

## Potensi Eugenol Sebagai Agen Proteksi Kerusakan Struktur Paru Akibat Paparan Asap Rokok

Lisdiana<sup>✉</sup>, Nuraini

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia

### Info Artikel

*Sejarah Artikel:*

Diterima 11 August 2018

Disetujui 23 September 2018

Dipublikasikan 1 October 2018

*Keywords:*

*Cigarette smoke, eugenol, lung damage*

### Abstrak

Asap rokok mengandung senyawa radikal bebas tidak stabil yang menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif berhubungan dengan respon inflamasi yang menjadi awal dari ppok. Eugenol adalah senyawa aktif yang terkandung pada minyak cengkeh. Eugenol merupakan antioksidan eksogen yang mampu menetralkan radikal bebas sehingga dapat dijadikan agen proteksi kerusakan akibat paparan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi eugenol sebagai agen proteksi pada kerusakan paru tikus akibat paparan asap rokok. Sampel 25 tikus dibagi menjadi lima kelompok. Kelompok A0 dan A1 masing-masing adalah kelompok kontrol negatif dan positif. Kelompok A2, A3, A4 adalah kelompok perlakuan dengan minyak cengkeh berturut-turut dosis 23mg; 33mg; dan 43 mg/200g BB. Semua kelompok kecuali kontrol negatif, dipapar dengan asap rokok 2x15 menit. Perlakuan selama 33 hari. Spesimen paru kanan dibuat preparat histologi dengan pewarnaan HE. Data berupa perbandingan derajat kerusakan paru pada masing-masing kelompok dianalisis dengan Kruskal-Wallis dan Mann Whitney. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak cengkeh dengan kandungan senyawa aktif eugenol berpotensi sebagai agen proteksi pada kerusakan paru tikus akibat paparan asap rokok dengan dosis efektif sebesar 23 mg/200g BB.

### Abstract

*Cigarette smoke contains unstable free radical compounds that can cause oxidative stress. Oxidative stress related to inflammation responds that can lead of COPD. Eugenol is an active compound contained in clove oil. Eugenol is an exogenous antioxidant that can neutralize free radicals so that it can be used as a protective agent of damage due to exposure to free radicals. The purpose of this research is to analyze the potential of eugenol as a protective agent in rat lung damage due to exposure to cigarette smoke. Samples of 25 rats were divided into five groups. Groups A0 and A1 are negative and positive control. Group A2, A3, A4 are a group treated with clove oil at a dose of 23 mg; 33mg; and 43 mg / 200g BB. All groups except negative controls were exposed to cigarette smoke 2x15 minutes. Treatment for 33 days. The right lung specimen was made histological preparations with the HE method. Data in the form of a comparison of the degree of lung damage in each group were analyzed by Kruskal wallis and Mann Whitney. he results showed that clove oil with the active ingredient eugenol had the potential to be a protective agent for lung damage due to exposure to cigarette smoke with an effective dose of 23 mg/200g BB.*

© 2018 Universitas Negeri Semarang

<sup>✉</sup> Alamat korespondensi:

E-mail: [lisdiana@mail.unnes.ac.id](mailto:lisdiana@mail.unnes.ac.id)

## PENDAHULUAN

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

Beberapa penelitian telah memanfaatkan minyak atsiri melalui pengestraksian cengkeh menjadi minyak cengkeh, karena kandungan fenoliknya yang berfungsi sebagai antioksidan alami. Salah satu antioksidan yang terkandung dalam minyak cengkeh adalah senyawa eugenol (Rorong 2008).

Eugenol dalam minyak cengkeh dapat berperan sebagai antiosidan. Eugenol dapat mencegah kerusakan sel-sel endotelium akibat respon inflamasi serta meningkatkan aktivitas antioksidan untuk menghambat *reactive oxygen spesies* (ROS). Radikal bebas dan senyawa ROS dalam tubuh dapat menyebabkan oksidasi lipid, oksidasi protein, DNA *strans break*, modifikasi basa DNA, dan modulasi ekspresi gen (Lee *et al* 2004). Eugenol berperan penting sebagai antioksidan yang mampu menstabilkan senyawa radikal sehingga proses oksidasi terhenti (Kong *et al* 2014).

Reaksi stabilisasi senyawa radikal bebas bertujuan untuk mengubah sifat reaktif menjadi tidak reaktif sehingga dampak buruk kerusakan sel dapat dicegah. Sederhananya, rantai reaktif distabilkan melalui pentransferan atom H dari gugus hidrosil 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 hidrosil fenolik (Rorong 2008).

Dalam keadaan normal, secara fisiologis sel memproduksi radikal bebas sebagai konsekuensi logis akibat reaksi biokimia dalam metabolisme sel aerob atau metabolisme xenobiotik. Tubuh secara alami memiliki

system pertahanan terhadap radikal bebas, yaitu antioksidan endogen intrasel yang terdiri atas enzim-enzim yang disintesis oleh tubuh seperti superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase. Radikal bebas adalah sebuah atom atau molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Radikal bebas yang dapat menyebabkan penyakit, umumnya berasal dari luar tubuh (eksogen) karena jumlahnya yang banyak dan paparannya tidak dapat dihindari. Sumber 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. Pembakaran rokok akan menghasilkan asap rokok yang terbagi menjadi asap rokok utama (*mainstream smoke*) dan asap rokok samping (*sidestream smoke*) yang keduanya mengandung komponen gas dan partikel (Behr & Nowak 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 terkena PPOK adalah perokok pasif karena asap rokok yang terhirup oleh perokok pasif mengandung senyawa aktif 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 oleh antioksidan endogen dari dalam tubuh. 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 berperan mencegah terjadinya stres oksidatif akibat paparan radikal bebas. Kerja antioksidan yang demikian, dapat dijadikan sebagai agen proteksi dari kerusakan sel atau jaringan. Berbagai studi banyak memanfaatkan ekstrak suatu tanaman untuk mendapatkan antioksidan eksogen, salah satunya adalah ekstrak tanaman cengkeh (Shymala *et al.* 2003).

Penelitian Zin *et al* (2012) menunjukkan bahwa penggunaan minyak cengkeh dapat mengurangi kerusakan paru. Penelitian ini membuktikan bahwa pemberian minyak cengkeh dosis 164 mg/kg BB mencit mampu mencegah perubahan mekanik paru, infiltrasi sel inflamatori, dan kolapsnya alveolus. Berdasarkan uraian di atas maka diperlukan upaya penelitian untuk mengetahui apakah minyak cengkeh dapat memberikan efek proteksi terhadap kerusakan histologis paru-paru akibat paparan asap rokok, sekaligus untuk mengetahui dosis optimal pemberian minyak cengkeh sebagai agen proteksi paru-paru tikus.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *Post Test Randomized Control Group Design* dan rancangan acak lengkap. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang.

Tikus galur Wistar jantan berumur 2 bulan dengan berat badan rata-rata 150-200 g dan dalam kondisi sehat digunakan dalam semua percobaan. Sampel 25 ekor tikus dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing terdiri 5 ekor. Kelompok A0 sebagai kontrol negatif, kelompok A1 sebagai kontrol positif, kelompok A2, A3, dan A4 masing-masing diberi minyak cengkeh dengan dosis 23mg, 33mg, dan 43 mg/200 g BB/hari secara oral.

Kelompok A2, A3, dan A4 diberi minyak cengkeh, 2 jam sebelum dipapar dengan asap rokok dan diberikan selama 33 hari. Semua kelompok kecuali kelompok kontrol negatif, dipapar dengan asap rokok kretek dengan kadar nikotin 1,8 mg dan tar 32 mg. Lamanya paparan 2x15 menit selama 29 hari. Pada hari ke 40, semua tikus dikorbankan untuk diambil paru kanannya. Pengambilan paru kanan dilakukan karena paru kanan memiliki cabang bronchus yang lebih banyak. Paru kanan dibuat preparat histopatologi dengan metode Hematoxilin-eosin (HE). Struktur histologis paru dianalisis secara deskriptif kualitatif dan dibuat skor derajat kerusakan seperti tercantum dalam Tabel 1. Analisis statistik dilakukan dengan uji *Kruskal wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann whitney*.

**Tabel 1.** Skor Derajat Kerusakan Histologis Paru-paru Tikus Akibat Paparan Asap Rokok

Parameter	Skor		
	1 (Rusak ringan)	2 (Rusak sedang)	3 (Rusak berat)
Infiltrasi sel inflamatori	<30%	30-60%	>60%
Edema	<30%	30-60%	>60%
Atelektasis	<30%	30-60%	>60%

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan histologik paru kanan tikus dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 10× dan 40×. Data yang diambil berupa hasil interpretasi pengamatan dengan mengacu pada beberapa parameter pengamatan (multiparameter). Parameter yang digunakan berdasarkan pada *murine models* yang umum digunakan untuk objek penelitian

berupa tikus. Multiparameter yang ditentukan berupa infiltrasi sel inflamatori, edema, dan atelektasis (Klopfleisch 2013). Atelektasis adalah suatu kondisi ketika sebagian (satu lobus) atau keseluruhan paru tidak berfungsi, mengerut karena adanya penyumbatan saluran udara di bronkus atau bronkiolus.

Hasil interpretasi pengamatan histologik paru kanan tikus, secara ringkas tersaji di dalam Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Interpretasi Pengamatan Histologik Paru Kanan Tikus

Kelompok	Hasil Interpretasi
A0 (kontrol negatif; pakan dan minum standar)	Sakus dan duktus alveolaris tampak normal. Dinding antar alveolus (septum interalveolar) tampak jelas membatasi antara alveolus satu dengan lainnya.
A1 (kontrol positif; asap rokok dosis 2 batang/hari)	Jaringan pengisi pada septum interalveolar menebal karena adanya infiltrasi sel inflamatori disertai fibrosis kolagenosa. Alveolus mengalami atelektasis. Edema pada beberapa alveolus.
A2 (minyak cengkeh 23 mg/200 g BB/hari, asap rokok dosis 2 batang/hari)	Sakus dan duktus alveolaris tampak normal. Septum interalveolar tampak jelas membatasi antara alveolus satu dengan lainnya.
A3 (minyak cengkeh 33 mg/200 g BB/hari, asap rokok dosis 2 batang/hari)	Infiltrasi sel inflamatori pada septum interalveolar. Alveolus mengalami atelektasis. Alveolus mengalami edema.
A4 (minyak cengkeh 43 mg/200 g BB/hari, asap rokok dosis 2 batang/hari)	Infiltrasi sel inflamatori pada septum interalveolar. Alveolus mengalami atelektasis. Alveolus mengalami edema.

Hasil interpretasi pengamatan histologik di atas, dikonversikan dalam bentuk skoring berdasarkan kategori yang telah ditentukan pada Tabel 2. Perubahan histologik yang diamati adalah penebalan septum interalveolar

yang dicirikan sebagai fibrosis disertai infiltrasi sel inflamatori, atelektasis atau penyempitan alveolus, dan edema pada alveolus. Data hasil skoring pada semua kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Data hasil skoring pada masing-masing kelompok.

Kel	Rusak Ringan (Skor 1)	Rusak Sedang (Skor 2)	Rusak Berat (Skor 3)	Total
A0	3	2	0	5
A1	0	2	3	5
A2	2	3	0	5
A3	0	1	4	5
A4	0	1	4	5

Dari perhitungan statistik menggunakan uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai  $p=0,004$ . Oleh karena nilai  $p<0,05$  maka dapat dinyatakan bahwa terdapat satu kelompok yang menunjukkan nilai lebih besar daripada kelompok lainnya. Kemudian dilakukan analisis *post hoc* menggunakan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui lebih jelas mengenai kelompok yang menunjukkan nilai-nilai lebih besar. Berikut ini adalah data hasil uji *Mann Whitney* dalam Tabel 4.

**Tabel 4.** Data Hasil Analisis Uji *Mann Whitney*

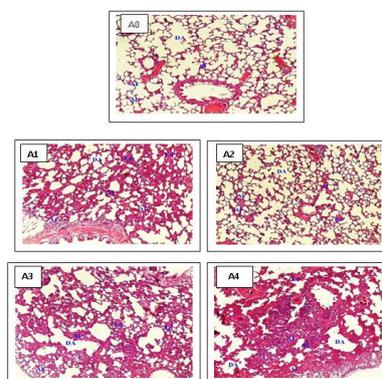
	A0	A1	A2	A3	A4
A0					
A1	0,020*				
A2	0,549	0,031*			
A3	0,011*	0,513	0,014*		
A4	0,011*	0,513	0,014*	1,000	

Keterangan: tanda \* menunjukkan  $p<0,05$  yang menandakan adanya perbedaan bermakna

Berdasarkan hasil analisis uji *Mann Whitney* pada Tabel 4, ditemukan adanya: (1)

Perbedaan yang bermakna pada kelompok A0-A1, A0-A3, A0-A4, A1-A2, A2-A3, dan A2-A4 (2). Perbedaan yang tidak bermakna, ditemukan pada kelompok A0-A2, A1-A3, A1-A4, dan A3-A4.

Berdasarkan data hasil penelitian yang diperoleh dari uji *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*, diketahui bahwa pada kelompok A2 (minyak cengkeh dosis 23 mg/200 g BB/hari, asap rokok dosis 2 batang/hari) tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok A0 (kontrol negatif). Hasil analisis tersebut memiliki arti bahwa tidak ada perubahan yang bermakna antara kelompok A0 dengan kelompok A2. Hal ini semakin memperkuat dan membuktikan hasil interpretasi pengamatan histologik paru kanan tikus antara kelompok A0 dengan A2 yang tidak berbeda jauh. Dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa minyak cengkeh memiliki pengaruh terhadap paru tikus yang terpapar asap rokok. Gambaran histologis paru kanan tikus tersaji pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Hasil pengamatan histologik paru kanan tikus. Pulasan Hematoksilin dan Eosin (HE). Perbesaran 10 X.

Keterangan:

- Kelompok A0: Alveolus (Al) dan duktus alveolaris (DA) tampak normal, septum interalveolar (SI) berbatas jelas
- Kelompok A1: Fibrosis disertai infiltrasi sel inflamatori pada septum interalveolar (SI) serta atelektasis dan edema (Ed) pada alveolus.
- Kelompok A2: Fibrosis disertai infiltrasi sel inflamatori pada septum interalveolar (SI) serta atelektasis dan edema (Ed) pada alveolus
- Kelompok A3: Fibrosis disertai infiltrasi sel inflamatori pada septum interalveolar (SI) serta atelektasis dan edema (Ed) pada alveolus
- Kelompok A4: Fibrosis disertai infiltrasi sel inflamatori pada septum interalveolar (SI) serta atelektasis dan edema (Ed) pada alveolus.

Hasil interpretasi pengamatan histologik paru kanan tikus pada kelompok kontrol negatif (A0) menunjukkan struktur penyusun jaringan paru normal dan utuh. Sakus dan duktus alveolaris tampak normal. Dinding antar alveolus (septum interalveolar) tampak jelas membatasi antara alveolus satu dengan lainnya.

Berbeda dengan hasil di atas, pada kelompok kontrol positif (A1) yang dipapar asap rokok tanpa diberi minyak cengkeh menunjukkan kerusakan pada sel-sel penyusun jaringan pada paru, terutama pada septum interalveolar dan alveolus. Dilihat secara mikroskopis, septum interalveolar mengalami penebalan dan ukuran alveolus tampak tidak beraturan. Jaringan pengisi (matriks ekstraseluler) pada septum interalveolar tampak menebal karena adanya infiltrasi sel inflamatori disertai fibrosis kolagenosa sehingga batas antar alveolus melebar. Alveolus mengalami atelektasis atau penyempitan ruang udara. Selain itu, pada beberapa alveolus mengalami edema atau terisinya alveolus oleh cairan homogen dan tidak ditemukan sel pada cairan tersebut. Kerusakan terjadi akibat paparan asap rokok yang dilakukan secara berkala selama 2×15 menit/hari dalam kurun waktu 29 hari.

Pada kelompok A2 (minyak cengkeh dosis 23 mg/200 g BB/hari, asap rokok dosis 2 batang/hari) sakus dan duktus alveolaris, serta septum interalveolar, tampak normal, meskipun pada beberapa titik terdapat infiltrasi sel inflamatori dan atelektasis alveolus. Pada kelompok A3 (minyak cengkeh dosis 33 mg/200 g BB/hari, asap rokok dosis 2 batang/hari) dan kelompok A4 (minyak cengkeh dosis 43 mg/200 g BB/hari, asap rokok dosis 2 batang/hari), tampak jelas adanya infiltrasi sel inflamatori pada septum interalveolar sehingga batas antara alveolus menebal, atelektasis dan edema pada alveolus.

Berdasarkan hasil interpretasi pengamatan histologik paru kanan tikus, pada kelompok A0 (kontrol negatif) ditemukan adanya gambaran yang normal terhadap jaringan penyusun paru. Sedangkan

berdasarkan hasil skoring menunjukkan adanya kerusakan ringan dan sedang. Kerusakan tersebut dapat terjadi karena variabel luar yang sulit dikendalikan seperti daya imunitas tikus, patogenesis suatu zat yang dapat merusak struktur histologis paru-paru seperti infeksi NTHI yakni *Haemophilus influenzae* yang *nontypeable*, *Streptococcus pneumoniae* dan *Moraxella catarrhalis* yang dapat menurunkan respon imun pada tikus tanpa paparan asap rokok (Lugade *et al.* 2014)

Perbedaan yang bermakna pada kelompok A0 (kontrol negatif) dengan A1 (asap rokok dosis 2 batang/hari) disebabkan karena pada kelompok A1 mendapat perlakuan paparan asap rokok yang mengandung berbagai senyawa radikal bebas pemicu stress oksidatif sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada struktur penyusun jaringan paru. Proses awal menuju kerusakan paru ditandai dengan aktivitas inflamasi oleh sel-sel inflamatori.

Paparan asap rokok tidak hanya menyebabkan kerusakan seluler dan peradangan tetapi juga berperan sebagai immunosupresan. Asap rokok adalah campuran multikomponen dan toksin dalam bentuk partikel dengan efek immunosupresif (Jaspers 2014). Kondisi immunosupresif dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan PPOK (Penyakit Paru Obstruktif Kronik). PPOK adalah penyakit paru dimana saluran udara menjadi sempit sehingga membatasi aliran udara dan menyebabkan dyspnea. Kondisi ini dipicu oleh paparan partikel atau gas berbahaya pada pernafasan (Lugade *et al.* 2014)

Gambaran histologik paru tikus menampakkan kerusakan berupa infiltrasi sel inflamatori, atelektasis dan edema pada alveolus. Peningkatan infiltrasi sel inflamatori dapat mendominasi terjadinya penebalan septum interalveolar. Profil infiltrasi sel inflamatori berupa akumulasi neutrofil sekunder di jaringan pengisi atau matriks ekstraseluler septum interalveolar. Akumulasi neutrofil pada paru merupakan salah satu ciri

yang dapat ditemukan pada paru penderita PPOK (Profita *et al.* 2010).

Mekanisme oksidan yang terjadi di dalam alveolus, dipicu oleh senyawa radikal yang terkandung di dalam asap rokok Churg *et al.* (2006). Senyawa radikal bebas yang ditimbulkan oleh asap rokok berupa spesies oksigen reaktif (SOR) dan spesies nitrogen reaktif (SNR). SOR dan SNR berperan sebagai stimulus untuk mengaktifasi makrofag alveolar. Makrofag alveolar yang teraktivasi dapat mensekresikan senyawa sitokin seperti TNF- $\alpha$  dan IL-8 (Kuwano *et al.* 2004). TNF- $\alpha$  dan IL-8 sebagai mediator untuk meningkatkan sekresi neutrofil. Dalam berbagai studi disebutkan bahwa neutrofil banyak ditemukan pada paru yang terpapar asap rokok (Profita *et al.* 2010).

Infiltrasi sel inflamatori pada matriks ekstraseluler septum interalveolar menyebabkan penebalan pada septum yang terlihat ketika diamati secara mikroskopik (Gambar 1). Selain disebabkan oleh infiltrasi sel inflamatori, penebalan septum interalveolar juga dikarenakan adanya fibrosis pada matriks ekstraseluler. Fibrosis adalah suatu kejadian dimana matriks ekstraseluler banyak terisi oleh sel fibroblast (Todd *et al.* 2012). Fibrosis diawali dengan rusaknya epitel alveolus terutama pneumosit tipe II yang permukaannya dilapisi oleh surfaktan yang berfungsi untuk menstabilkan tegangan permukaan alveolus. Asap rokok yang mengandung sejumlah senyawa radikal bebas reaktif yang berpotensi untuk merusak pneumosit melalui mekanisme apoptosis. Rusaknya pneumosit tipe II akan berakibat pada tidak stabilnya tegangan permukaan alveolus. Dalam kondisi normal, tegangan permukaan alveolus dalam keadaan stabil atau tegangannya kecil. Sedangkan apabila paru-paru mengalami kerusakan, khususnya pada pneumosit tipe II, maka tegangan permukaan alveolus akan meningkat yang berbanding lurus dengan gaya kolaps alveolus sehingga mengakibatkan atelektasis alveolus (Eroschenko 2010).

Senyawa radikal bebas berupa spesies oksigen reaktif (SOR) dan spesies nitrogen reaktif (SNR) seperti superoksida, hidrogen peroksida, radikal peroksil, nitrit oksida, dan peroksinitrit. Peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>) dapat menginisiasi kerusakan sel. Pada jaringan paru-paru yang terpapar asap rokok, peroksinitrit terbentuk dari reaksi antara nitrit oksida (NO) dengan superoksida yang berasal dari asap rokok. Reaksi yang ditimbulkan antara peroksinitrit dengan mediator inflamatori seperti IL dan iNOS dapat menimbulkan regulasi respon inflamasi. Dalam tingkat yang parah dimana tidak adanya keseimbangan antara antioksidan dengan peroksinitrit, sehingga respon inflamasi terus menerus terjadi dan dapat menyebabkan infiltrasi sel inflamatori, edema dan atelektasis pada jaringan paru (Ricciardolo *et al.* 2004).

Peroksinitrit dapat mengganggu permeabilitas vaskular pulmoner yang akhirnya dapat menyebabkan 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. Aliran darah vaskular bronkial yang tinggi memicu peningkatan permeabilitas kapiler alveolar. Pada tingkat yang parah, paparan asap rokok berkelanjutan dapat mengakibatkan kerusakan sistem vaskular pulmoner dimana tekanan hidrostatis kapiler alveolar lebih besar dibandingkan saluran limfe disekitarnya. Hal yang demikian menyebabkan cairan plasma yang keluar dari kapiler tidak dapat dialihkan menuju saluran limfe, akibatnya cairan tereksudat ke dalam matriks ekstraseluler. Kondisi semakin diperparah apabila alveolus mengalami kolaps (atelektasis) sehingga cairan semakin menyebar di area alveolus.

Pada kelompok A2 (minyak cengkeh dosis 23 mg/200g BB/hari, asap rokok dosis 2 batang/hari), hasil interpretasi pengamatan histologik menunjukkan bahwa adanya kerusakan ringan dan sedang. Secara statistika,

menunjukkan bahwa adanya perbedaan tidak bermakna antara kelompok A0 dengan kelompok A2. Berdasarkan hasil yang demikian, maka dapat dikatakan bahwa pemberian minyak cengkeh dengan dosis 23 mg/200 g BB/hari dalam kurun waktu 33 hari telah mampu memberikan efek proteksi terhadap kerusakan histologis paru tikus akibat paparan asap rokok (Zuo *et al.* 2014).

Efek proteksi minyak cengkeh disebabkan kandungan eugenolnya yang tinggi. Eugenol merupakan komponen bioaktif dalam cengkeh yang ditemukan dalam konsentrasi 14650.00 mg per 100 g berat basah (Rojas *et al.* 2014). Dalam keadaan ekstrak minyak cengkeh, eugenol dapat ditemukan dalam konsentrasi sebesar 48,82-95,2% tergantung dari jenis cengkeh dan bagian tanaman yang diekstraksi. Minyak cengkeh yang diekstraksi dari daun cengkeh memiliki kandungan eugenol sebesar 76,8%. Sementara jika diekstraksi dari bunga cengkeh, kandungan eugenolnya sebesar 48,82-58,2% (Wenqian *et al.* 2007).

Berdasarkan studi farmakokinetika, eugenol yang terkandung dalam minyak cengkeh mudah diserap ketika masuk ke dalam tubuh melalui jalur peroral. Eugenol yang diserap dapat tersalurkan melalui aliran darah dan lamanya waktu paruh berkisar antara 14 hingga 18 jam (Rojas *et al.* 2014). Pada tikus, eugenol dapat ditemukan bersama plasma darah setelah 2 jam pemberian secara peroral (Zin *et al.* 2012).

Minyak cengkeh yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kandungan eugenol sebesar 75% yang diekstrak dari daun cengkeh. Dasar penggunaan dosis minyak cengkeh adalah berdasarkan berbagai penelitian yang memanfaatkan minyak cengkeh sebagai antioksidan, salah satunya berdasarkan penelitian Zin *et al.* (2012). Zin *et al.* (2012) menyatakan bahwa eugenol dalam minyak cengkeh dengan dosis 164 mg/kg BB mencit, mampu mencegah perubahan mekanik paru, inflamasi pulmoner, dan kolapsnya alveolus. Berdasarkan hasil penelitian, dari ketiga kelompok perlakuan yang diberi minyak

cengkeh yakni A2 (minyak cengkeh 23 mg/200g BB/hari, asap rokok dosis 2 batang/hari), A3 (minyak cengkeh 33 mg/200g BB/hari, asap rokok dosis 2 batang/hari), dan A4 (minyak cengkeh 43 mg/200g BB/hari, asap rokok dosis 2 batang/hari) menunjukkan bahwa hanya kelompok A2 dengan dosis pemberian minyak cengkeh 23 mg/200g BB yang memiliki pengaruh proteksi terhadap kerusakan histologis paru tikus akibat paparan asap rokok. Hal ini bisa saja terjadi jika pemberian minyak cengkeh dosis 23 mg/200g BB merupakan dosis optimal bagi tikus. Akan tetapi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis optimal dan dosis letal minyak cengkeh pada tikus.

## SIMPULAN

Berdasarkan pembahasan di atas, dapat disimpulkan bahwa pemaparan asap rokok sebanyak 2 batang rokok/hari selama 29 hari berturut-turut pada tikus dapat menyebabkan kerusakan histologis berupa infiltrasi sel inflamatori, edema dan atelektasis. Pemberian minyak cengkeh dengan dosis 23 mg/200 g BB selama 33 hari berturut-turut dapat menjadi agen proteksi yakni mencegah dari kerusakan histologis paru tikus yang disebabkan oleh paparan asap rokok.

## DAFTAR PUSTAKA

- Behr J & Nowak D. 2002. Tobacco smoke and respiratory disease. *Eur Respir Mon.* 21:161-179.
- Churg A, Tai H, Coulthard T, Wang R, Wright JL. 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.
- Eroschenko V P. 2010. *Atlas Histologi Difiore Dengan Korelasi Fungsional*. Translated by Brahm, U. Pendit. 2010. Jakarta: Penerbit EGC.
- Jaspers I. 2014. Cigarette Smoke Effects on innate Immunity Mechanisms in the Nasal Mucosa. *Ann Am Thorac Soc.* 11 Suppl 1:S38-S42.
- Klopfleisch R. 2013. Multiparametric and Semiquantitative Scoring Systems for the

- Evaluation of Mouse Model Histopathology. *BMC Vet Res.* 9(123): 1-15.
- Kong X, Liu X, Li J, & Yang Y. 2014. Advances in pharmacological research of eugenol. *J Curr Opin Complement Alternat Med.* 1: 8-11. S RP,
- Kuwano K, Hagimoto N, & Nakanishi Y. 2004. The Role of Apoptosis in Pulmonary Fibrosis. *J Histol Histopathol*, 19:867-881.
- Lee J, Koo N, & Min DB. 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Compre Rev Food Sci Food Saf.* 3: 21-33.
- Lugade AA, Bogner PN, Thacher TH, Sime PJ, Phipp RP, Thanavala Y. 2014. Cigarette Smoke Exposure Exacerbates Lung Inflammation and Compromises Immunity to Bacterial Infection. *J Immunol.* 192:5226-5235.
- MacNee W. 2005. Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *J Proc Am Thorac Soc*, 2: 258-266.
- Murakami K, & Daniel LT. 2003. Pathophysiological Basis of Smoke Inhalation Injury. *News Physiol Sci.* 18:125-129.
- Profita M, Sala A, Bonanno A, Riccobono L, Ferraro M, La Grutta S, Albano GD, Montalbano AM, Gjomarkaj M. 2010. Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Neutrophile Infiltration: role of cigarette smoke and cyclooxygenase products. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 298:261-269.
- Ricciardolo FLM, Peter JS, Benjamin G, Gert F. 2004. Nitric Oxide in Health and Disease of the Respiratory System. *Physiol Rev.* 8:731-765.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan, penyelamat sel-sel tubuh manusia. *Biotrends.* 4(1):5-6
- Rojas DFC, Claudia RFS, Wanderley PO. 2014. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pac J Trop Biomed.* 4(2):90-96.
- Rorong JA. 2008. Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Cengkeh (*Eugenia carryohylus*) dengan Metode DPPH. *Chem Prog*, 1(2): 111-116
- Shymala MP, Venukumar MR, Latha MS. 2003. Antioxidant Potential of the *Syzygium aromaticum* in Rats Fed with High Fat Diet. *Indian J Pharmacol.* 35:99-103.
- Siagian VJ. 2014. *Outlook Komoditi Cengkeh*. Jakarta: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian.
- Suryanto E & Wehantouw F. 2009. Aktivitas penangkapan radikal bebas dari ekstrak fenolik daun sukun (*Artocarpus altilis* F). *Chem Prog* 2(1):1-7
- Todd NW, Irina GL, Sergei PA. 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.
- Wenqian G, Shufen L, Ruixiang Y, Shaokun T, Can Q. 2007. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and three other traditional extraction methods. *Food Chem* 101: 1558-1564.
- Zin WA, Silva AGLS, Magalhaes CB, Carvalho GMC, Riva DR, Lima CC, Leal-Cardoso JH, Takiya CM, Valenca SS, Saldiva PNH, Faffel DS. 2012. Eugenol Attenuates Pulmonary Damage Induced by Diesel Exhaust Particles. *J Appl Physiol.* 112:911-917.
- Zuo L, Feng H, Georgianna GS, Majid SK, Julia NS, Yi R, Philip TD, & Thomas MB. 2014. Interrelated Role of Cigarette Smoking, Oxidative Stress, and Immune Response in COPD and Corresponding Treatment. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 307: L205-L2018.