 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
- Balcombe, J. P., Barnard, N. D., & Sandusky, C. 2004. Laboratory routines cause animal stress. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 43(6), 42-51.
- Bender DA., 2009. Free Radicals an Antioxidant Nutrients. In: Murray K, Bender DA, Botham KM, et al. Eds. *Harper's Illustrated Biochemistry*, Ed 28th Mc Graw Hill Lange
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19.

- Calder, P.C., Ahluwalia, N., Albers, R., Bosco, N., Bourdet-Sicard, R., Haller, D., Holgate, S.T., Jönsson, L.S., Latulippe, M.E., Marcos, A. and Moreines, J., 2013. A consideration of biomarkers to be used for evaluation of inflammation in human nutritional studies. *British Journal of Nutrition*, 109(S1).
- Centers of Disease Control and Prevention. 2015. Smoking and Tobacco Use. USA: Department of Health and Human Services
- Chairlan, M. and Estu, L., 2011. *Pedoman Teknik Dasar Untuk Laboratorium Kesehatan*. Jakarta: EGC
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X. and Zhao, L., 2018. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6).
- Cholisoh, Z. and Utami, W., 2008. Aktivitas penangkap radikal ekstrak ethanol 70% biji jengkol (*Archidendron jiringa*).
- Conn BJ. 2014. *Ocimum L. (Lamiaceae) in Australia and Papua New Guinea*. J Plant Syst.
- Corwin, JE. 2000. *Buku saku patofisiologi*. Jakarta. Buku kedokteran EGC.
- Craig A, Mai J, Jeyaseelan S. 2009. Minireview: Neutrophil Recruitment to the Lungs during bacterial Pneumonia. *Infection and Immunity*. Am Society for Microbiol. Vol 77, No. 2.
- Czaja AJ. 2014. Hepatic inflammation and progressive liver fibrosis in chronic liver disease. *World J Gastroenter*.
- Demirjian, Loutfig, Raja T. Abboud, Hong Li dan Vincent Duronio. 2006. Acute Effect of Cigarette Smoke on TNF- $\alpha$  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. *Al-Quran Terjemahan*. 2015. Bandung: CV Darus Sunnah
- Diniz, M.F., Dourado, V.A., Silva, M.E., Pedrosa, M.L., Bezerra, F.S. and Lima, W.G.D., 2013. Cigarette smoke causes changes in liver and spleen of mice newborn exposed during pregnancy.
- 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.
- Fadok, Valerie A., et al. 1998. "Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through

autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF." The Journal of clinical investigation 101.4 : 890-898.

- Fahmy, A.F., 2015. Perbandingan Estimated Blood Loss, Hematology: Analyzer dan Point-of-Care Testing dalam Keakuratan: Pengukuran Hemoglobin Intraoperatif= Comparison of the Accuracy of Intraoperative Hemoglobin: Measuring by Estimated Blood Loss and Point-of-Care Testing: with Hematology Analyzer.
- Fitria, F., Triandhini, R. R., Mangimbulude, J. C., & Karwur, F. F. 2013. Merokok dan oksidasi DNA. Sains Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan, 5(2), 113-120.
- Fuente MD., Miquel J., 2009. An Update of the Oxidation-Inflammation Theory of Aging: The Involvement of the Immune System in Oxi-Inflamm-Agin. Current Pharmaceutical Design.
- Fujiwara N, Kobayashi K. 2005. Macrophages in inflammation. Current Drug Targets Inflamm Allergy.
- Gandasoebrata, R., 2012. Penuntun Laboratorium Klinik, Edisi 16. Jakarta: Dian Rakyat
- Gelfand, E.W., 2002. Mice are a good model of human airway disease. American journal of respiratory and critical care medicine, 166(1).
- Goldstein BI, Kemp DE, Soczynska JK, McIntyre RS. 2009. Inflammation and the phenomenology, pathophysiology, comorbidity, and treatment of bipolar disorder: a systematic review of the literature. J Clin Psych.
- Gupta J, Mitra N, Kanetsky PA, Devaney J, Wing MR, Reilly M, Shah VO, Balakrishnan VS, Guzman NJ, Girndt M. 2012. Association between albuminuria, kidney function, and inflammatory biomarker profile in CKD in CRIC. Clin J Am Soc Nephrol Cjasn.
- Hakim, F.L., Arivazhagan, G. and Boopathy, R., 2008. Antioxidant property of selected Ocimum species and their secondary metabolite content. Journal of Medicinal Plants Research, 2(9)
- Haris, A., Ikhsan, M. and Rogayah, R., 2012. Asap rokok sebagai bahan pencemar dalam ruangan. Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. CDK, 189, vol.39, no.1.
- Headland SE, Norling LV. 2015. The resolution of inflammation: Principles and challenges. Semin Immunol.
- Hoffbrand, A.V., Pettit, J.E. and Moss, P.A.H., 2005. Kapita selekta hematologi (essential haematology). Edisi IV. EGC. Jakarta.

- Howard MR, Hamilton PJ. 2008. Haematology an illustrated colour text. Third Edition. Edinburg: Churchill Livingstone Elsevier
- Huang C, Šali A, Stevens RL. 1998. Regulation and Function of Mast Cell Proteases in Inflammation. *J Clin Immunol*.
- Iho, S., Tanaka, Y., Takauji, R., Kobayashi, C., Muramatsu, I., Iwasaki, H., Nakamura, K., Sasaki, Y., Nakao, K. and Takahashi, T., 2003. Nicotine induces human neutrophils to produce IL-8 through the generation of peroxynitrite and subsequent activation of NF-κB. *Journal of leukocyte biology*, 74(5).
- Ikhlas, N., 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum* Linn) dengan Metode DPPH (2, 2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). Skripsi
- Indonesia. Kementerian Kesehatan. 2010. Pedoman Pengembangan Kawasan Tanpa Rokok. Jakarta : Pusat Promosi Kesehatan.
- Indonesia. Kementerian Kesehatan. 2018. Situasi Umum Konsumsi Tembakau Di Indonesia. Jakarta : Pusat Data dan Informasi.
- Irnowati, Hakimi, M. dan Wibowo T. 2011. Ibu Hamil Perokok Pasif sebagai Faktor Risiko Bayi Berat Lahir Rendah. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia* 8(2): 55
- 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.
- Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., Bais, H.P. and Vivanco, J.M., 2002. Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. *Journal of agricultural and food chemistry* 50, no. 21
- Jaya, Muhammad, 2009. Pembunuh Berbahaya Itu Bernama Rokok. Yogyakarta: Penerbit Rizma, 16; 18.
- Kartika, A., *et al.* 2013. Strategi Pengembangan Usaha Ternak Tikus (*Rattus norvegicus*) dan Mencit (*Mus musculus*) di Fakultas Peternakan IPB. Bogor: Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Kurnia, M., 2016. Analisis Keragaman Genetik Kemangi (*Ocimum × Africanum* Lour.) Berdasarkan Marka Morfologi Dan Inter-Simple Sequence Repeats. Skripsi
- Lavi, S., Prasad, A., Yang, E.H., Mathew, V., Simari, R.D., Rihal, C.S., Lerman, L.O. and Lerman, A., 2007. Smoking is associated with epicardial coronary endothelial dysfunction and elevated white blood cell count in

patients with chest pain and early coronary artery disease. *Circulation* 115, no. 20

- Lee, J., Taneja, V., & Vassallo, R. 2012. Cigarette smoking and inflammation: cellular and molecular mechanisms. *Journal of dental research*, 91(2), 142-149.
- Lestari, n., 2018. Formulasi gel antioksidan minyak atsiri daun kemangi (*ocimum citriodorum vis*).
- Levy EM. 2004. Cell of immune system. In: Pier GB, Lyczak JB, Wetzler LM. *Immunology, Infection and Immunity*. Washington DC: ASM Press.
- Liu Z, Wang Y, Wang Y, Ning Q, Zhang Y, Gong C, Zhao W, Jing G, Wang Q. 2016. Dexmedetomidine attenuates inflammatory reaction in the lung tissues of septic mice by activating cholinergic anti-inflammatory pathway. *Int Immunopharmacol*.
- Maulidiyah, N.Y. 2018. Uji Aktivitas Ekstrak Kloroform Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus L.*) yang diinduksi Aloksan. Skripsi. Tidak diterbitkan. UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang
- Mayadas, T.N., Cullere, X. and Lowell, C.A., 2014. The multifaceted functions of neutrophils. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 9.
- Mead, D., 2014. Basils (*Ocimum spp.*) in Indonesia. Sulang Lang Data Work Pap.
- Mengko, R., Wahid, A.A. dan Barasabha, T., 2013. Instrumentasi laboratorium klinik. Bandung. Teknik Biomedika ITB.
- Mescher, A.L., 2011. *Histologi dasar Junqueira : Teks & Atlas Ed. 12*. Jakarta: EGC
- Nathan C. 2006. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat Rev Immunol*.
- National Research Council. 1978. *Nutrient Requirement of Laboratory Animals. 3rd Revised Edition*. National Academy of Science. Washington, D.C.
- Nighute, S. U. N. I. T. A., Maria, K., & Abhijit, A. 2013. Numerical Alterations of Different White Blood Cells in Chronic Tobacco Smokers. *Journal of Recent advances in Applied Sciences*, 28, 100-103.
- Nurhidayati, F. 2005. *Terapi Berhenti Merokok*. Jakarta: Makara Kesehatan
- Parwata, I Made Oka Adi. 2015. *Antioksidan*. Badung: Universitas Udayana

- Patel DS, Khare PK, Chaurasia B. 2015. Identification of morphologically close species of *Ocimum* L. on the basis of seed characters. *Indian J Plant Sci*.
- Patil, A.B. and Jadhav, A.S., 2013. Flavonoids an antioxidant: a review. *International journal of pharmaceutical and biological sciences research and development*
- Paton A. 2012. A synopsis of *Ocimum* L. (Labiatae) in Africa. *J Stor*.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 59 tahun 2012 Tentang Penyelenggaraan Pemeriksaan Laboratorium Klinik Untuk Ibu Hamil, Bersalin, dan Nifas. 2013. Jakarta: Kemenkes RI
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D. and Bitto, A., 2017. Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.
- Prayitno, S.A., Kusnadi, J. and Muritni, E.S., 2018. Pengaruh Ekstrak Etanol 90% terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Superoksida Dismutase (SOD) Mencit Tikus yang Dipapar Asap Rokok. *ALCHEMY*, 6(1).
- Prihandari, R. and Muniroh, L., 2018. Jus Semangka Menurunkan Neutrofil Tikus Jantan Galur Wistar yang Terpapar Asap Rokok. *Media Gizi Indonesia*, 11(2)
- Rajesh, M.P. and Natvar, J.P., 2011. In vitro antioxidant activity of coumarin compounds by DPPH, Super oxide and nitric oxide free radical scavenging methods. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, 1.
- Redha, A., 2013. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis.
- Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radical Biol Med*.
- Riswanto. 2013. Pemeriksaan Laboratorium Hematologi. Yogyakarta: Alfabedia & Kanal medika
- Rohmaniyah, Makhshushotul. 2016. Uji antioksidan ekstrak Etanol 80% dan Fraksi aktif rumput bambu (*Lophatherum Gracile* Brongn) menggunakan metode Dpph berta identifikasi senyawa aktifnya. Diss. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Rosales, C., 2018. Neutrophil: a cell with many roles in inflammation or several cell types?. *Frontiers in Physiology*, 9.

- Roszkwinski, Neubaver dan Zelykowskin. 2014. Perceived Benefits a Designated Smoking Area Policy On a College Campus. *New York Journal of Student Affair* 14(1): 20
- Santos A, Arrigoni-blank MDF, Luiz J, Carvalho S De, Dayane A, Santana D De, Santos DDA, Alves PB, Blank AF. 2015. Chemical diversity in basil (*Ocimum sp.*) germplasm. *Sci world J.* 2015.
- Savithri Y, Sekhar P, Doss J. 2010. Changes in hematological profiles of albino rats under chlorpyrifos. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* ;1:1-7
- Schwartz, Joel, dan Scott T. Weiss. 1994. "Cigarette smoking and peripheral blood leukocyte differentials." *Annals of epidemiology* 4.3: 236-242.
- Segel, G.B. dan Halterman, J.S., 2008. Neutropenia in pediatric practice. *Pediatrics in review*, 29(1).
- Serhan CN, Savill J. 2005. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol.*
- Smith, M.R., Kinmonth, A.L., Luben, R.N., Bingham, S., Day, N.E., Wareham, N.J., Welch, A. and Khaw, K.T., 2003. Smoking status and differential white cell count in men and women in the EPIC-Norfolk population. *Atherosclerosis*, 169(2).
- Stanko CK, Liber Z, Politeo O, Strikic F, Kolak I, Milos M, Satovic Z. 2011. Molecular and chemical characterization of the most widespread *Ocimum* species. *Plant Syst Evol.*
- Strzelak, A., Ratajczak, A., Adamiec, A., & Feleszko, W. 2018. Tobacco smoke induces and alters immune responses in the lung triggering inflammation, allergy, asthma and other lung diseases: a mechanistic review. *International journal of environmental research and public health*, 15(5), 1033.
- Sugimoto, M.A., Sousa, L.P., Pinho, V., Perretti, M. and Teixeira, M.M., 2016. Resolution of inflammation: what controls its onset?. *Frontiers in immunology*, 7.
- Sumardika, I Wayan dan I Made Jawi. 2012. Ekstrak Air Daun Ubijalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol. Bali: Bagian Jurnal Ilmiah Kedokteran Universitas Udayana.
- Sumardika, I Wayan dan I Made Jawi. 2012. Ekstrak Air Daun Ubijalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol. Bali: Bagian Jurnal Ilmiah Kedokteran Universitas Udayana.

- Suryani, A.I. and Johan, A., 2011. Efek jus tomat terhadap jumlah total leukosit dan neutrofil tikus wistar yang leukositosis setelah diberi paparan asap rokok (Doctoral dissertation, Faculty of Medicine).
- Syaikh Abu 'Abdullah. 2000. Irsyaadat Litthobibil Muslim. Bahraen, R. 2012. Penyiksaan Terhadap Hewan (Tikus) Percobaan Laboratorium. Mataram: MuslimAfiyah
- Takeuchi, O. and Akira, S., 2010. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, 140(6).
- Terashima, T., English, D. and Hogg, J.C., 1998. Release of polymorphonuclear leukocytes from the bone marrow by interleukin-8. *Blood*, 92(3)
- Tirtosastro, S., & Murdiyati, A. S., 2017. Kandungan kimia tembakau dan rokok. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*.
- Tobacco Control Support Centre-IAKMI, Kementerian Kesehatan. 2012. Bunga Rampai Fakta Tembakau dan Permasalahannya di Indonesia Tahun 2012. Jakarta: Tobacco Control Support Centre-IAKMI
- Tobacco Control Support Centre-IAKMI, Kementerian Kesehatan. 2015. Bunga Rampai Fakta Tembakau dan Permasalahannya di Indonesia Tahun 2014. Jakarta: Tobacco Control Support Centre-IAKMI
- Turner MD, Nedjai B, Hurst T, Pennington DJ. 2014. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *BBA-Mol Cell Res*.
- Van Eeden, S.F. and Hogg, J.C., 2000. The response of human bone marrow to chronic cigarette smoking. *European Respiratory Journal*, 15(5)
- Van Eeden, S.F., Yeung, A., Quinlam, K. and Hogg, J.C., 2005. Systemic response to ambient particulate matter: relevance to chronic obstructive pulmonary disease. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 2(1), hal.61-67.
- Vani, S.R., Cheng, S.F. and Chuah, C.H., 2009. Comparative study of volatile compounds from genus *Ocimum*. *American Journal of Applied Sciences*, 6(3)
- Vieira RF, Grayer RJ, Paton AJ. 2003. Chemical profiling of *Ocimum americanum* using external flavonoids. *Phytochemistry*.
- Vieira, Roberto dan James Simon. 2005. Chemical Characterization of Basil (*Ocimum spp.*) Based on Volatile Oils. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Wahju, J. 1997. Ilmu Makanan Ternak Unggas. Cetakan ke-4. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

- Wang, J. 2018. Neutrophils in tissue injury and repair. *Cell and tissue research*, 371(3), 531-539.
- Wei, W., Kim, Y. and Boudreau, N., 2001. Association of smoking with serum and dietary levels of antioxidants in adults: NHANES III, 1988-1994. *American journal of public health*
- WHO. 2015. *Global Youth Tobacco Survey GYTS Indonesia Report, 2014*. Jakarta: WHO
- Widayati, E., 2019. Oxidasi biologi, radikal bebas, dan antioxidant. *Majalah Ilmiah Sultan Agung*.
- Widodo, E., 2006. *Pajanan Asap Rokok Kretek Pada Tikus Putih sebagai Model untuk Manusia: Perhatian Khusus pada Perubahan Histopatologi dan Ultrastruktur Napas*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Widyastuti, Dyah Ayu. 2013. "Profil Darah Tikus Putih Wistar pada Kondisi Subkronis Pemberian Natrium Nitrit" *Jurnal Sain Veteriner* 31 : 212
- Wright, J.L. and Churg, A., 2010. Animal models of cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease. *Expert review of respiratory medicine*, 4(6).
- 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
- Yassin, B.A. 2019. *Rokok itu Haram*. Padang: Perpustakaan Universitas Andalas
- Zahra, Salsabila dan Yoppi Iskandar. 2017. Review Artikel: Kandungan Senyawa Kimia dan Bioaktivitas *Ocimum Basilicum L.* *Farmaka*, 15(3): 143-152
- Zhang, Y., Geng, S., Prasad, G. L., & Li, L. 2018. Suppression of neutrophil antimicrobial functions by total particulate matter from cigarette smoke. *Frontiers in immunology*, 9, 2274.
- Zhou, Y., Hong, Y. and Huang, H., 2016. Triptolide attenuates inflammatory response in membranous glomerulo-nephritis rat via downregulation of NF- $\kappa$ B signaling pathway. *Kidney and Blood Pressure Research*, 41(6).

**LAMPIRAN**

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

	<p>FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN                  UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  <b>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN</b>                  Gedung Klinik UMMI It 2                  Jalan Gajayana No. 50, Dinoyo, Kec Lowokwaru, Kota Malang                  E-mail: <a href="mailto:kepk.fkik@uin-malang.ac.id">kepk.fkik@uin-malang.ac.id</a> - Website : <a href="http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id">http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id</a></p>
<p><b>KETERANGAN KELAIKAN ETIK                  (ETHICAL CLEARANCE)                  No. 016/EC/KEPK-FKIK/2020</b></p>	
<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG TELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :</p>	
<p>Judul</p> <p>Peneliti</p> <p>Unit / Lembaga</p> <p>Tempat Penelitian</p>	<p>Pengaruh Pemberian ekstrak etanol Daun Kemangi (<i>Ocimum citriodorum</i>) Terhadap Kadar SOD, Kadar MDA, Kadar TNF-<math>\alpha</math>, Kadar Hemoglobin, Jumlah dan Morfologi Eritrosit, Jumlah Neutrofil, serta Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar Jantan Setelah Paparan Asap Rokok</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Shanaz Hanani Tazuyyun</li> <li>- Aldita Husna Viola</li> <li>- Taufiq Basuki Putra</li> <li>- Rithio Chandraca Islamy</li> <li>- Tiara Yudha Puspita</li> <li>- Safira dita Arviana</li> </ul> <p>Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang</p> <p>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</p>
<p>DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.</p>	
<p>Mengetahui,                  Dekan FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang</p> <p style="text-align: center;">                   Prof. Dr. H. Bambang Hurdjianto, SpB. SpBP-RE(K)                  NIP. 201601015             </p>	<p style="text-align: right;">                 Malang,                  Ketua  <span style="color: red;">21 JAN 2020</span>                    dr. Avin Andri F. MBiomed                  NIP. 19800203200912 2 002             </p>
<p><b>Keterangan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Keterangan Laik Etik Ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan.</li> <li>- Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk <i>soft copy</i>.</li> <li>- Apabila ada perubahan protokol dan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).</li> </ul>	

## Lampiran 2. Hasil Determinasi Daun Kemangi



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 Tanaman Kemangi**

Memenuhi permohonan saudara :

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

1. Perihal determinasi tanaman kemangi

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)  
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)  
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)  
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)  
Kelas : Dicotyledonae  
Bangsa : Lamiales  
Suku : Lamiaceae  
Marga : Ocimum  
Jenis : *Ocimum cannum* Sims.  
Sinonim : *Ocimum africanum* Lour.; *Ocimum citriodorum*  
Nama Daerah : Kemangi, surawung (Sunda), lampes.  
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-16a-239b-243b-244b-248b-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 limau. Bunga: Putih, kurang menarik, tersusun dalam tandan, bila dibiarkan berbunga, maka pertumbuhan daun lebih sedikit dan tanaman cenderung cepat menua dan mati.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Van Steenis, CGGJ. 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,



Fitria Rahmawati, S.Farm., Apt.  
NIP.19900430 201403 2 002

### Lampiran 3. Hasil Pemeriksaan Neutrofil



Rumah Sakit Umum  
UNIVERSITAS  
MUHAMMADIYAH  
M A L A N G

*Layananku Pengabdianku*  
**INSTALASI LABORATORIUM**

Dokter Laboratorium : dr.Diah Hermayanti,Sp.PK, dr. Sulisty Mulyo Agustini,Sp.PK  
 Sampel Penelitian : Darah Tikus (EDTA)  
 Pemeriksaan : Hemoglobin, Eritrosit, Neutrofil

No.	KODE SAMPEL	HASIL		
		Hemoglobin (gr/dl)	Eritrosit (10 <sup>6</sup> /uL)	Neutrofil (%)
1.	-1	11.0	6.35	10.1
2.	-2	15.4	9.26	11.3
3.	-3	11.7	6.74	10.2
4.	-4	13.6	7.41	7.6
5.	-5	12.4	7.21	2.6
6.	A1	14.6	8.88	0.8
7.	A2	13.2	7.92	1.7
8.	A3	15.4	9.01	6.5
9.	A4	13.4	7.94	15.3
10.	B2	15.1	8.59	18.2
11.	B3	15.2	9.20	21.0
12.	B5	15.4	9.52	9.1
13.	C1	16.2	9.94	6.4
14.	C2	13.4	7.81	20.2
15.	C3	15.0	9.13	10.6
16.	C4	16.1	9.76	15.1
17.	C5	17.3	9.56	26.5
18.	E1	15.0	8.44	12.8
19.	E2	13.3	7.87	17.7
20.	E4	13.3	8.43	9.1
21.	E5	15.8	8.99	10.2
22.	N1	10.7	5.41	29.4
23.	N2	12.2	7.79	21.6
24.	N3	12.7	8.09	23.6
25.	N4	15.7	8.64	15.0
26.	N5	15.7	9.48	24.2
27.	100-1	16.6	9.17	7.9

Malang, 02 April 2020

Mengetahui,  
  
 INSTALASI  
 Dr. dr. S. M. Agustini, SpPK

Jl. Raya Tlogomas No. 45 Desa Landungsari, Kec. Dau, Kab. Malang - Jawa Timur 65144  
 Telp. : 0341-561666  
 Email : hospital@umm.ac.id

**Lampiran 4. Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*) Terhadap Berat Badan pada Tikus yang di Papar Asap Rokok**

**1. Analisis Deskriptif**

Descriptives

Berat Badan Tikus Selama Perlakuan

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Normal	4	21.1000	4.21584	15.00	24.20
Kontrol negatif (K-)	4	9.8000	1.56418	7.60	11.30
Kontrol positif (K+)	4	12.4500	3.82840	9.10	17.70
P1 (dosis 50 mg/ kgBB )	4	6.0750	6.63947	.80	15.30
P2 (dosis 100 mg/ kgBB )	4	14.0500	6.52814	7.90	21.00
P3 (dosis 200 mg/ kgBB )	4	18.1000	6.83667	10.60	26.50
Total	24	13.5958	6.91976	.80	26.50

**2. Uji Normalitas**

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Berat Badan Tikus Selama Perlakuan	Normal	.297	4	.	.831	4	.170
	Kontrol negatif (K-)	.326	4	.	.893	4	.395
	Kontrol positif (K+)	.222	4	.	.915	4	.509
	P1 (dosis 50 mg/ kgBB )	.245	4	.	.876	4	.322
	P2 (dosis 100 mg/ kgBB )	.276	4	.	.865	4	.279
	P3 (dosis 200 mg/ kgBB )	.170	4	.	.989	4	.952

a. Lilliefors Significance Correction

**3. Uji Homogenitas**

Test of Homogeneity of Variances

Berat Badan Tikus Selama Perlakuan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.176	5	18	.102

**4. Uji Anova**

ANOVA

Berat Badan Tikus Selama Perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3263.682	5	652.736	.879	.515
Within Groups	13360.438	18	742.247		
Total	16624.120	23			

**Lampiran 5. Analisis Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum citriodorum*) Terhadap Jumlah Neutrofil pada Tikus yang di Papar Asap Rokok**

**1. Analisis Deskriptif**

**Descriptives**

Jumlah neutrofil dalam darah perifer

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Normal	4	21.1000	4.21584	15.00	24.20
Kontrol negatif (K-)	4	9.8000	1.56418	7.60	11.30
Kontrol positif (K+)	4	12.4500	3.82840	9.10	17.70
P1 (dosis 50 mg/ kgBB )	4	6.0750	6.63947	.80	15.30
P2 (dosis 100 mg/ kgBB )	4	14.0500	6.52814	7.90	21.00
P3 (dosis 200 mg/ kgBB )	4	18.1000	6.83667	10.60	26.50
Total	24	13.5958	6.91976	.80	26.50

**2. Uji Normalitas**

**Tests of Normality**

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah neutrofil dalam darah perifer	Normal	.297	4	.	.831	4	.170
	Kontrol negatif (K-)	.326	4	.	.893	4	.395
	Kontrol positif (K+)	.222	4	.	.915	4	.509
	P1 (dosis 50 mg/ kgBB )	.245	4	.	.876	4	.322
	P2 (dosis 100 mg/ kgBB )	.276	4	.	.865	4	.279
	P3 (dosis 200 mg/ kgBB )	.170	4	.	.989	4	.952

a. Lilliefors Significance Correction

**3. Uji Homogenitas**

**Test of Homogeneity of Variances**

Jumlah neutrofil dalam darah perifer

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.066	5	18	.117

**4. Uji Anova**

**ANOVA**

Jumlah neutrofil dalam darah perifer

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	596.362	5	119.272	4.252	.010
Within Groups	504.948	18	28.053		
Total	1101.310	23			

**5. Uji lanjutan Post Hoc (LSD)**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Jumlah neutrofil dalam darah perifer  
LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Kontrol negatif (K-)	11.30000*	3.74517	.007	3.4317	19.1683
	Kontrol positif (K+)	8.65000*	3.74517	.033	.7817	16.5183
	P1 (dosis 50 mg/ kgBB )	15.02500*	3.74517	.001	7.1567	22.8933
	P2 (dosis 100 mg/ kgBB )	7.05000	3.74517	.076	-.8183	14.9183
	P3 (dosis 200 mg/ kgBB )	3.00000	3.74517	.434	-4.8683	10.8683
Kontrol negatif (K-)	Normal	-11.30000*	3.74517	.007	-19.1683	-3.4317
	Kontrol positif (K+)	-2.65000	3.74517	.488	-10.5183	5.2183
	P1 (dosis 50 mg/ kgBB )	3.72500	3.74517	.333	-4.1433	11.5933
	P2 (dosis 100 mg/ kgBB )	-4.25000	3.74517	.271	-12.1183	3.6183
	P3 (dosis 200 mg/ kgBB )	-8.30000*	3.74517	.040	-16.1683	-.4317
Kontrol positif (K+)	Normal	-8.65000*	3.74517	.033	-16.5183	-.7817
	Kontrol negatif (K-)	2.65000	3.74517	.488	-5.2183	10.5183
	P1 (dosis 50 mg/ kgBB )	6.37500	3.74517	.106	-1.4933	14.2433
	P2 (dosis 100 mg/ kgBB )	-1.60000	3.74517	.674	-9.4683	6.2683
	P3 (dosis 200 mg/ kgBB )	-5.65000	3.74517	.149	-13.5183	2.2183
P1 (dosis 50 mg/ kgBB )	Normal	-15.02500*	3.74517	.001	-22.8933	-7.1567
	Kontrol negatif (K-)	-3.72500	3.74517	.333	-11.5933	4.1433
	Kontrol positif (K+)	-6.37500	3.74517	.106	-14.2433	1.4933
	P2 (dosis 100 mg/ kgBB )	-7.97500*	3.74517	.047	-15.8433	-.1067
	P3 (dosis 200 mg/ kgBB )	-12.02500*	3.74517	.005	-19.8933	-4.1567
P2 (dosis 100 mg/ kgBB )	Normal	-7.05000	3.74517	.076	-14.9183	.8183
	Kontrol negatif (K-)	4.25000	3.74517	.271	-3.6183	12.1183
	Kontrol positif (K+)	1.60000	3.74517	.674	-6.2683	9.4683
	P1 (dosis 50 mg/ kgBB )	7.97500*	3.74517	.047	.1067	15.8433
	P3 (dosis 200 mg/ kgBB )	-4.05000	3.74517	.294	-11.9183	3.8183
P3 (dosis 200 mg/ kgBB )	Normal	-3.00000	3.74517	.434	-10.8683	4.8683
	Kontrol negatif (K-)	8.30000*	3.74517	.040	.4317	16.1683
	Kontrol positif (K+)	5.65000	3.74517	.149	-2.2183	13.5183
	P1 (dosis 50 mg/ kgBB )	12.02500*	3.74517	.005	4.1567	19.8933
	P2 (dosis 100 mg/ kgBB )	4.05000	3.74517	.294	-3.8183	11.9183

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

## Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian



Proses pengeringan daun kemangi



Daun kemangi setelah melalui proses UAE



Proses penyaringan ekstrak cair daun kemangi



Proses penguapan etanol dengan *rotary evaporator*



Hasil ekstrak kental daun kemangi



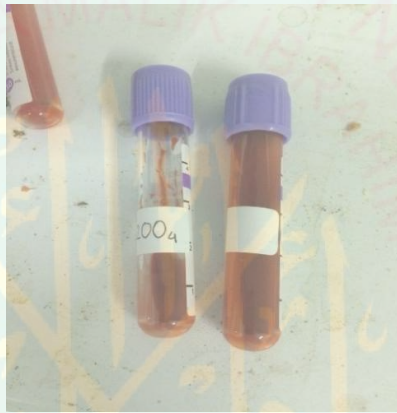
Proses pembuatan larutan Na CMC 0,5%



Pemeliharaan tikus dalam kandang dan diberi pakan dan minum



Proses pengasapan kelompok tikus dalam *smoking chamber*



Pengumpulan sampel darah dalam tabung EDTA