



**EFEK PROTEKSI MINYAK CENGKEH
TERHADAP KERUSAKAN HISTOLOGIK PARU TIKUS
AKIBAT PAPAN ASAP ROKOK**

Skripsi
disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Biologi

oleh
Nuraini
4411411055

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2016**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi yang berjudul: “Efek Proteksi Minyak Cengkeh terhadap Kerusakan Histologik Paru Tikus Akibat Paparan Asap Rokok” disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan yang berasal dari suatu karya, telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.

Semarang, 18 Januari 2016



Nuraini
4411411055

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Efek Proteksi Minyak Cengkeh terhadap Kerusakan Histologik Paru Tikus
Akibat Paparan Asap Rokok

disusun oleh

Nuraini

4411411055

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi FMIPA UNNES pada
tanggal 29 Januari 2016.



Prof. Dr. Zagnuri, S.E., M.Si., Akt.
NIP. 196412231988032001

Sekretaris

Dra. Endah Peniati, M.Si.
NIP. 196511161991032001

Ketua Penguji

Dr. Aditya Marianti, M.Si.
NIP. 196712171993032001

Anggota Penguji/
Penguji II

Dr. Wiwi Isnaeni, M.S.
NIP. 195808021985032001

Anggota Penguji/
Pembimbing I

Dr. Lisdiana, M.Si.
NIP. 195911191986032001

ABSTRAK

Nuraini. 2016. Efek Proteksi Minyak Cengkeh terhadap Kerusakan Histologik Paru Tikus Akibat Paparan Asap Rokok. Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Dr. Lisdiana, M.Si.

Asap rokok mengandung senyawa radikal bebas tidak stabil yang menyebabkan stress oksidatif. Stress oksidatif berhubungan dengan respon inflamasi yang menjadi awal dari Penyakit Paru Obstruktif (PPOK). Minyak cengkeh merupakan salah satu antioksidan eksogen yang mampu menetralkan radikal bebas sehingga dapat dijadikan agen proteksi. Antioksidan eksogen yang dimaksud adalah eugenol yang terkandung dalam minyak cengkeh. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek minyak cengkeh untuk mencegah paru tikus dari kerusakan. Dua puluh lima tikus dibagi menjadi lima kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol (A0), kontrol negatif (A1), kelompok perlakuan dengan minyak cengkeh dosis 23 mg/200 grBB (A2); 33 mg/200 grBB (A3); 43 mg/200 grBB (A4). Pada hari ke-7 hingga hari ke-39, kelompok perlakuan diberi minyak cengkeh. Pada hari ke-11 hingga hari ke-39, semua kelompok kecuali kontrol, dipapar dengan asap rokok 2×15 menit. Pada hari ke-40, semua kelompok tikus dikorbankan untuk diambil paru kanannya. Spesimen berupa paru kanan tikus kemudian dibuat preparat histologi dengan metode HE. Data berupa derajat kerusakan paru tikus pada masing-masing kelompok yang dianalisis menggunakan Kruskal wallis dan Mann whitney. Hasil menunjukkan bahwa minyak cengkeh dosis 23 mg/200 grBB mampu mencegah dari kerusakan paru pada kelompok A2.

Kata kunci: agen proteksi, eugenol, kerusakan paru, minyak cengkeh, paparan asap rokok.



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah atas rahmat dan karunia Allah Subhaanahu wa ta'ala, yang dengan-Nya lah penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Selama proses menyusun skripsi ini, penulis telah menerima banyak bantuan, kerjasama, dan sumbangan pikiran dari berbagai pihak. Pada kesempatan kali ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang atas kesempatan yang diberikan untuk menempuh pendidikan di Unnes.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan ijin penelitian.
3. Ketua Jurusan Biologi Universitas Negeri Semarang yang membantu kelancaran administrasi dalam penyelesaian skripsi.
4. Dr. Lisdiana, M.Si., dosen pembimbing sekaligus dosen wali saya yang memberikan arahan dan membantu dalam proses penyelesaian skripsi.
5. Dr. Aditya Marianti, M.Si. dan Dr. Wiwi Isnaeni, M.S. dosen penguji I dan II saya, yang telah memberikan arahan dan masukan dalam pelaksanaan skripsi ini.
6. Mbak Widyaning Kartika dan Mas Sriyadi selaku teknisi Laboratorium Biologi Unnes yang bersedia membantu demi terlaksananya penelitian.
7. Ayah Suyamto dan Ibu Sartini Andriani, serta tidak lupa kepada adik Yulaikha yang telah memberikan doa dan dukungan kepada saya demi kelancaran skripsi saya.
8. Segenap pihak yang telah membantu.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, baik kritik maupun saran sangat penulis harapkan demi kesempurnaan penyusunan hasil karya selanjutnya. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca demi kebaikan di masa mendatang.

Semarang, 18 Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| ABSTRAK | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI | vi |
| DAFTAR TABEL | viii |
| DAFTAR GAMBAR | ix |
| DAFTAR LAMPIRAN | x |
| BAB I. PENDAHULUAN | |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Rumusan Masalah | 4 |
| C. Penegasan Istilah | 4 |
| D. Tujuan Penelitian | 5 |
| E. Manfaat Penelitian | 5 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA | |
| A. Minyak Cengkeh dan Komponen Kimianya | 6 |
| B. Senyawa Kimia dalam Rokok | 7 |
| C. Struktur Histologik Paru | 9 |
| D. Aktivitas Asap Rokok dalam Paru-paru | 10 |
| E. Aktivitas Eugenol dalam Minyak Cengkeh sebagai Antioksidan | 13 |
| F. Kerangka Teori | 15 |
| G. Kerangka Berpikir Penelitian | 18 |
| H. Hipotesis | 18 |
| BAB III. METODE PENELITIAN | |
| A. Lokasi dan Waktu Penelitian | 19 |
| B. Populasi dan Sampel | 19 |
| C. Variabel Penelitian | 19 |

| | |
|-------------------------------------|----|
| D. Rancangan Penelitian | 19 |
| E. Alat dan Bahan Penelitian | 20 |
| F. Prosedur Penelitian | |
| 1. Tahap Persiapan | 22 |
| 2. Tahap Pelaksanaan | 23 |
| G. Teknik Pengumpulan Data | 27 |
| H. Teknik Analisis Data | 27 |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| A. Hasil Penelitian | 29 |
| B. Pembahasan | 38 |
| BAB V. SIMPULAN DAN SARAN | |
| A. Simpulan | 44 |
| B. Saran | 44 |
| DAFTAR PUSTAKA | 45 |
| LAMPIRAN-LAMPIRAN | 50 |



DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|---------|
| 1. Senyawa-senyawa pokok dalam asap rokok dan pengaruh yang ditimbulkannya | 8 |
| 2. Pemberian perlakuan pada kelompok penelitian menggunakan minyak cengkeh dan asap rokok | 20 |
| 3. Alat dan bahan yang digunakan untuk penelitian | 20 |
| 4. Kriteria mikroskopis paru tikus pada masing-masing parameter jenis kerusakan | 25 |
| 5. Skor derajat kerusakan histologik paru-paru tikus pada masing-masing parameter jenis kerusakan | 25 |
| 6. Jenis dan metode analisis data yang digunakan dalam penelitian | 27 |
| 7. Deskripsi struktur histologik paru kanan tikus pada tiap kelompok | 34 |
| 8. Skor tingkat kerusakan paru tikus pada masing-masing Kelompok berdasarkan tiap jenis kerusakan | 35 |
| 9. Hasil uji <i>Kruskal Wallis</i> | 37 |
| 10. Hasil uji <i>Mann Whitney</i> | 37 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|---|---------|
| 1. Gambaran struktur histologik paru | 10 |
| 2. Respon inflamasi akibat paparan asap rokok | 11 |
| 3. Mekanisme edema dan atelektasis paru akibat peroksinitrit | 12 |
| 4. Inisiasi fibrosis paru oleh makrofag alveolar | 12 |
| 5. Peningkatan jumlah neutrofil oleh makrofag alveolar | 13 |
| 6. Aktivitas asap rokok dan minyak cengkeh dalam paru-paru | 17 |
| 7. Kerangka berpikir penelitian efek proteksi minyak cengkeh terhadap kerusakan histologik paru tikus akibat paparan asap rokok | 18 |
| 8. Prosedur pelaksanaan penelitian efek proteksi minyak cengkeh terhadap kerusakan histologik paru tikus akibat paparan asap rokok | 26 |
| 9. Struktur histologik paru kanan tikus kelompok A0 | 30 |
| 10. Struktur histologik paru kanan tikus kelompok A1 | 31 |
| 11. Struktur histologik paru kanan tikus kelompok A2 | 31 |
| 12. Struktur histologik paru kanan tikus kelompok A3 | 32 |
| 13. Struktur histologik paru kanan tikus kelompok A4 | 32 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|--|---------|
| 1. Rincian penghitungan konsentrasi, berat ekstrak, dan volume sediaan minyak cengkeh | 50 |
| 2. Hasil skor pada tiap kelompok | 51 |
| 3. Hasil perhitungan uji <i>Kruskal Wallis</i> | 56 |
| 4. Hasil perhitungan uji <i>Mann-whitney</i> | 57 |



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Cengkeh adalah tanaman asli Indonesia yang banyak ditanam di sektor perkebunan. Tanaman ini berkembang luas hingga ke seluruh Indonesia. Berkembangnya sektor perkebunan cengkeh telah memberikan peran yang baik dalam berbagai industri seperti industri makanan, minuman, kosmetik, farmasi, dan rokok melalui pemanfaatan tanaman cengkeh untuk dijadikan suatu produk (Siagian, 2014).

Bagian tanaman cengkeh yang biasa dimanfaatkan oleh masyarakat yakni daun, tangkai dan bunga. Bagian daun, tangkai dan bunga cengkeh mengandung minyak atsiri yang berkhasiat sebagai antibakteri, antivirus, antifungi, antikanker, antihistamin dan antioksidan (Kumar *et al.*, 2011). Beberapa penelitian telah memanfaatkan minyak atsiri melalui pengekstraksian cengkeh menjadi minyak cengkeh karena kandungan fenoliknya yang berfungsi sebagai antioksidan alami (Rorong, 2008).

Antioksidan merupakan suatu zat yang dapat melawan pengaruh radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan, sehingga tergolong tidak stabil. Radikal bebas menyebabkan kerusakan patologis antara lain inflamasi, gangguan metabolik, penuaan seluler, dan karsinogenik (Suryanto, 2009). Radikal bebas yang dapat menyebabkan penyakit, umumnya berasal dari luar tubuh (eksogen) karena jumlahnya yang banyak dan paparannya tidak dapat dihindari. Radikal bebas eksogen misalnya sinar UV, radiasi, polusi, makanan, minuman, ozon, pestisida, asap rokok dan lain-lain (Rohmatussolihat, 2009).

Asap rokok merupakan salah satu sumber radikal bebas eksogen yang berasal dari hasil pembakaran rokok. Bahan penyusun utama rokok berasal dari tembakau, sedangkan bahan tambahannya berasal dari bunga cengkeh untuk memberi aroma pedas pada rokok khususnya rokok kretek (Towaha, 2012).

Pembakaran rokok akan menghasilkan asap rokok yang terbagi menjadi asap rokok utama (*mainstream smoke*) dan asap rokok samping (*sidestream smoke*). Asap rokok utama merupakan asap rokok yang dihasilkan dari hisapan perokok aktif, sedangkan asap rokok samping merupakan asap rokok dari pembakaran rokok itu sendiri yang umumnya sering terhirup oleh perokok pasif. Asap rokok utama dan samping masih terbagi lagi menjadi komponen gas dan partikel. Komponen gas terdiri atas karbon monoksida (CO), oksida, aldehid, asam hidrosianat, akrolein, dan sebagainya. Sedangkan komponen partikel terdiri atas tar, nikotin, hidrokarbon aromatik polinuklear, fenol, kresol, dan sebagainya (Behr, 2002).

Komponen gas dan partikel asap rokok merupakan sumber radikal bebas eksogen yang berdampak merugikan terutama bagi paru-paru. Radikal bebas yang bersumber dari asap rokok dapat menyebabkan inflamasi pada paru-paru apabila subjek sering terpapar asap rokok. Inflamasi pada paru-paru merupakan karakteristik dari *Chronic Obstructive Pulmonary Disease* (COPD) atau Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK). Subjek yang beresiko besar untuk terkena PPOK yakni perokok pasif karena asap rokok yang terhirup oleh perokok pasif mengandung senyawa aktif yang kuat dari hasil pembakaran tidak sempurna rokok, sehingga lebih berbahaya dibandingkan asap yang dihirup secara langsung dari puntung rokok. Meskipun perokok pasif memiliki resiko lebih besar terkena PPOK, hal tersebut masih bisa diatasi dengan mengandalkan antioksidan dalam tubuh (endogen). Namun, jika perokok pasif sering mendapatkan paparan asap rokok tanpa diimbangi dengan pemberian antioksidan eksogen, maka kinerja antioksidan endogen tidak akan mampu mengatasi radikal bebas dari paparan asap rokok (MacNee, 2005).

Pengaruh radikal bebas dari asap rokok terhadap paru-paru dapat ditekan melalui dua cara yakni mengurangi paparan asap rokok dan memberikan antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen merupakan antioksidan yang didapat dari luar sistem tubuh. Antioksidan eksogen dapat berperan dalam mencegah terjadinya stress oksidatif akibat paparan radikal bebas. Kerja antioksidan yang demikian dapat memberikan peluang untuk dijadikan sebagai agen proteksi dari kerusakan sel atau jaringan. Berbagai studi banyak memanfaatkan ekstrak suatu

tanaman untuk mendapatkan antioksidan eksogen salah satunya ekstrak tanaman cengkeh (Shymala *et al.*, 2003).

Cengkeh telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai industri. Namun, sebagian besar produksi cengkeh dipergunakan untuk memenuhi kebutuhan industri rokok sekitar 80% sedangkan sisanya dipergunakan untuk industri farmasi, kosmetik dan rempah-rempah (Siagian, 2014). Padahal penggunaan cengkeh dalam rokok tidak begitu berpengaruh, hanya memberikan cita rasa pedas saja, terlebih lagi telah diketahui bahwa rokok merupakan produk yang berbahaya karena kandungan radikal bebas dalam asap rokok yang dapat mengganggu kesehatan terutama paru-paru. Mengingat bahwa cengkeh memiliki potensi sebagai antioksidan, sudah semestinya dapat dikembangkan lebih luas dibidang pengobatan. Salah satu upaya memanfaatkan cengkeh yakni melalui pemanfaatan minyak cengkeh.

Minyak cengkeh menjadi sumber antioksidan eksogen yang baik karena mengandung senyawa fenol yang cukup tinggi. Senyawa fenol yang bekerja sebagai antioksidan memiliki kemampuan untuk menekan stress oksidatif dengan cara menangkal radikal bebas (Shyamala, 2003). Selain itu, antioksidan yang terkandung dalam minyak cengkeh juga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan endogen. Meskipun minyak cengkeh berpotensi sebagai antioksidan eksogen, penerapannya dalam bidang farmasi masih kurang karena sebagian besar minyak cengkeh hanya digunakan sebagai obat sakit gigi, antiseptik, dan analgesik (Kumar, 2011). Padahal jika ditinjau dari manfaatnya sebagai antioksidan eksogen, sudah semestinya minyak cengkeh dapat dimanfaatkan lebih luas karena diyakini memiliki potensi untuk memberikan proteksi dari kerusakan jaringan akibat paparan radikal bebas eksogen yang berlebihan. Selain itu, jumlah antioksidan yang terkandung dalam minyak cengkeh cukup besar dibandingkan antioksidan yang diekstrak dari bahan lain (Carlsen *et al.*, 2010).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti bermaksud mengetahui apakah minyak cengkeh dapat memberikan efek proteksi terhadap kerusakan histologik paru-paru akibat paparan asap rokok, sekaligus untuk mencari tahu dosis optimal pemberian minyak cengkeh sebagai agen proteksi paru-paru tikus.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana gambaran kerusakan histologik paru-paru tikus setelah terpapar asap rokok?
2. Bagaimana gambaran kerusakan histologik paru-paru tikus setelah diberi minyak cengkeh dan terpapar asap rokok?
3. Apakah minyak cengkeh dapat berperan sebagai agen proteksi pada kerusakan histologik paru-paru tikus akibat paparan asap rokok?
4. Berapa dosis minyak cengkeh yang mampu memproteksi paru-paru tikus dari kerusakan histologik akibat paparan asap rokok?

C. Penegasan Istilah

Demi menghindari perbedaan pemahaman istilah dalam penelitian ini, pentingnya dibuat penegasan istilah sebagai berikut:

1. Minyak cengkeh

Minyak cengkeh merupakan minyak atsiri yang diekstrak dari tanaman cengkeh (*Syzigium aromaticum*) melalui distilasi uap dan air selama 8-24 jam tergantung bahan yang digunakan (Nurdjannah, 2004). Minyak cengkeh yang digunakan dalam penelitian merupakan minyak cengkeh yang dijual di toko kimia dengan kandungan eugenol sebesar 75%.

2. Asap rokok

Asap rokok adalah asap yang terbentuk akibat pembakaran rokok yang terbagi menjadi asap utama dan asap samping (Tandra, 2003). Asap rokok yang dikondisikan berupa asap samping. Jenis rokok yang digunakan merupakan jenis rokok kretek dengan kandungan nikotin sebesar 1,8 mg dan tar sebesar 32 mg yang dijual bebas di pasaran dan banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia.

3. Histopatologi paru-paru tikus

Menurut Sons (2009) histopatologi merupakan studi struktur mikroskopik mengenai penyakit pada jaringan. Dalam penelitian ini, histopatologi yang dimaksud adalah untuk mengetahui struktur jaringan paru yang mengalami kerusakan akibat paparan asap rokok. Struktur histopatologi diamati melalui

pengamatan mikroskopik dengan objek tinjauan berupa paru kanan tikus karena jumlah bronkus sekundernya lebih banyak daripada paru kiri, sehingga paparan asap rokok akan lebih banyak terakumulasi di paru bagian kanan (Junqueira, 2005).

D. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui gambaran kerusakan histologik paru-paru tikus setelah terpapar asap rokok.
2. Mengetahui gambaran kerusakan histologik paru-paru tikus setelah diberi minyak cengkeh dan terpapar asap rokok.
3. Membuktikan peran minyak cengkeh sebagai agen proteksi atau bukan proteksi.
4. Mengetahui dosis minyak cengkeh yang mampu memproteksi paru-paru tikus dari kerusakan histologik akibat paparan asap rokok.

E. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini dapat memberikan bukti ilmiah mengenai pengaruh proteksi minyak cengkeh terhadap kerusakan histologik paru-paru tikus yang terpapar asap rokok.

2. Manfaat aplikatif

- a. Mengembangkan fungsi minyak cengkeh.
- b. Mengembangkan minyak cengkeh sebagai obat herbal yang dijual di pasaran.
- c. Sebagai alternatif pencegahan kerusakan paru bagi perokok pasif akibat paparan asap rokok perokok aktif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Minyak cengkeh dan komponen kimianya

Minyak cengkeh merupakan minyak atsiri yang diekstrak dari tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum*) melalui distilasi uap dan air selama 8-24 jam tergantung bahan yang digunakan (Nurdjannah, 2004). Minyak atsiri merupakan minyak nabati yang kental pada suhu ruang tetapi mudah menguap sehingga memberikan aroma khas (Hastutiningrum, 2010).

Minyak cengkeh dapat diekstrak dari tiga bagian tanaman cengkeh yaitu daun cengkeh (*clove leave*) 1-4%, batang cengkeh (*clove stem*) 5-10%, dan bunga cengkeh (*clove bud*) 10-20%. Di Indonesia sering menggunakan bagian daun dan bunga tanaman cengkeh sebagai sumber pembuatan minyak cengkeh melalui proses penyulingan. Minyak cengkeh berwarna bening hingga kekuning-kuningan, mempunyai rasa pedas, dan beraroma cengkeh (Zulchi & Nurul, 2006).

Terdapat 56 komponen kimia minyak cengkeh yang berhasil dianalisis. Komponen yang paling banyak terkandung dalam minyak cengkeh yang diekstraksi dari bagian daun yakni Eugenol (74.28%), Eucalyptol (5.78%), dan Caryophyllene (3.85%). Eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol) (Bhuiyan, 2010). Sedangkan komponen minyak cengkeh yang diekstraksi dari bunga, mengandung eugenol sebanyak 48.82-58.2% (Wenqian *et al.*, 2007).

Dalam penelitian Rorong (2008), ia mengemukakan bahwa senyawa eugenol memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang bertugas untuk menangkal radikal bebas. Pengujian secara *in vitro* membuktikan bahwa senyawa eugenol dapat menurunkan aktivitas radikal bebas sintesis. Hal ini menunjukkan bahwa eugenol berpotensi dalam menekan aktivitas radikal bebas melalui pentransferan atom hidrogen dari gugus fenolik.

2. Senyawa kimia dalam rokok

Rokok adalah produk yang secara keseluruhan atau bagiannya terbuat dari daun tembakau sebagai bahan mentah yang kemudian dibentuk untuk digunakan sebagai rokok, dihisap, dikunyah atau dibau (World Health Organization, 2006). Rokok mengandung tidak kurang dari 4000 bahan organik, baik berupa partikel yang telah diidentifikasi dari daun tembakau maupun dari asap rokok. Bahan-bahan tersebut umumnya bersifat toksik, karsinogenik, reaktif dan adiktif (Hoffmann, 1997; Hapsari, 2010).

Rokok yang dibakar akan menghasilkan asap rokok yang dibagi menjadi dua jenis yakni asap utama (*main stream smoke*) dan asap samping (*side stream smoke*). Asap utama merupakan asap tembakau yang dihirup langsung oleh perokok sedangkan asap samping merupakan asap tembakau yang disebarkan ke udara bebas, yang akan dihirup oleh orang lain atau perokok pasif (Tandra, 2003). Kandungan bahan kimia pada asap rokok samping ternyata lebih tinggi dibanding asap rokok utama, antara lain karena tembakau yang terbakar pada temperatur rendah ketika rokok sedang tidak dihisap akan mengeluarkan lebih banyak bahan kimia akibat pembakaran yang kurang lengkap (Rahmatullah, 2007).

Asap rokok mengandung berbagai zat yang bersifat karsinogenik, seperti tar, arsen, PAH, nitrosamin, kadmium, formaldehid, kromium, benzen, polonium, 1,3-Butadin, dan akrolein. Tar diakui sebagai komponen paling destruktif yang dapat terakumulasi di paru-paru perokok sepanjang waktu dan merusak paru-paru melalui bermacam-macam proses biokimia dan mekanik (Sukendro, 2007).

Asap rokok selain mengandung zat yang menyebabkan kanker juga mengandung berbagai zat yang tidak menyebabkan kanker tetapi dapat mengganggu kesehatan tubuh. Adapula zat yang berpengaruh sebagai pro-inflamasi sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel hingga jaringan. Beberapa diantaranya adalah hidrogen sianida, karbon monoksida, nitrit oksida, amoniak, sulfur dioksida, akrolein, dan lain-lain (Cancerresearchuk, 2006).

Nitrit Oksida (NO) termasuk dalam fase gas dari asap rokok yang merupakan salah satu komponen oksidan terbesar. Sedangkan tar termasuk dalam fase partikel yang mendominasi komponen kimia dalam asap rokok (Zheng, 2003). Masih banyak senyawa dalam asap rokok lainnya yang terbagi dalam fase gas dan fase partikel. Fase gas dan fase partikel masing-masing memiliki pengaruh pada sistem pernapasan karena aktivitas radikal bebas yang dihasilkan dari pembakaran asap rokok (Sukendro, 2007). Senyawa dalam asap rokok yang berpengaruh sebagai mutagenik atau karsinogenik, umumnya terdapat pada fase partikel. Sedangkan yang berpengaruh sebagai iritan atau pro-inflamatori, umumnya terdapat pada fase gas (Behr, 2002). Beberapa senyawa yang terdapat dalam asap rokok dapat diamati pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Senyawa-senyawa pokok dalam asap rokok dan pengaruh yang ditimbulkannya

| Senyawa | Pengaruh |
|----------------------|--|
| Fase Partikel | |
| Tar | Mutagenik/karsinogenik |
| Nikotin | Stimulator/depressor parasimpatik, reseptor N-kolinergik |
| Hidrokarbon aromatik | Mutagenik/karsinogenik |
| Fenol | Iritan, mutagenik/karsinogenik |
| Kresol | Iritan, mutagenik/karsinogenik |
| β -Naftilamin | Mutagenik/karsinogenik |
| Benzo(a)piren | Mutagenik/karsinogenik |
| Indol | Mempercepat tumor |
| Karbazol | Mempercepat tumor |
| Fase Gas | |
| Karbon monoksida | Perusak ikatan oksigen-haemoglobin |
| Oksida dari nitrogen | Iritan, pro-inflamasi, siliotoksik |
| Aldehid | Iritan, pro-inflamasi, siliotoksik |
| Akrolein | Iritan, pro-inflamasi, siliotoksik |
| Nitrosamin | Mutagenik/karsinogenik |
| Hidrazin | Mutagenik/karsinogenik |
| Vinil klorida | Mutagenik/karsinogenik |

(Behr, 2002:164).

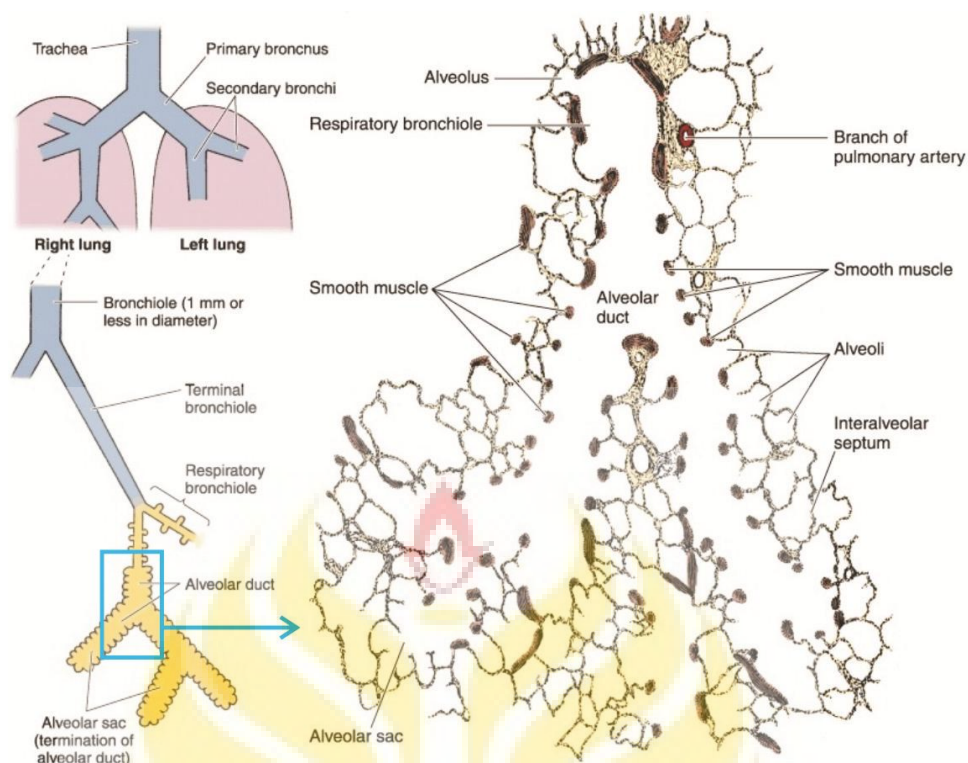
3. Struktur histologik paru

Paru-paru menempati rongga dada, dibatasi otot, rusuk, dan diafragma. Permukaan luar paru-paru dilindungi oleh selaput tipis membrana serosa yang disebut pleura (Taufiqqurohman, 1998). Paru-paru tersusun atas kelenjar tubulo alveolar kompleks dengan permukaannya yang ditutup oleh jaringan ikat longgar yang dilapisi mesotel (Gartner and James, 2010). Paru-paru berperan sebagai organ respirasi yang terdiri dari bronkiolus respiratorus, duktus alveolaris, sakus alveolaris, dan alveoli (Eroschenko, 2010).

Bronkiolus merupakan pecabangan dari bronkus tanpa tulang rawan maupun kelenjar. Bronkiolus terminalis merupakan cabang dari bronkiolus. Kemudian setiap bronkiolus terminalis bercabang menjadi dua atau lebih bronkiolus respiratorius yang berfungsi sebagai daerah peralihan antara bagian konduksi dan bagian respirasi dari sistem pernapasan. Dinding bronkiolus respiratorius diselingi oleh banyak alveolus sakular tempat terjadi pertukaran gas (Junqueira , 2005).

Duktus alveolaris merupakan bagian saluran alveolar yang menghubungkan antara bronkiolus respiratorius dengan alveolus. Duktus alveolaris berupa struktur saluran yang lebih kecil dibanding bronkiolus. Duktus alveolaris ini mengarah ke dalam muara sakus alveolaris (Junqueira , 2005).

Sakus alveolaris merupakan bagian terminasi atau ujung dari bermuaranya duktus alveolaris. Sakus alveolaris tidak lain adalah segerombolan alveolus. Alveolus merupakan unit fungsional paru-paru yang tersusun atas sel alveolus tipe I (*pneumocyte type I*) yang berfungsi mengadakan pertukaran gas dan sel tipe II (*pneumocyte type II*) yang berfungsi mengatur tegangan pulmoner. Antara alveolus satu dengan yang lainnya dibatasi oleh dinding antar alveolus atau septum interalveolar. Septum interalveolar terisi oleh matriks ekstraseluler (Junqueira , 2005). Secara skematis, gambaran struktur histologi paru disajikan pada Gambar 1.

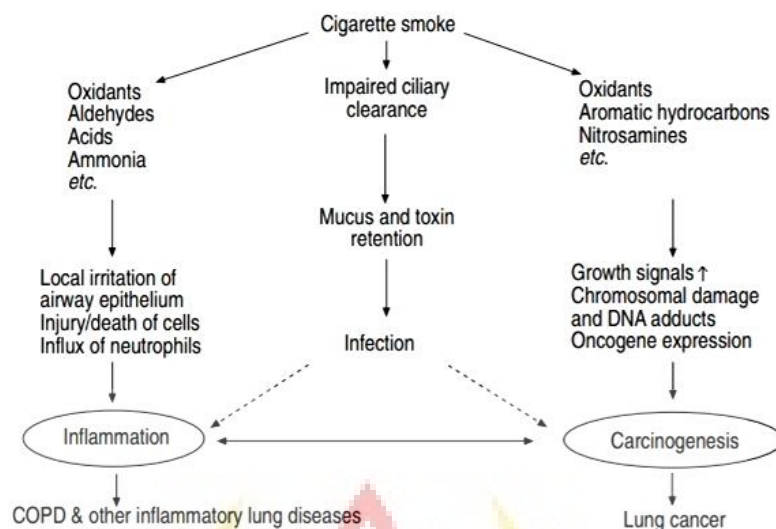


Gambar 1. Gambaran struktur histologik paru (Sumber: Junqueira, 2005).

4. Aktivitas asap rokok dalam paru-paru

Dalam setiap hisapan rokok, terdapat sekitar 10^{15} senyawa radikal bebas yang dapat bertahan lebih dari 10 menit (Zheng, 2003). Inhalasi partikel dalam asap rokok dapat masuk hingga ke dalam saluran pernapasan tergantung dari besarnya ukuran partikel. Partikel besar dapat masuk hingga saluran atas, sedangkan partikel kecil dapat masuk hingga alveolus paru. Partikel-partikel tersebut dapat mempengaruhi hingga tingkat jaringan paru (Garmendia *et al.*, 2012).

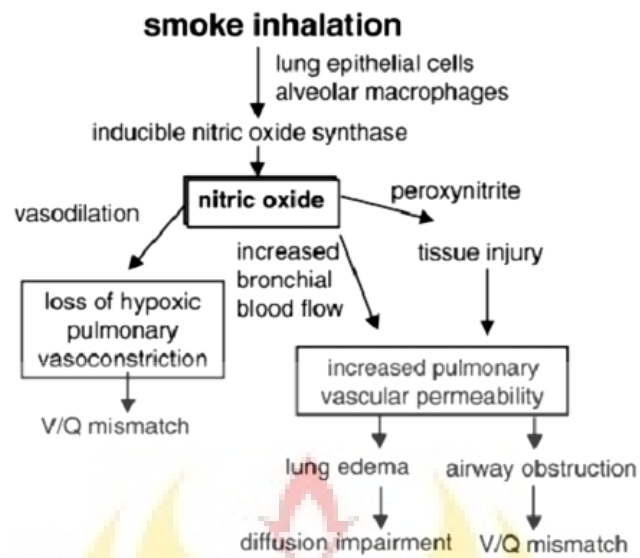
Pada tingkat jaringan, asap rokok yang dipaparkan pada makhluk hidup akan mengakibatkan terjadinya PPOK (Miller, 2007). Asap rokok mengandung berbagai senyawa radikal bebas yang sifatnya tidak stabil. Masuknya senyawa radikal bebas yang bersifat patogen akan menimbulkan respon inflamasi yang berhubungan dengan mekanisme perlindungan dari patogen (Tyner, 2006). Respon inflamasi secara berkala dapat menimbulkan PPOK (Behr & Nowak, 2002). Respon inflamasi yang disebabkan oleh asap rokok, secara ringkas dijelaskan dalam Gambar 2.



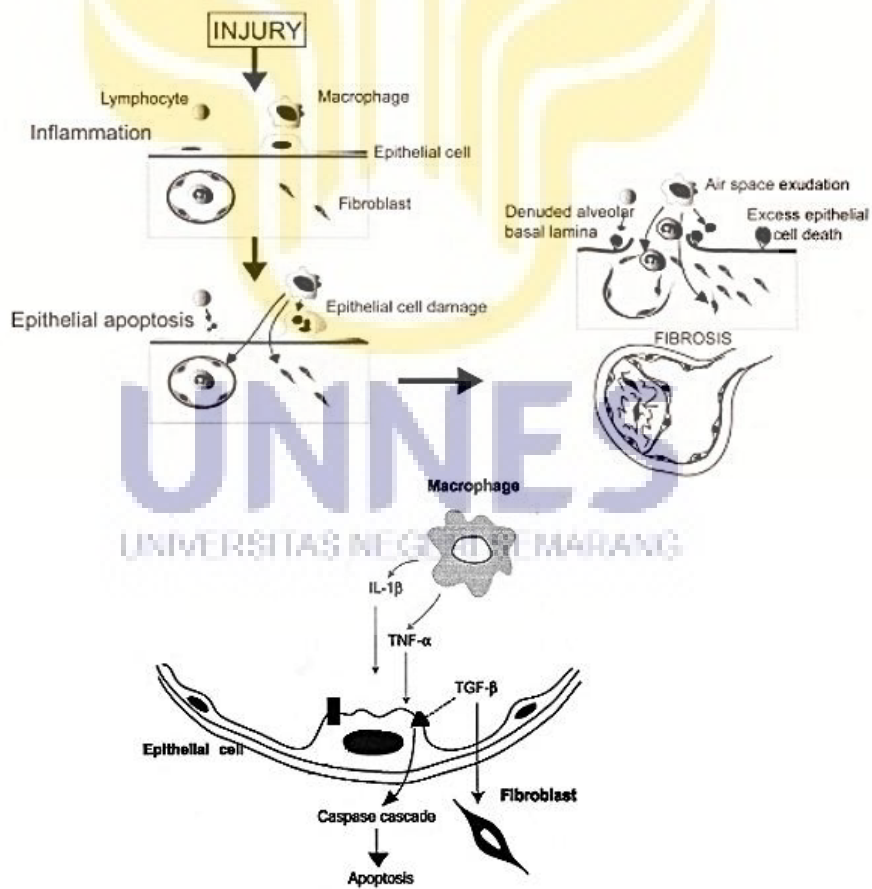
Gambar 2. Respon inflamasi akibat paparan asap rokok (Sumber: Behr & Nowak, 2002).

Terkait dengan respon inflamasi, senyawa radikal bebas dalam asap rokok sangat berpotensi sebagai pemicu inflamasi. Radikal bebas yang terdiri dari spesies oksigen reaktif (SOR) dan spesies nitrogen reaktif (SNR) memicu aktivasi sel-sel inflamatori. Respon inflamasi yang tidak terkendali akan mengakibatkan kerusakan sel. Beberapa studi terkait inflamasi pada paru-paru, peroksinitrit menyebabkan kerusakan pada sel. Secara spesifik, peroksinitrit diyakini sebagai pemicu terjadinya edema paru dan atelektasis seperti yang diterangkan dalam Gambar 3. Peroksinitrit (ONOO^-) terbentuk dari reaksi antara nitrit oksida (NO) dengan superoksida (O_2^-) yang diperantarai oleh enzim *isoform of NO syntase* (iNOS) (Murakami and Daniel, 2003). NO termasuk dalam SNR yang berasal dari asap rokok, sedangkan superoksida termasuk dalam SOR (Szabo *et al.*, 2007).

Meningkatnya respon inflamasi berhubungan erat dengan meningkatnya stress oksidatif. Stress oksidatif merupakan kondisi dimana keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan terganggu. Stress oksidatif menyebabkan mediator inflamatori teraktivasi. Di dalam jaringan paru, sel-sel yang berperan sebagai mediator inflamatori adalah neutrofil dan makrofag alveolar. Teraktivasinya makrofag menyebabkan tersintesisnya *Transforming Growth Factor Beta* ($\text{TGF-}\beta$) yang dapat menginisiasi terjadinya fibrosis (Kuwano *et al.*, 2004). Secara skematis, mekanisme inisiasi fibrosis paru dapat ditunjukkan pada Gambar 4.

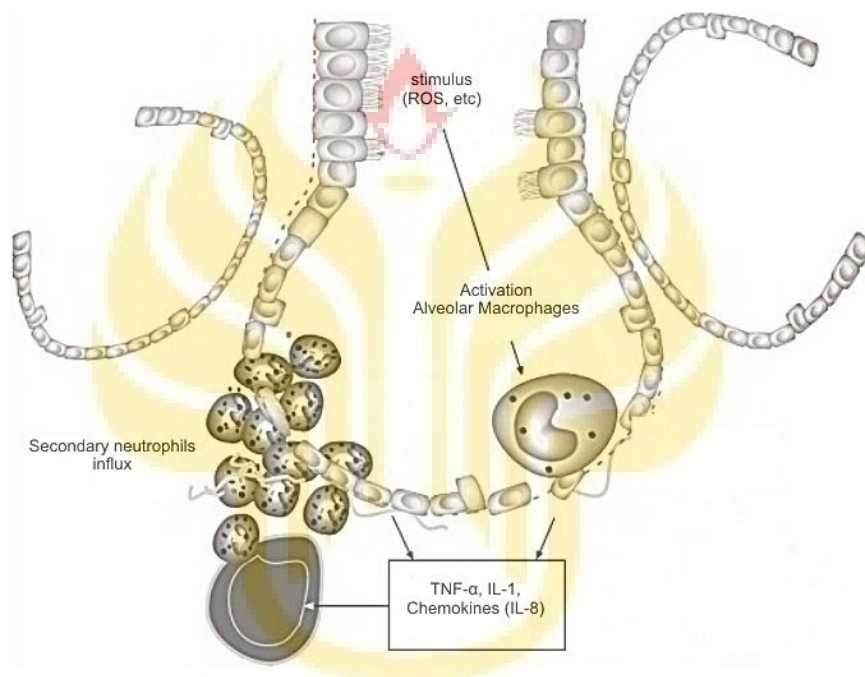


Gambar 3. Mekanisme terjadinya edema dan atelektasis paru akibat peroksinitrit (Sumber: Murakami & Daniel, 2003).



Gambar 4. Inisiasi fibrosis paru oleh makrofag alveolar (Sumber: Kuwano *et al.*, 2004).

Teraktivasinya makrofag alveolar juga menjadi penyebab meningkatnya jumlah neutrofil, dapat dilihat pada Gambar 5. Melalui sitokin yang disintesis oleh makrofag alveolar, neutrofil sekunder dapat berdiapedesis dari kapiler menuju ruang interstitial alveolus. Produksi sitokin berupa interleukin 8 (IL-8) memicu aktivasi polimorfonuklear neutrofil (PMN) dan terbentuklah neutrofil sekunder dengan jumlah yang banyak (Lambrecht *et al.*, 2011). Banyaknya neutrofil sekunder yang mengisi ruang interstitial alveolus juga disebut dengan infiltrasi sel radang atau infiltrasi sel inflamatori (Prameswari *et al.*, 2005).



Gambar 5. Peningkatan jumlah neutrofil oleh makrofag alveolar (Sumber: Lambrecht *et al.*, 2011).

5. Aktivitas eugenol dalam minyak cengkeh sebagai antioksidan

Asap rokok mengandung sejumlah senyawa reaktif yang disebut senyawa radikal. Keberadaan radikal bebas di dalam paru-paru akan menyebabkan kerusakan sel melalui proses oksidasi yang akan menimbulkan respon inflamasi. Akibat paparan asap rokok, sejumlah spesies radikal seperti SNR yang membentuk peroksinitrit dapat memicu kerusakan sel yang diawali dengan respon inflamasi. Peroksinitrit (ONOO^-) merupakan senyawa radikal yang tidak stabil karena memiliki sisi rantai yang reaktif (R-O^-). Upaya untuk menekan respon inflamasi, salah satunya dengan mengubah peroksinitrit menjadi asam

peroksinitrat (ONOOH) yang bersifat stabil (Devasagayam *et al.*, 2004). Agen yang dapat diandalkan untuk menstabilkan senyawa radikal adalah antioksidan yang memiliki gugus hidroksil fenolik (Shyamala *et al.*, 2003).

Antioksidan bertugas dalam menetralkan radikal bebas dengan menyumbangkan sebuah atom hidrogen dari gugus hidroksil fenolik yang akan mengubah radikal bebas menjadi senyawa yang stabil dan mencegah timbulnya respon inflamasi terus menerus (Nassar *et al.*, 2007). Kerja antioksidan sebagai penangkal radikal bebas melalui upaya pentransferan atom hidrogen ke senyawa radikal bebas sehingga menjadi stabil dan menghambat stress oksidatif. Sedangkan kerja antioksidan sebagai pemicu peningkatan potensi antioksidan endogen melalui upaya aktivasi antiproteinase yang berasal dari sitoplasma sel-sel epitelium alveolus (Marianti, 2009).

Eugenol dalam minyak cengkeh dapat berperan sebagai antioksidan. Eugenol dapat mencegah kerusakan sel-sel endotelium akibat respon inflamasi serta meningkatkan aktivitas antioksidan untuk menghambat spesies oksigen reaktif. Kong *et al* (2014) meyakini bahwa eugenol berperan penting sebagai antioksidan yang mampu menstabilkan senyawa radikal sehingga proses oksidasi terhenti. Reaksi stabilisasi senyawa radikal bebas bertujuan untuk mengubah sifat reaktif menjadi tidak reaktif sehingga dampak buruk untuk merusak sel dapat dicegah. Sederhananya, rantai reaktif distabilkan melalui pentransferan atom H dari gugus hidroksil fenolik suatu antioksidan. Eugenol merupakan senyawa fenolik yang memiliki rumus molekul $C_{10}H_{12}O_2$. Eugenol dapat berperan untuk menstabilkan rantai reaktif senyawa radikal karena memiliki gugus hidroksil fenolik yang menyusunnya (Rorong, 2008).

Berdasarkan kajian *in vitro* mengenai kapasitas proteksi beberapa tanaman rempah yang dilakukan oleh Ho *et al* (2008), menyebutkan bahwa komponen fenolik dalam minyak cengkeh berhubungan erat dengan kemampuan proteksi untuk melawan peroksinitrit. Eugenol dalam minyak cengkeh berperan aktif untuk melemahkan aktivitas peroksinitrit sehingga dapat mencegah dampak buruk dari pengaruh peroksinitrit.

B. Kerangka Teori

Asap rokok mengandung senyawa radikal yang tergolong dalam spesies oksigen reaktif (SOR) seperti superoksida (O_2^-), hidroksil (OH^\cdot) dan ozon (O_3). Sedangkan spesies nitrogen reaktif (SNR) seperti nitrogen (N_2), nitrogen dioksidan (NO_2), dan nitrit oksida (NO). Spesies-spesies tersebut dapat masuk hingga ke dalam jaringan dan sel penyusun paru seperti alveolus. Adanya enzim di dalam sel yang mendukung untuk mengkatalisis reaksi antara senyawa radikal bebas, dapat menimbulkan senyawa baru yang lebih radikal seperti dinitrogen trioksida (N_2O_3), asam nitrat (HNO_2), dan peroksinitrit ($ONOO^-$). Senyawa radikal bebas yang masuk hingga ke alveolus akan menimbulkan stress oksidatif hingga memicu terjadinya kerusakan sel yang diawali dengan respon inflamasi. Pada umumnya, penyakit paru berkaitan erat dengan proses inflamatori (Comhair *et al.*, 2002).

Sejumlah SOR dan SNR dalam asap rokok, memainkan peran pada modulasi fungsi fisiologi suatu jaringan dan tidak jarang menjadi penyebab terjadinya kerusakan pada jaringan. Reaksi yang ditimbulkan oleh SOR maupun SNR seperti superoksida (O_2^-) dengan nitrit oksida (NO) yang dapat menghasilkan produk berupa peroksinitrit ($ONOO^-$). Peroksinitrit berpotensi untuk merusak sel. NO bersifat sitotoksik yang banyak ditemukan pada asap rokok dan polusi bebas yang tersebar di lingkungan. Di dalam sel, NO dapat berikatan dengan radikal bebas lainnya seperti superoksida (O_2^-) (Szabo *et al.*, 2007).

Respon inflamasi dapat meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah peroksinitrit (Zhou *et al.*, 2003). Umumnya, kerusakan pada paru diawali dari munculnya respon inflamasi. Munculnya respon inflamasi distimulasi oleh agen luar yang dianggap asing oleh sistem imunitas. Adanya stimulus seperti SOR atau SNR dari asap rokok, dapat mengaktifasi makrofag alveolar. Makrofag alveolar merupakan mediator inflamasi karena dapat mensintesis sejumlah zat diantaranya *Interleukin (IL)*, *Tumor Necrosis Factor (TNF)*, *Transforming Growth Factor (TGF)* dan kemokin lainnya (Kuwano *et al.*, 2004). IL-1, IL-8, dan TNF- α yang disintesis oleh makrofag alveolar, memicu teraktifasinya *Polymorphonuclear Neutrophil (PMN)*. PMN menghasilkan sejumlah neutrofil sekunder yang

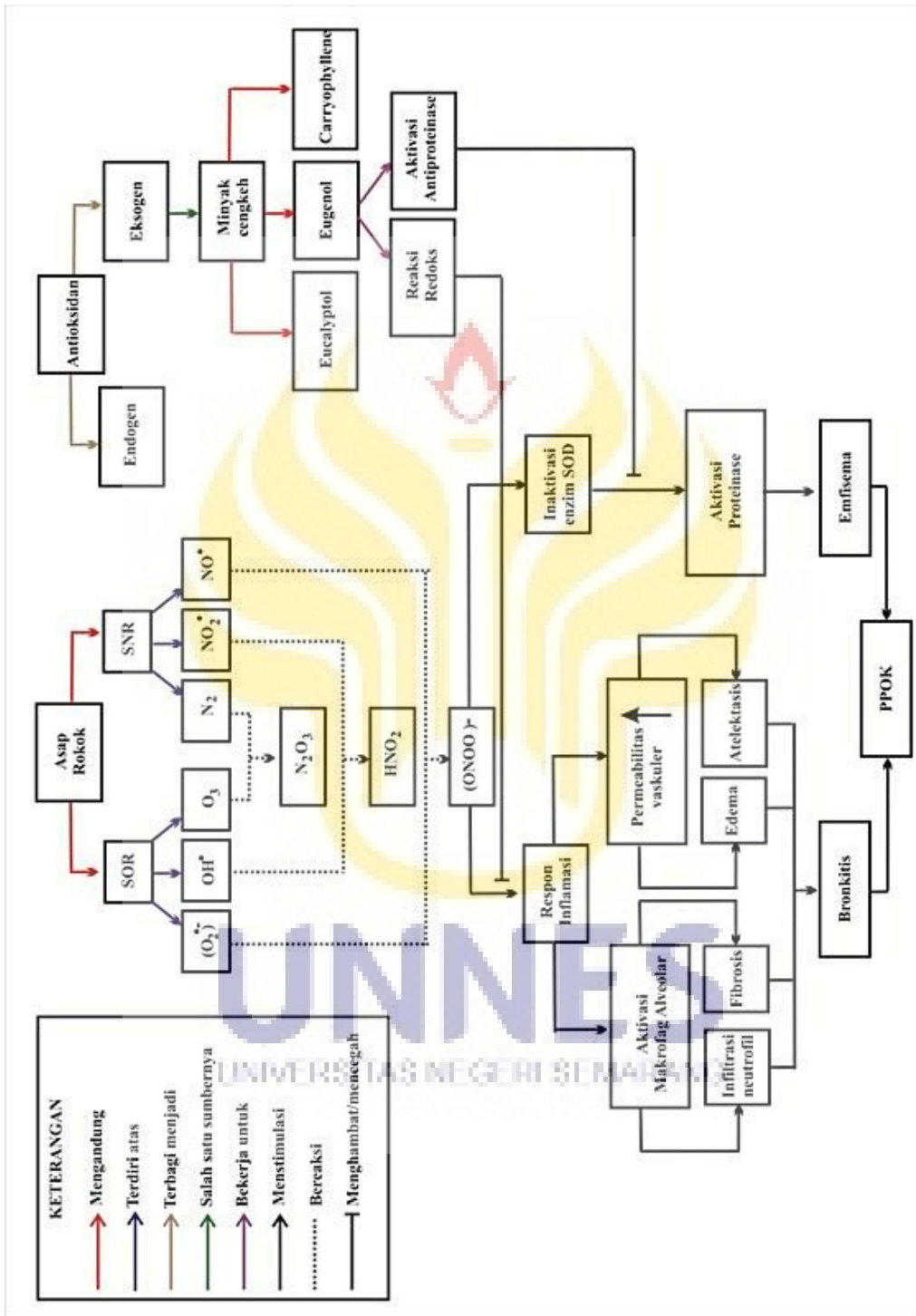
ukurannya lebih kecil dan memiliki kemampuan untuk berdiapedesis sehingga neutrofil banyak mengisi di jaringan interstitial atau septum interalveolar. TGF- β yang juga disintesis oleh makrofag alveolar, menyebabkan proliferasi fibroblas di jaringan interstitial. Proliferasi fibroblas yang tidak terhenti dapat menyebabkan fibrosis pada septum interalveolar.

Terbentuknya peroksinitrit dapat mempengaruhi permeabilitas vaskular pulmoner yang menjadi penyebab timbulnya edema paru dan menurunkan kapasitas difusi sehingga cairan yang keluar dari kapiler tidak dapat kembali (Murakami & Daniel, 2003). Peroksinitrit maupun senyawa radikal lainnya dari asap rokok dapat meningkatkan aliran darah vaskular bronkial. Kondisi semakin diperparah apabila alveolus mengalami kolaps (atelektasis) sehingga cairan semakin menyebar di area alveolus (Subagyo, 2013).

Menurut Murakami & Daniel (2003), selain menimbulkan respon inflamasi, peroksinitrit juga berpengaruh terhadap aktivitas enzim terutama superoksida dismutase (SOD). Inaktivasi SOD berakibat pada teraktivasinya enzim lain seperti proteinase. Kejadian yang terus berlanjut akan menimbulkan masalah baru yakni timbulnya gejala emfisema.

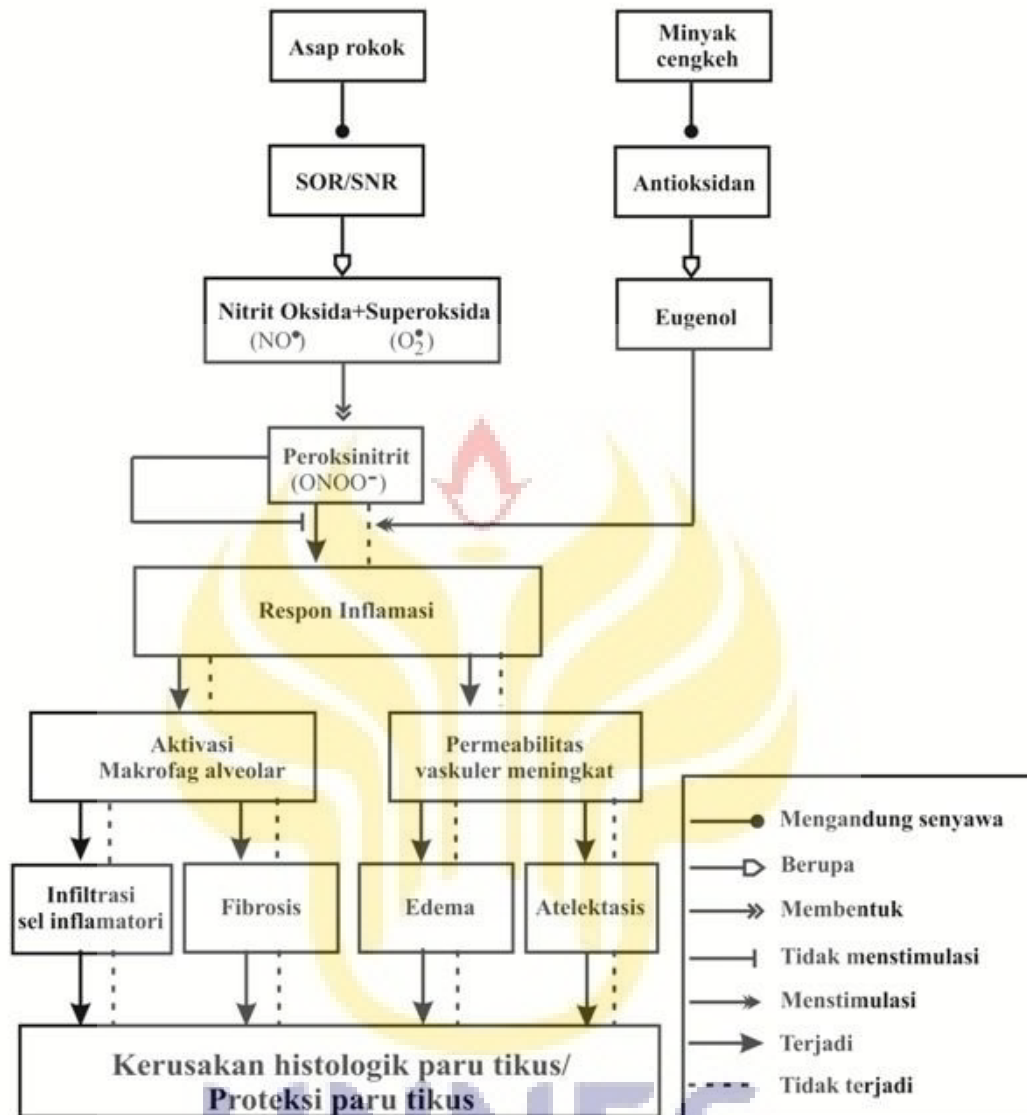
Gejala berupa infiltrasi neutrofil, fibrosis, edema dan atelektasis merupakan profil dari bronkitis. Dalam waktu yang lama, bronkitis dan emfisema dapat menimbulkan penyakit paru obstruktif kronik (PPOK) yang banyak diderita oleh sebagian besar perokok aktif dan pasif (Behr and Nowak, 2002).

Antioksidan dapat berasal dari endogen maupun eksogen. Salah satu sumber antioksidan eksogen yaitu minyak cengkeh. Minyak cengkeh mengandung senyawa-senyawa yang berperan sebagai antioksidan seperti eucalyptol, eugenol, carryophyllene dan lain sebagainya. Eugenol merupakan komponen terbesar yang terkandung dalam minyak cengkeh (Wenqian *et al.*, 2007). Aktivitas antioksidan dari eugenol mampu menghambat kerja radikal bebas melalui reaksi redoks dengan mengubah senyawa radikal bebas reaktif menjadi tidak reaktif sehingga mencegah respon inflamasi berkelanjutan (Kong *et al.*, 2014). Eugenol juga dapat mengaktivasi antiproteinase. Secara ringkas, skema aktivitas antara asap rokok dengan minyak cengkeh dalam paru-paru dapat ditunjukkan dalam Gambar 6.



Gambar 6. Aktivitas asap rokok dan minyak cengkeh dalam paru-paru.

C. Kerangka Berpikir Penelitian



Gambar 7. Kerangka berpikir penelitian efek proteksi minyak cengkeh terhadap kerusakan histologik paru tikus akibat paparan asap rokok.

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

D. Hipotesis

Pemberian minyak cengkeh mempunyai efek proteksi terhadap kerusakan histologik paru tikus yang terpapar asap rokok.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa minyak cengkeh dosis 23 mg/200 grBB telah mampu memberikan efek proteksi. Namun secara keseluruhan, pemberian minyak cengkeh belum efektif untuk dijadikan agen proteksi terhadap kerusakan paru tikus akibat paparan asap rokok.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai lama pemberian minyak cengkeh pada tikus sebagai agen proteksi serta melakukan uji coba dengan dosis yang lebih variatif, sehingga diharapkan dapat diketahui dosis yang efektif untuk memproteksi dari kerusakan histologik paru-paru tikus akibat paparan asap rokok.

Selain itu, objek pengamatan perlu diperluas lagi. Tidak hanya sebatas pengamatan histologik, melainkan pengamatan lain diantaranya TUNEL *assay* untuk menghitung jumlah sel apoptosis atau jumlah sel yang mati, *catalase activity assay* untuk melihat aktivitas katalase, menghitung malondialdehid (MDA), dan sebagainya supaya diperoleh data yang lebih akurat.



DAFTAR PUSTAKA

- Behr, J. & Nowak, D. 2002. Tobacco Smoke and Respiratory Disease. *J European Respiratory Monograph*, 21: 161-179.
- Bhuiyan, M.Z.I., J. Begum, N.C. Nandi & F. Akter. 2010. Constituents of The Essential Oil From Leaves and Buds of Clove (*Syzigium caryophyllatum* L.). *African Journal of Plant Science*, 4(11): 451-454.
- Cancerresearchuk. 2006. *Cancer-causing Chemicals*. Online. Tersedia di <http://www.cancerresearchuk.org/healthyliving/smokeispoison/poisonous-smoke/cancercausingchemicals/?a=5441> [diakses 22-03-2014].
- Carlsen, M.H., Bente, L.H., & Karl, H. 2010. The Total Antioxidant Content of More than 3100 Foods Beverages Spices Herbs and Supplements Used Worldwide. *Nutrition Journal*, 9(3): 1-11.
- Churg, A., Tai, H., Coulthard, T., Wang, R., & Wright, J.L. 2006. Cigarette Smoke Drives Small Airway Remodeling by Induction of Growth Factors in the Airway Wall. *Am J Respir Crit Care Med*, 174: 1327–1334.
- Comhair, A., Suzy, A., & Serpil, C.E. 2001. Antioxidant Responses to Oxidant Mediated Lung Diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 283: 246-255.
- Devasagayam, T.P.A., J.C. Tilak, K.K. Bloor, Ketaki, S.S., Saroj, S.G., & R.D. Lele. 2004. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: current status and future prospects. *JAPI*, 52: 794-804.
- Dharma, H.S. 2012. Aktivitas Antioksidan Endogen dan Eksogen Terhadap Kesehatan. *CDK*, 39(10): 793-794.
- D'hulst, A.I., K.Y. Vermaelen, G.G. Brusselle, G.F. Joos & R.A. Pauwels. 2005. Time Course of Cigarette Smoke-induced Pulmonary Inflammation in Mice. *J Eur Respir*, 26: 204–213.
- Eroschenko, V.P. 2010. *Atlas Histologi Difiore Dengan Korelasi Fungsional*. Translated by Brahm, U., Pendit. 2010. Jakarta: Penerbit EGC.
- Garmendia, J., P Morey., & J.A Bengoechea. 2012. Impact of Cigarette Smoke Exposure on Host-bacterial Pathogen Interactions. *Eur Respir J*, 39: 467-477.
- Gartner, L.P., & James, L.H. 2010. *Color Atlas of Histology* fifth edition. United States: Lippincott Williams and Wilkins.
- Gulcin, I. 2011. Antioxidant Activity of Eugenol: a structure activity relationship study. *J Med Food*, 14(9): 975-985.

- Hapsari, C.M.M.A. 2010. *Pengaruh Pemberian Jus Tomat (Lycopersicum esculentum Mill) Terhadap Kerusakan Histologis Alveolus Paru Mencit Yang Dipapar Asap Rokok*. Skripsi. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Hastutiningrum, N.O. 2010. *Efek Minyak Atsiri Daun Cengkeh (Syzygium aromaticum L.) Terhadap Mortalitas Larva*. Skripsi. Surakarta: FK UNS.
- Ho, S.C., Tzung, H.T., Po, J.T., & Chih, C.L. 2008. Protective Capacities of Certain Spices Against Peroxynitrite-mediated Biomolecular Damage. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 920-928.
- Hogg, J.C, Chu, F., & Utokaparch, S. 2004. The Nature of Small Airway Obstruction in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *N Engl J Med*, 350: 2645–2653.
- Junqueira , A.L. 2005. *Junqueira's Basic Histology: text and atlas 12th Edition*. Unites States: Mcgrew-Hill's.
- Kirana, R. 2009. *Pengaruh Pemberian Teh Hijau terhadap Kerusakan Struktur Histologis Alveolus Paru Mencit yang Dipapar Asap Rokok*. Skripsi. Surakarta: FK Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Klopfleisch, R. 2013. Multiparametric and Semiquantitative Scoring Systems for the Evaluation of Mouse Model Histopathology. *BMC Veterinary Research*, 9(123): 1-15.
- Kong, X., Xiwang, L.I.U., Jianyong, L.I., & Yajun, Y. 2014. Advances in Pharmacological Research of Eugenol. *J Curr Opin Complement Alternat Med*, 8(11): 8-11.
- Kumar, P., Preetee, J., Vinay, K.S., & Dinesh, K.S. 2011. Medicinal Therapeutic and Pharmacological Effects of Syzygium Aromaticum (Laung). *Pharmacologyonline*, 1: 1044-1055.
- Kuwano, K., N. Hagimoto, & Y. Nakanishi. 2004. The Role of Apoptosis in Pulmonary Fibrosis. *J Histol Histopathol*, 19: 867-881.
- Lambrecht, B.N., K. Neyt, C.H., & Geurtsvan, K. 2011. Pulmonary Defence Mechanisms and Inflammatory Pathways in Bronchiectasis. *Eur Respir Mon*, 52: 11-21.
- MacNee, W. 2005. Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *J Proc Am Thorac Soc*, 2: 258-266.
- Marianti, A. 2009. Aktivitas Antioksidan Jus Tomat pada Pencegahan Kerusakan Jaringan Paru-paru Mencit yang Dipapar Asap Rokok. *J Biosaintifika*, 1(1): 1-10.

- Miller, Y.E, Patrick, B., Dae, S.H., & Robert, L.K. 2007. Bronchial Epithelial ki-67 Index is Related to Histology Smoking and Gender but not Lung Cancer or Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 16: 2425-2431.
- Murakami, K., & Daniel, L.T. 2003. Pathophysiological Basis of Smoke Inhalation Injury. *News Physiol Sci*, 18: 125-129.
- Nassar, M.I., Ahmed, H.G., Ahmed, H.E., & Abdel, R.H. 2007. Chemical Constituents of Clove (*Syzygium aromaticum*, Fam Myrtaceae) and Their Antioxidant Activity. *J Rev Latinoamer Quim*, 35: 3.
- Nurdjannah, N. 2004. Diversifikasi Penggunaan Cengkeh. *Perspektif*, 3(2): 61-70.
- Prameswari, G.P., Aulanni'am, Dyah, & K.W. 2005. Gambaran Infiltrasi Sel Inflamatori Paru dan Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD) pada Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Asma yang Terpapar Lipopolisakarida. *J Kedokteran Universitas Brawijaya*.
- Profita, M., Angelo, S., Anna, B., Loredana, R., Maria, F., Stefania, L.G., Giusy, D.A., Angela, M.M., & Mark, G. 2010. Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Neutrophil Infiltration: role of cigarette smoke and cyclooxygenase products. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 298: 261-269.
- Rahmatullah, P. 2007. *Pneumonitis dan Penyakit Paru lingkungan*. Dalam: Sudoyo A.W. dkk (eds). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. 4th ed. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI. 103: 1-3.
- Ricciardolo, F.L.M., Peter, J.S., Benjamin, G., & Gert, F. 2004. Nitric Oxide in Health and Disease of the Respiratory System. *Physiol Rev*, 8: 731-765.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan dan penyelamat sel-sel tubuh manusia. *Biotrends*, 4(1).
- Rojas, D.F.C., Claudia, R.F.S., & Wanderley, P.O. 2014. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pac J Trop Biomed*, 4(2): 90-96.
- Rorong, J.A. 2008. Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Cengkeh (*Eugenia carryohylus*) dengan Metode DPPH. *J Chem Prog*, 1(2).
- Rudyatmi, E. 2012. *Bahan Ajar Mikroteknik*. Semarang: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Sandritter, W., & C, Thomas. 1988. *Histopatologi Buku Teks dan Atlas untuk Pelajaran Patologi Umum dan Khusus Edisi 10*. Jakarta: Penerbit EGC.

- Shymala, M.P., M.R., Venukumar, M.S., & Latha. 2003. Antioxidant Potential of the *Syzygium aromaticum* in Rats Fed with High Fat Diet. *Indian Journal of Pharmacology*, 35: 99-103.
- Siagian, V.J. 2014. *Outlook Komoditi Cengkeh*. Jakarta: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian.
- Singh, R.P., S. Sharad, & S. Kapur. 2004. Free Radicals and Oxidative Stress in Neurodegenerative Disease: relevance of dietary antioxidants. *JACM*, 5(3): 218-225.
- Subagyo, A. 2013. Edema Paru: kelainan akut atau kronik. Tersedia di <http://www.klikparu.com/2013/02/edema-paru-kelainan-akut-atau-kronik.html> [diakses 19-11-2015].
- Sukendro, S. 2007. *Filosofi Rokok*. Yogyakarta: Pinus Book Publisher.
- Suradi. 2007. Pengaruh rokok pada penyakit paru obstruktif kronis tinjauan patogenesis klinis dan sosial. *J Ked Universitas Sebelas Maret*.
- Suryanto, E. & Frenly, W. 2009. Aktivitas penangkapan radikal bebas dari ekstrak fenolik daun sukun (*artocarpus altils f*). *J Universitas Sam Ratulangi*.
- Sons, W.C. & Co. 2009. Complete & Unabridged 10th Edition: *Histopathology*. Tersedia <http://www.dictionary.reference.com/browse/histopathology.html> [diakses 15-04-2014].
- Szabo, C., Harry, I., Rafael, R. 2007. Peroxynitrite:biochemistry pathophysiology and development of therapeutics. *Nature Publishing Group*, 6:662-680.
- Tandra, H. 2003. *Merokok dan Kesehatan*. Dalam: Cahanar P. dan Suhanda I. (eds). *Makan Sehat Hidup Sehat*. Jakarta: Kompas.
- Taufiqurohman, M.A. 1998. *Sistem Pernafasan*. Surakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia.
- Todd, N.W., Irina, G.L., & Sergei, P.A. 2012. Molecular and Cellular Mechanisms of Pulmonary Fibrosis. *Fibrogenesis & Tissue Repair*, 5(11): 1-24.
- Towaha, J. 2012. Manfaat eugenol cengkeh dalam berbagai industri di Indonesia. *Perspektif*, 11(2): 79-90.
- Tyner, J.W., Kim, E.Y., Ide, K., Pelletier, M.R., & Roswit, W.T. 2006. Blocking airway mucous cell metaplasia by inhibiting EGFR antiapoptosis and 11-13 transdifferentiation signals. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(2): 309-321.

- Wenqian, G., Shufen, L., & Ruixiang, Y. 2007. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and three other traditional extraction methods. *Food Chem*, 101: 1558–1564.
- Zheng, X. 2003. *Cigarette Smoke*. Paper. Iowa City: Medical Laboratories The University of Iowa.
- Zhou, J.L., Guo, H.J., Yi, L.Y., Jun, L.Z., & Xin, L.H. 2003. Role of Nitric Oxide and Peroxynitrite Anion in Lung Injury in Rats. *World J Gastroenterol*, 9(6): 1318-1322.
- Zin, W.A., Ana, G.L.S.S., Clarissa, B.M., Magalhaes, & Giovanna, M.C., Carvalho, Douglas, R.R., Crystianne, C.L. 2012. Eugenol Attenuates Pulmonary Damage Induced by Diesel Exhaust Particles. *J Appl Physiol*, 112: 911-917.
- Zulchi, T.P.H., & Nurul, A.R. 2006. *Pengaruh Berbagai Organ Tanaman Dan Lama Penyulingan Terhadap Kuantitas Dan Kualitas Minyak Atsiri Cengkeh (Caryophyllus aromaticus)*. Tersedia di http://digilib.itb.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=read&id=jiptumm-gdlres-2002-try-5372_atsiri&q=Minyak [diakses 10-10-2014].

