

Pengaruh Pemberian *Thymoquinone* terhadap Histopatologi Trakea Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* yang dipapar Asap Rokok

Sarah Tria N J¹, Susianti², Rodiani³, Muhartono⁴, Riyan Wahyudo⁵

¹Mahasiswa, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Bagian Ilmu Kebidanan dan Kandungan, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

⁴Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

⁵Bagian Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Rokok dapat menyebabkan berbagai macam penyakit termasuk penyakit pada saluran pernapasan dan telah menjadi salah satu penyebab kematian terbesar di dunia. *Thymoquinone* yang merupakan komponen bioaktif terbesar dari biji *Nigella sativa* dipercaya dapat menetralkan radikal bebas pada asap rokok. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *thymoquinone* terhadap histopatologi trakea tikus putih galur *Sprague dawley* yang dipapar asap rokok. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *post test only control group design* dengan menggunakan 24 ekor tikus putih galur *Sprague dawley* yang dibagi ke dalam 4 kelompok dan diberi perlakuan selama 14 hari. K1 diberi makan minum biasa tanpa perlakuan, K2 dipapar asap rokok, K3 dipapar asap rokok dan diberi minyak zaitun 0,5 ml, P1 dipapar asap rokok dan diberi minyak zaitun 0,5 ml serta *thymoquinone* 5 mg/kgBB/hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *thymoquinone* dosis 5 mg/kgBB/hari dapat menurunkan derajat kerusakan trakea dengan rerata skor 1,93. Simpulan, terdapat pengaruh pemberian *thymoquinone* terhadap histopatologi trakea tikus putih galur *Sprague dawley* yang dipapar asap rokok.

Kata Kunci: Histopatologi Trakea, Rokok, *Thymoquinone*.

The Effect of *Thymoquinone* on Trachea Histopathology of *Sprague dawley* Strains White Rat (*Rattus norvegicus*) Exposed by Cigarette Smoke

Abstract

Cigarettes can cause various diseases including respiratory disease and have become one of the biggest causes of death in the world. *Thymoquinone*, which is the largest bioactive component of *Nigella sativa* seeds, is believed to be able to neutralize free radicals in cigarette smoke. This study aimed to determine the effect of *thymoquinone* on trachea histopathology of *Sprague dawley's* white rat exposed by cigarette smoke. This study is a laboratory experimental with post test only control group design using 24 *Sprague dawley* white rats which were divided into 4 groups and were treated for 14 days. K1 was given regular meal without treatment, K2 was given cigarette smoke, K3 was given cigarette smoke and olive oil 0,5 ml, P1 was given cigarette smoke, olive oil 0,5 ml, and *thymoquinone* 5 mg/kg body weight/day. The results showed that *thymoquinone* dose of 5 mg/kg body weight can lower trachea histopathology damage with average score 1,93. Conclusions, there is an effect of *thymoquinone* on trachea histopathology of *Sprague dawley's* white rat exposed by cigarette smoke.

Keywords: Cigarette, *Thymoquinone*, Trachea Histopathology.

Korespondensi: Sarah Tria N J, alamat Jl. Cut Nyak Dien Perum Palapa LK 2, HP: 082278727597, e-mail: sarahtriaa@yahoo.com.

Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara dengan tingkat penggunaan rokok yang cukup tinggi. Menurut data *World Health Organization* (WHO), Indonesia merupakan negara ketiga setelah Cina dan India dengan jumlah perokok terbesar di dunia.¹ WHO melaporkan pada tahun 2011 lebih dari 6 juta orang meninggal karena penyakit akibat rokok.²

Menurut data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada tahun 2013, Lampung

merupakan salah satu provinsi dengan jumlah perokok cukup tinggi. Lampung terdapat pada urutan ke-7 dari 33 provinsi di Indonesia dengan persentase jumlah perokok sebanyak 26,5% dan persentase ini di atas rata-rata jumlah perokok di Indonesia yaitu 24,3%. Sementara itu, Lampung terdapat pada urutan pertama untuk perokok usia 15-19 tahun dengan persentase sebanyak 60,9% dengan persentase rata-rata nasional yaitu 55,4%.³

Merokok dapat merugikan kesehatan karena dapat mengakibatkan banyak penyakit

seperti penyakit pada sistem kardiovaskular, penyakit pada sistem respirasi, kanker, impotensi, kehamilan prematur, dan berat bayi lahir rendah.⁴ Rokok mengandung kurang lebih 4000 jenis bahan kimia diantaranya adalah tar, nikotin, dan karbon monoksida. Tar dalam asap rokok mengandung bahan karsinogenik yang dapat melumpuhkan silia di paru-paru sehingga berkontribusi terhadap terjadinya emfisema, bronkitis kronis, kanker paru-paru, serta dapat mengganggu fungsi organ mulut, pita suara, tenggorok, ginjal, dsb. Nikotin adalah komponen terbesar dalam asap rokok. Nikotin bersifat alkali kuat sehingga dapat melalui membran sel saraf dan dapat menyebabkan kelumpuhan saraf.^{5,6}

Selain itu, asap rokok juga mengandung 10^{14} molekul radikal bebas yang bersifat reaktif dan destruktif dalam setiap hisapnya. Asap rokok terdiri dari 2 fase yaitu fase gas dan fase tar. Fase gas mengandung radikal organik dan anorganik seperti nitrit oksida, peroksida, epoksida, *reactive oxygen species* (ROS), karbon monoksida, karbon dioksida, amonia, dan berbagai radikal bebas lainnya. Fase tar terdiri dari tar, nikotin, benzopirena, fenol, kadmium, dan kresol.⁷

Sebagian besar radikal bebas pada fase gas dapat dilenyapkan di *epithelial lining fluid* (ELF) yang melapisi saluran napas bagian distal. Pada fase tar, radikal bebas yang dikandung cenderung stabil dan sebagian besar merupakan radikal organik seperti radikal *semiquinone*. *Semiquinone* inilah yang dapat bereaksi dengan oksigen membentuk superoksida dan menyebabkan produksi ROS dalam jangka waktu yang panjang.⁷

Antioksidan mempunyai peran penting dalam menangkal radikal bebas di dalam tubuh dengan cara mendonorkan atau menerima salah satu elektron pada radikal bebas. Antioksidan dapat melindungi sel dari kerusakan dengan mengubah ion superoksida (O_2^-) dibantu oleh enzim *peroksida dismutase* (SOD) dengan penambahan ion hidrogen menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2).⁹

Thymoquinone, hasil isolasi dari biji jinten hitam (*Nigella sativa*) terbukti memiliki berbagai manfaat kesehatan salah satunya adalah sebagai antioksidan. *Thymoquinone* terbukti efektif dalam mengurangi kadar superoksida, nitrit oksida, hidrogen peroksida serta dapat mengurangi stres oksidatif melalui

penurunan peroksidasi lipid dan peningkatan antioksidan *glutathione* (GSH).¹⁰

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *thymoquinone* terhadap histopatologi trakea tikus putih yang dipapar oleh asap rokok.

Metode

Penelitian ini dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk proses pemeliharaan dan perlakuan dengan pengamatan dilakukan di Laboratorium Anatomi, Histologi, dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan pada bulan November sampai dengan Desember 2018.

Bahan utama yang digunakan pada penelitian adalah *thymoquinone* yang diperoleh dari Sigma-Aldrich Singapura dan hewan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* umur 10-16 minggu yang diperoleh dari Palembang Tikus Centre (PTC). Alat yang digunakan pada penelitian adalah spuit, sonde lambung, *smoking box*, neraca analitik, kandang mencit, alat bedah minor, dan mikroskop cahaya.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan metode rancangan acak terkontrol dengan pola *post test only control group design*. Penelitian menggunakan 24 ekor tikus yang dibagi ke dalam 3 tiga kelompok kontrol dan 1 kelompok perlakuan. Kelompok K1 hanya diberi makan minum biasa tanpa perlakuan. Kelompok K2 diberi paparan asap rokok 2 batang/hari. Kelompok K3 diberi paparan asap rokok 2 batang/hari dan minyak zaitun 0,5 ml. Kelompok P1 diberi paparan asap rokok 2 batang/hari diikuti dengan pemberian minyak zaitun 0,5 ml dan *thymoquinone* 5 mg/kgBB/hari. Pemberian perlakuan dilakukan selama 14 hari.

Setelah diberi perlakuan selama 14 hari, tikus diterminasi pada hari ke-15. Setiap tikus pada tiap kelompok dianestesi terlebih dahulu dengan *Kloroform* dan kemudian diambil organ trakea untuk dibuat sediaan mikroskopis dengan metode paraffin dan pewarnaan Hematoksin-Eosin. Pembacaan preparat menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400X dan diinterpretasikan ke dalam bentuk skoring yang diamati dalam 5 lapang pandang. Derajat kerusakan trakea yang

diamati adalah sel epitel silindris bersilia dengan skor 0 untuk preparat yang tidak ditemukan tanda kerusakan, skor 1 untuk kerusakan ringan yaitu kehilangan silia <30%, skor 2 untuk kerusakan sedang yaitu kehilangan silia 30-60%, dan skor 3 untuk kerusakan berat yaitu kehilangan silia >60%.¹⁰

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop diuji menggunakan program *Statistical Product and Service Solution* (SPSS). Hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan uji normalitas

data *Saphiro-Wilk* kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas uji *Levene*. Karena syarat uji parametrik terpenuhi maka dilakukan uji *One Way Anova*. Hipotesis dianggap bermakna jika $p < 0,05$ dan dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc LSD*.

Hasil

Dari hasil penelitian didapatkan rerata skor derajat histopatologi trakea yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Derajat Kerusakan Histopatologi Trakea

Klp	S	Lapang Pandang					Total	Rerata
		1	2	3	4	5		
K1	1	0	1	0	1	0	0.4	0,37
	2	0	2	1	0	0	0.6	
	3	0	0	0	0	0	0	
	4	1	0	0	0	1	0.4	
	5	1	1	0	0	0	0.4	
	6	1	0	1	0	0	0.4	
K2	1	3	2	3	2	3	2.6	2,67
	2	2	3	2	1	2	2	
	3	3	3	3	3	2	2.8	
	4	3	3	3	3	3	3	
	5	3	3	2	3	3	2.8	
	6	2	3	3	3	3	2.8	
K3	1	1	2	2	3	2	2	1,73
	2	2	3	3	2	2	2.4	
	3	2	1	1	2	1	1.4	
	4	1	2	1	2	1	1.4	
	5	2	3	2	2	1	2	
	6	1	1	1	2	1	1.2	
P1	1	1	2	1	2	1	1.4	1,93
	2	2	2	1	2	2	1.8	
	3	1	2	2	3	3	2.2	
	4	2	3	2	1	3	2.2	
	5	2	1	2	3	2	2	
	6	2	3	1	2	2	2	

Keterangan: Klp: kelompok. S: sampel.

Setelah diperoleh rerata dari masing masing kelompok, selanjutnya dilakukan uji normalitas *Saphiro-Wilk* didapatkan $p > 0,05$. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Levene* untuk mengetahui homogenitas data dan didapatkan $p > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa syarat uji

parametrik telah terpenuhi sehingga dilakukan uji *One Way Anova* dan didapatkan $p = 0,001$ yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk melihat adanya perbedaan bermakna antar kelompok. Hasil uji *Post Hoc LSD* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Analisis Uji *Post Hoc* LSD Histopatologi Trakea

Kelompok	K1	K2	K3	P1
K1	-	0,001*	0,001*	0,001*
K2	0,001*	-	0,001*	0,001*
K3	0,001*	0,001*	-	0,325*
P1	0,001*	0,001*	0,325	-

Keterangan: *bermakna yaitu nilai $p < 0,05$

Berdasarkan uji *Post Hoc* LSD di atas didapatkan nilai $p < 0,05$ yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok menurut derajat kerusakan trakea. Sedangkan pada uji *Post Hoc* LSD dengan $p > 0,05$ pada kelompok K3 dan P1 menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok tersebut.

Pembahasan

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis terhadap gambaran histopatologi trakea tikus putih didapatkan bahwa pada kelompok K1 yang hanya diberi makan minum biasa tanpa perlakuan memiliki rerata jumlah kehilangan silia terendah yaitu sebesar 0,37.

Pada kelompok K2 yang dipapar asap rokok 2 batang/hari selama 14 hari menunjukkan kerusakan trakea yang paling parah dibandingkan dengan kelompok lainnya dengan rerata skor derajat kerusakan trakea sebesar 2,67. Kerusakan yang dimaksud dapat dilihat dari penurunan jumlah silia yang signifikan. Hal ini sejalan dengan penelitian Kristiawan dkk. (2017) yang menunjukkan bahwa paparan asap rokok dapat menyebabkan kerusakan pada struktur histologi trakea ditandai dengan mereduksinya silia pada epitel pseudokompleks bersilia, hiperplasia sel goblet, memendeknya tinggi epitel, dan menyempitnya diameter lumen trakea.¹²

Pembakaran tidak sempurna berbagai bahan kimia pada asap rokok akan membentuk radikal bebas yang akan berikatan dengan oksigen reaktif membentuk ROS yang dapat menyebabkan gangguan mekanisme pertahanan antioksidan tubuh.¹³ Radikal bebas meyerang membran plasma yang terdiri dari komponen lipid dan protein dan akan menimbulkan reaksi bebas pada lipid yaitu peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah reaksi berantai yang memberikan pasokan radikal bebas secara terus menerus sehingga dapat menyebabkan kerusakan jaringan.¹⁴

Peningkatan jumlah radikal bebas yang masuk ke dalam saluran pernapasan juga akan memicu pergerakan sel makrofag, neutrofil, dan eosinofil yang dapat mengaktifkan mediator inflamasi dan faktor kemotatik seperti *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), interleukin-IL6, interleukin-IL8, *monocyte chemotactic peptide* (MCP)-1, *leukotriene* LTB4, ROS, dan enzim proteolitik. Radikal bebas yang sangat berperan dalam proses inflamasi adalah radikal superoksida karena memiliki waktu paruh yang panjang sehingga jumlah sel target menjadi lebih banyak dan mengakibatkan kerusakan serta kematian sel yang lebih luas.^{13,15}

Pada kelompok P1 yang dipapar asap rokok 2 batang/hari dan diberikan *thymoquinone* 5 mg/kgBB/hari serta minyak zaitun 0,5 ml selama 14 hari menunjukkan rerata skor yang menurun dari kelompok K2 yaitu sebesar 1,93. Hal ini menunjukkan bahwa tikus yang diberikan *thymoquinone* dengan dosis 5 mg/kgBB dapat berpengaruh terhadap penurunan persentase kehilangan silia. Hal ini sejalan dengan penelitian Marwan dkk. (2005)⁷ yang menunjukkan bahwa *thymoquinone* memiliki potensi antioksidan dalam mencegah stres oksidatif pada paru tikus wistar akibat paparan asap rokok. Hal ini juga diperkuat dengan penelitian Alam dkk. (2018)⁸ bahwa *thymoquinone* dapat memperbaiki kadiotoksitas yang disebabkan oleh doxorubicin pada tikus albino Swiss dengan cara memodulasi stres oksidatif dan peradangan sel. Di samping itu, *thymoquinone* yang dikandung jinten hitam juga diketahui memiliki potensi analgesik dan antiinflamasi.¹⁶

Thymoquinone adalah senyawa yang sulit larut dalam air sehingga dilarutkan terlebih dahulu ke dalam minyak zaitun.¹⁷ Pada kelompok K3 yang dipapar asap rokok 2 batang/hari dan diberikan minyak zaitun 0,5 ml didapatkan rerata skor yang menurun dari kelompok K2 dan P1 yaitu sebesar 1,73. Minyak zaitun yang digunakan dalam penelitian ini adalah *extra virgin olive oil*

(EVOO). EVOO diketahui memiliki kandungan polifenol yang tinggi dan dikenal sebagai antioksidan, antiinflamasi, serta antikoagulan. Selain itu, EVOO mengandung antioksidan lainnya seperti senyawa flavonoid, fenolik, tokoferol, squalene, klorofil, dan β -karoten yang dapat mencegah stres oksidatif yang disebabkan asap rokok.¹⁸ Oleh karena itu, jenis pelarut yang dipakai dalam melarutkan *thymoquinone* perlu diperhatikan agar tidak menjadi bias dalam penelitian.

Simpulan

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian *thymoquinone* terhadap histopatologi trakea tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang dipapar oleh asap rokok.

Daftar Pustaka

1. Kemenkes RI. Infodatin: perilaku merokok masyarakat Indonesia. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2015.
2. World Health Organization. WHO report on the global tobacco epidemic. Jenewa: WHO; 2011.
3. Riset Kesehatan Dasar. Badan penelitian dan pengembangan kesehatan kementerian RI tahun 2013. Jakarta: Kemenkes RI; 2013.
4. Center for Disease Control and Prevention. Youth and tobacco use. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (US) Office on Smoking and Health. Atlanta: CDC; 2013.
5. Hammado N. Pengaruh rokok terhadap kesehatan dan pembentukan karakter manusia. Jurnal UNCP. 2014;1(1):78-84.
6. Prameswari YN, Witjahjo B, Wijayahadi N. Pengaruh pemberian dosis bertingkat madu terhadap gambaran mikroskopis paru pada mencit strain balb/c jantan yang diberi paparan asap rokok [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro; 2014.
7. Marwan, Widjajanto E, Karyono S. Pengaruh pemberian ekstrak biji jinten hitam (*nigella sativa*) terhadap kadar gsh, mda, jumlah serta fungsi sel makrofag alveolar paru tikus wistar yang dipapar asap rokok. Intisari Sains Media. 2005;21:111-21.
8. Alam MF, Khan G, Safhi MM, Alshahrani S, Siddiqui R, Moni SS, dkk. Thymoquinone ameliorates doxorubicin induced cardiotoxicity in swiss albino mice by modulating oxidative damage and cellular inflammation. Cardiology Research and Practice. 2018;6:1-6.
9. Hayati A. Spermatologi. Surabaya: Airlangga University Press; 2011.
10. Cobourne-Duval MK, Taka E, Mendonca P, Bauer D, Soliman KFA. The antioxidant effects of thymoquinone in activated bv-2 murine microglial cells. Neurochem Res. 2016;41(12):3227-38.
11. Wulan KN. Pengaruh ekstrak kurma ajwa (*phoenix dactylifera* L.) sebagai antioksidan terhadap sel trakea tikus galur *sprague dawley* yang diberi paparan asap rokok [skripsi]. Bandar Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Lampung; 2018.
12. Kristiawan IKA, Suarni NMR, Yulihastuti DA. Struktur histologi trakea tikus putih (*rattus* sp.) yang terpapar asap rokok setelah diberi ekstrak buah juwet (*syzygium cumini* L.). Jurnal Simbiosis. 2017;5(1):11-5.
13. Angelis N, Porpodis K, Zarogoulidis P, Spyrtos D, Kioumis I, Papaiwannou A, dkk. Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. Journal of Thoracic Disease. 2014;6(1):167-72.
14. Utami C, Harjana T, Sukiya. Pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis (*garcinia mangostana*) terhadap gambaran histologic trakea dan paru paru mencit (*mus musculus*) yang terpapar asap rokok. Jurnal Prodi Biologi. 2017;6(2):18-25.
15. Gutowski M, Kowalczyk S. A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. Acta Biochimica Polonica. 2013;60(1):1-16.
16. Hajhashemi V, Ghannadi A, Jafarabadi H. Black cumin seed essential oil as a potent analgesic and antiinflammatory drug. Phytother. Res. 2004;18:195-9.
17. Al-Ali A, Alkhawajah A, Randhawa M, Shaikh NA. Oral and intraperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of *nigella sativa*, in mice and rats. Journal of Ayub Medical College Abbotabad. 2008;20(2):25-7.

18. Meilina. Extra virgin olive oil menurunkan kadar mda (malondialdehyde) pada tikus (*rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang dipapar asap rokok. Intisari Sains Medis. 2017;8(2):97-101.