

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

2.1.1 Deskripsi Buah Mengkudu

Mengkudu merupakan tanaman tropis yang telah digunakan sebagai makanan dan pengobatan herbal. Mengkudu mulai dikenal secara luas sejak bangsa Polynesia bermigrasi ke Asia Tenggara 2000 tahun yang lalu. Sejak dulu buah mengkudu banyak digunakan untuk pengobatan herbal. Mengkudu diketahui memiliki banyak manfaat untuk kesehatan manusia (Sari, 2015). Pohon mengkudu memiliki tinggi kisaran 4-8 m, batang berkayu bulat kulit kasar, penampang batang muda segi empat, coklat kekuningan. Daun tunggal bulat telur, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, panjang 10-40 cm, lebar 5- 17 cm, tangkai pendek berwarna hijau. Bunga majemuk berbentuk bonggol, bertangkai di ketiak daun. Buah bonggol, permukaan tidak teratur, berdaging panjang 5-10 cm, hijau kekuningan. Biji keras, segitiga, coklat kemerahan. Simplisia berupa irisan buah, warna coklat, bau khas, rasa sedikit pahit, dengan ketebalan \pm 1 cm, diameter 3-5 cm, dengan tonjolan-tonjolan biji (Kemenkes RI, 2016).

2.1.2 Klasifikasi Buah Mengkudu

Klasifikasi dari tanaman mengkudu menurut Conquist (1981) adalah sebagai berikut: Kingdom : *Plantae*, Devisi : *Magnoliophyta*, Subdevisi : *Angiospermae*, Kelas : *Magnoliopsida*, Subkelas : *Asteriidae*, Ordo : *Rubiales*, Family : *Rubiaceae*, Genus : *Morinda*, Spesies : *Morinda citrifolia*



Gambar 2. 1 Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

(Alviventiasari *et al.*, 2012)

2.1.3 Khasiat Buah Mengkudu

Mengkudu merupakan tanaman yang banyak manfaat untuk segala Kesehatan, diketahui buah mengkudu mengandung banyak antioksidan yaitu vitamin C, xeronin, dan proxeronin yang dapat berfungsi menangkal radikal bebas yang disebabkan oleh asap rokok. Mengonsumsi buah mengkudu dapat meningkatkan kadar antioksidan tubuh sehingga dapat melindungi tubuh dari keadaan stress oksidatif dan akibat yang ditimbulkannya (Larassuci *et al.*, 2013). Jumlah antioksidan terbanyak pada makanan bersumber dari buah dan sayur, salahsatunya adalah mengkudu (Oguntibeju *et al.*, 2010). Kandungan antioksidan ini berfungsi untuk menangkal dan menetralsir radikal bebas yang disebabkan oleh asap rokok (Char, 2005).

2.2 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang didapat dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Illing *et al.*, 2017). Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dari pemisahan senyawa aktif dari jaringan tanaman obat dengan menggunakan pelarut terpilih melalui prosedur standard (Handa *et al.*, 2008). Metode ekstraksi yang sering digunakan untuk menarik kandungan kimia yang terkandung dalam tanaman adalah dengan cara dingin, yaitu maserasi dan perkolasi.

Proses ekstraksi dengan Teknik maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruang. Pengerjaan metode maserasi yang lama dan keadaan diam selama maserasi kemungkinan banyak senyawa yang akan terekstraksi (Susanty dan Bachdim, 2016). Perkolasi adalah penyarian dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Alat yang digunakan untuk mengekstraksi disebut perkolator, dengan ekstrak yang telah dikumpulkan disebut perkolat (Juniyanti dkk., 2021).

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, yaitu perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Meigaria *et al.*, 2016).

2.3 Rokok

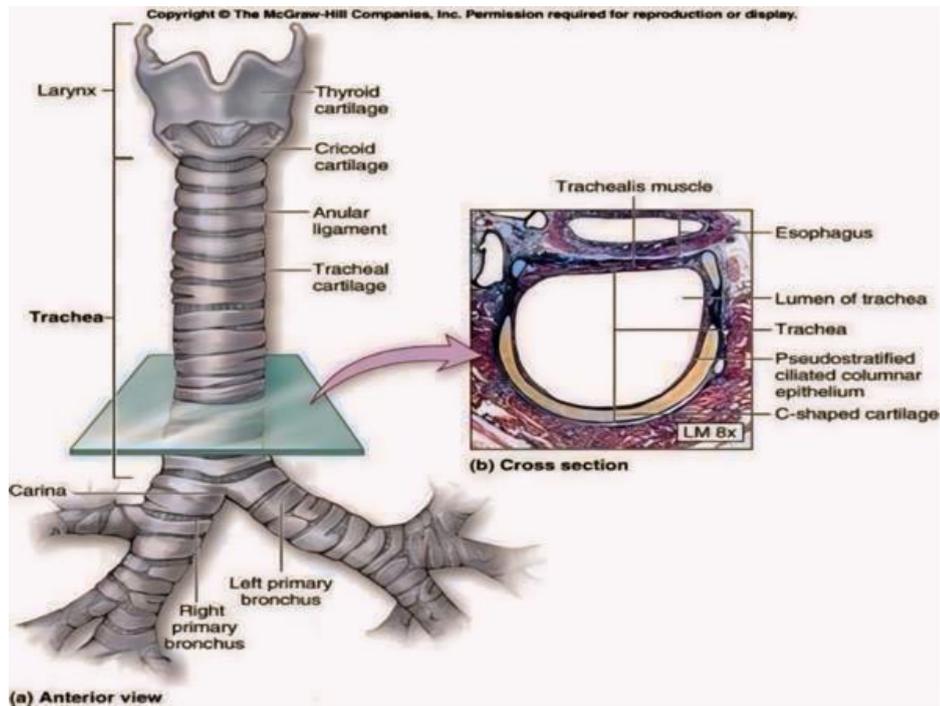
Rokok merupakan barang berbahaya dan bersifat adiktif yang dapat menjadi salah satu penyebab kematian utama di dunia. Komposisi yang terdapat dalam rokok mengandung zat kimia, seperti tar, nikotin, arsen, karbonmonoksida, serta nitrosamin yang dapat mengancam kesehatan si perokok aktif. Tidak hanya si perokok aktif saja, perokok pasif juga akan terkena dampak negatif dari asap hasil rokok. Banyak sekali jenis penyakit yang akan menyerang akibat merokok, antara lain, menyebabkan berbagai penyakit seperti gangguan kehamilan dan janin, kurang gizi, infeksi saluran pernapasan, asma, kanker paru- paru, penyakit jantung, stroke, impotensi, kanker mulut, kanker tenggorokan, penyakit pembuluh darah otak, hipertensi, dan bronchitis (WHO, 2015) . Asap rokok juga mengandung 10 molekul radikal bebas yang bersifat reaktif dan destruktif dalam setiap hisapnya. Asap rokok memiliki 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 (Marwan et al., 2005).

Setiap satu batang rokok dibakar, akan mengeluarkan sekitar 4000 macam bahan kimia. Asap rokok dapat dibedakan menjadi dua yaitu asap utama (*mainstream smoke*) atau asap yang dihisap oleh si perokok dan asap samping (*sidestream smoke*) yang merupakan asap yang terus menerus keluar dari ujung rokok. Asap samping sangat besar pengaruhnya bagi kesehatan perokok pasif, yaitu orang yang berada di lingkungan yang tercemar asap rokok, karena

jumlahnya cukup banyak dan kadar bahan berbahaya yang dikandungnya lebih tinggi dari pada asap utama. Kandungan asap rokok yang berukuran antara 2,5-10 μ m biasanya melekat pada mukosa trakea akan merusak epitel dan fungsi silia. Kerusakan-kerusakan ini akan mengakibatkan terjadinya proses inflamasi akibat pajanan radikal bebas yang banyak terkandung dalam asap pembakaran dan terjadi peningkatan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) (Tantri, 2021).

2.4 Trakea

Trakea merupakan organ saluran pernapasan bagian atas yang letaknya di bawah laring. Trakea dimulai dari setinggi *vertebrae cervicalis* VI dan 8 berakhir hingga angulus sterni setinggi *vertebrae thoracicae* V-VI. Setelah itu trakea akan bercabang menjadi dua bagian yaitu bronchus principalis dextra dan bronchus principalis sinistra. Bagian yang berada di sekitar trakea terdapat arteri carotis communis dan lobus-lobus *glandulae thyroideae*. Dibagian inferior dari isthmus *glandula throidea* terdapat *arcus venosus jugularis* dan vena *thyroidea inferior*. *Truncus brachiocephalicus* berhubungan dengan sisi kanan trakea di laring. Trakea terdiri dari cincin kartilago yang berbentuk C dan jumlahnya sekitar 15 buah (Moore and Anne, 2013). Ujung yang terbuka dari cincin kartilago pada trakea terdapat pada bagian posterior trakea yang berbatasan langsung dengan esofagus dan dihubungkan oleh otot polos yaitu *Musculus trachealis* (Snell, 2012).



Gambar 2. 2 Anatomi Trakea (Snell, 2012)

Pada bagian dua pertiga bagian atas trakea mendapat darah dari *arteria thyroidea inferior*, dan sepertiga bagian bawah mendapat darah dari *arteriae bronchiales*. Persarafan trakea berasal dari *nervus vagus* dan *nervus laryngeus recurens*. Aliran limfe mengalir ke dalam *nodi lymphatici pretracheales* dan *paratracheales* dan ke dalam *nodi lymphoidei cervicales profundi* (Snell, 2012).

2.4.1 Fungsi Trakea

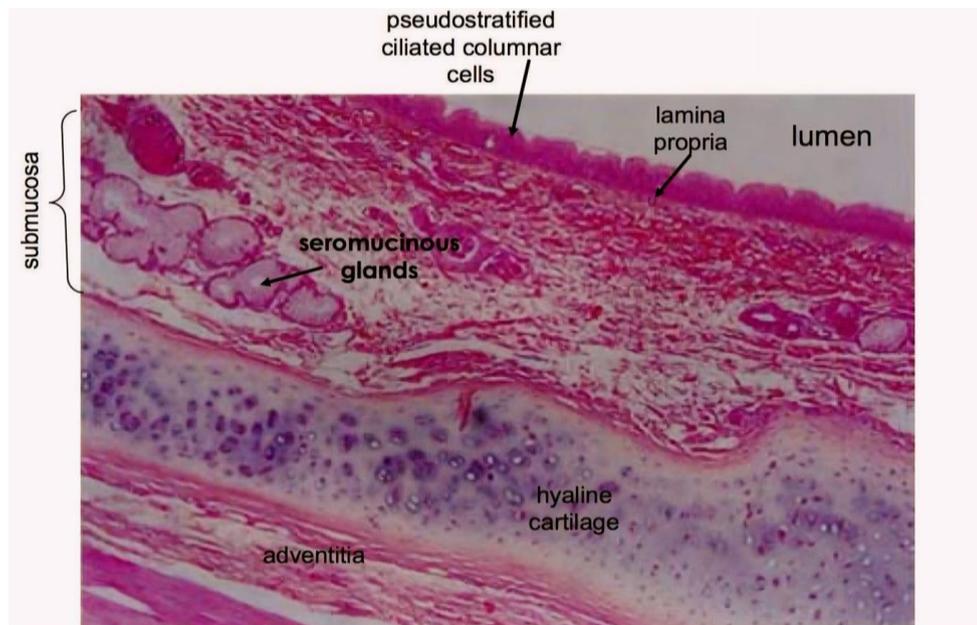
Trakea berfungsi sebagai tempat perlintasan udara setelah melewati saluran pernafasan bagian atas yang membawa udara bersih, hangat dan lembab (Marieb and Hoehn, 2007). Trakea dilapisi oleh lapisan mukosa yang terdiri dari epitel bertingkat silindris bersilia. Epitel bertingkat silindris bersilia terletak di bawah jaringan ikat dan kelenjar seromukosa pada lamina propria (Mescher, 2012).

2.4.2 Histologi Trakea

Trakea adalah saluran dengan panjang 12–14 cm dan dilapisi mukosa respiratorik yaitu epitel bertingkat silindris bersilia. Epitel respiratorik khas terletak dibawah jaringan ikat dan kelenjar seromukosa pada lamina propia yang menghasilkan mukus encer. Epitel ini sedikitnya memiliki lima jenis sel, yang seluruhnya menyentuh membran basal yang tebal:

1. Sel silindris bersilia adalah sel yang terbanyak. Setiap sel memiliki lebih kurang 300 silia pada permukaan apikalnya.
2. Sel goblet mukosa juga banyak dijumpai di sejumlah area epitel respiratorik, yang terisi dibagian apikalnya dengan glandula glikoprotein musin.
3. Sel sikat adalah tipe sel silindris yang lebih jarang tersebar dan lebih sulit ditemukan dengan permukaan apikal kecil yang memiliki banyak mikrovili pendek dan tumpul.
4. Sel granul kecil yang sulit ditemukan pada sediaan rutin, tetapi memiliki banyak granul padat berdiameter 100–300nm.
5. Sel basal, yaitu sel bulat kecil pada membran basal tetapi tidak meluas sampai permukaan lumen epitel (Mescher, 2012).

Lapisan submukosa memiliki 16–20 kartilago hialin berbentuk huruf C yang dilapisi oleh perikondrium berfungsi sebagai penjaga agar lumen trakea tetap terbuka. Cincin-C pada trakea lebih tebal di bagian anterior dari pada sisi posterior dan dipisahkan satu sama lain oleh jaringan ikat fibrosa yang tebal dan kontinyu dengan perikondrium cincin-C. Struktur ini menyebabkan lumen trakea tetap terbuka (Gartner and Hiatt, 2012).



Gambar 2. 3 Gambaran Histologi Trakea Tikus (Mescher, 2012)

2.5 Hemoragi

Hemoragi adalah kondisi yang ditandai dengan keluarnya darah dari dalam pembuluh darah akibat kerusakan endotel. Eritrosit yang keluar dari pembuluh darah dipecah dengan cepat dan difagositosis oleh sel makrofag yang terdapat di sekitar jaringan yang mengalami peradangan (Price and Wilson, 2006). Peradangan di dahului oleh peningkatan vaskularisasi yang mengakibatkan peningkatan jumlah sel dalam pembuluh darah, dan apabila terjadi terus menerus maka pembuluh darah akan pecah sehingga mengakibatkan hemoragi (Milo *et al.*, 2020). Hemoragi (perdarahan) dapat dikenali dengan adanya titik darah dengan spot kecil maupun besar. Hemoragi terdiri dari dua jenis, yaitu hemoragi kecil dan besar. Hemoragi kecil dapat ditandai dengan adanya pendarahan berbentuk titik darah dan tidak lebih besar dari ujung peniti yang disebut ptechia, sedangkan hemoragi dengan spot yang agak besar di permukaan tubuh atau di jaringan disebut ekimosis (Juanda dan Edo, 2018).

2.6 Nekrosis

Nekrosis adalah kematian sel/jaringan yang terjadi akibat proses degenerasi yang ireversibel. Sedangkan proses diantara sel sakit (degenerasi) dengan kematian sel (nekrosis) disebut dengan nekrobiosis. Nekrosis diperkirakan teramati 6-8 jam setelah kematian sel. Proses keputihan dilaporkan lebih awal terjadi dari pada perubahan mikroskopik. Secara makroskopik sel/jaringan yang mengalami nekrosis ditandai keputihan, jaringan melunak dan tampak ada demarkas (pembatas) dengan jaringan yang sehat. Nekrosis juga dibedakan dengan autolysis yaitu adanya sel-sel hidup disekitar jaringan nekrosis. Sehingga tidaklah tepat ada nekrosis yang bersifat difusa, tetapi nekrosis mungkin bersifat fokal (satu fokus) atau multifokal (banyak fokus). Pusat-pusat (fokus) tersebut merupakan upaya jaringan untuk melokalisasi agen infeksi (virus, bakteri dan parasit) atau zat toksik penyebab nekrosis. Biasanya disekitar sel/jaringan yang mengalami nekrosis selalu disertai sel-sel radang, karena sel-sel mati merupakan benda asing bagi tubuh (Brata *et al.*, 2011).

Nekrosis terdiri dari beberapa tahap yang terkait dengan perubahan inti pada bagian tepi. Perubahan ini termasuk piknosis, karioreksis dan kariolisis. Perubahan piknosis, inti sel menyusut dan berbentuk “awan gelap” yang disebabkan oleh adanya kromatin yang terkondensasi. Perubahan karioreksis terjadi akibat penghancuran inti dan meninggalkan potongan terbanyak didalam inti. Sementara itu perubahan kariolisis yaitu inti sel (lisis) menghilang, sehingga sel tampak kosong pada saat dilihat. Penyebab sel mengalami mati dalam beberapa hari adalah toksik yang kuat (misalnya fosfor, jamur toksik dan lain-

lain), metabolisme terganggu (metabolisme protein), infeksi virus yang mengalami perubahan bentuk ringan atau ganas (Muthiadin dkk., 2020). Jenis jaringan dan sifat dari penyebabnya menentukan jenis nekrosis. Dimana nekrosis dikenal dengan beberapa jenis yang berbeda-beda yaitu nekrosis koagulative, kolikuative, kaseosa, gangren, fibrinoid, dan nekrosis lemak (Underwood, 2002).

2.7 Infiltrasi sel radang

Infiltrasi sel radang Merupakan peningkatan permeabilitas pembuluh darah. Infiltrasi sel radang terjadi karena adanya respon normal sehingga proses biokimia internal maupun eksternal yang menghasilkan suatu radikal bebas endogen yang pada akhirnya dapat menimbulkan terjadinya suatu inflamasi yang ditunjukkan dengan adanya leukosit terutama neutrofil pada mikrovaskuler pulmonal pada dinding alveolus (Hidayah *et al.*, 2020). Leukosit merupakan sel darah putih yang diproduksi oleh jaringan hemopoetik untuk jenis bergranula (polimorfonuklear) dan jaringan limpatik untuk jenis tak bergranula (mononuklear), berfungsi dalam sistem pertahanan tubuh terhadap infeksi (Prasthio, dkk., 2022). Leukosit terdiri dari berbagai komponen: sel mononuklear (MN) yang terdiri atas monosit dan limfosit, serta sel polimorfonuklear (PMN) yang terdiri atas eosinofil, basofil dan neutrofil (Arimbi dkk., 2013). PMN yang mengalami kontak dengan material asing akan melepaskan enzim lisosom yang mampu menghancurkan material tersebut dan mencerna jaringan yang sudah nekrosis (Peterson, 2003). Leukosit MN juga mampu memproduksi *reactive oxygen species* (ROS) sebagai pertahanan terhadap mikroorganisme dan dibutuhkan dalam fagositosis debris sel (Werner and Grose, 2003).

2.8 Pembuatan Sediaan Histopatologis

Sampel trakea tikus dari kelompok perlakuan diambil dan difiksasi. Kemudian dibuat preparat histopatologis, dan dilanjutkan dengan pemotongan sediaan menggunakan *mikrotom rotary* dengan ketebalan 5-6 mikron, untuk selanjutnya diwarnai dengan pewarnaan *hematoksilin eosin* (HE) (Kiernen, 2015).

Prosedur pembuatan preparat:

a. *Fixation*

Memfiksasi specimen berupa potongan organ trakea yang telah dipilih segera dengan larutan pengawet formalin 10%, kemudian dicuci dengan air mengalir.

b. *Trimming/sampling*

Membuat irisan potongan trakea dengan ketebalan sebesar 3-5mm, memasukkann potongan organ trakea tersebut kedalam *embedding cassette*, menuntaskan air dengan meletakkan *embedding cassete* pada kertas tisu.

c. *Dehydration*

Berturut-turut melakukan perendaman organ dallam alkohol bertingkat 80% selama 2 jam, 90% selama 2 jam, 95% selama 1 jam, alkoholabsolut I selama 2 jam, alkohol absolut II selama 1 jam.

d. *Clearing*

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan *clearing* dengan *xylol* I, II, III masing-masing selama 30 menit.

e. Impregnasi

Impegnasi dengan menggunakan paraffin I dan II masing-masing selama 1 jam didalam incubator dengan suhu 65,10C.

f. Embedding

Menuangkan paraffin cair dalam pan, memindahkan satu per satu dari *embedding cassette* ke dasar pan, melepaskan paraffin yang berisi potongan organ trakea dari pan dengan memasukkan ke dalam suhu 4-60C beberapa saat, memotong paraffin sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan scalpel/pisau hangat, meletakkan pada blok kayu, ratakan pinggiran dan buat ujungnya sedikit meruncing, memblok paraffin siap dipotong dengan mikrotom.

g. Cutting

Sebelum memotong, mendinginkan blok terlebih dahulu, melakukan pemotongan kasar kemudian dilanjutkan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron. Memilih lembaran potongan yang paling baik, mengapungkan pada air dan menghilangkan kerutannya dengan cara menekan salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi yang lain ditarik menggunakan kuas runcing, memindahkan lembaran jaringan kedalam water bath selama beberapa detik sampai mengembang sempurna, dengan Gerakan menyendok mengambil lembaran jaringan tersebut dengan slide bersih dan menempatkan ditengah atau pada sepertiga atas atau bawah, mencegah jangan sampai ada gelembung udara dibawah jaringan, mengeringkan slide. Jika sudah kering, slide dipanaskan untuk merekatkan jaringan dan sisa paraffin mencair sebelum pewarnaan.

h. Staining (pewarnaan) dengan harris Hematoxylin Eosin

Setelah jaringan melekat sempurna pada slide, memilih slide yang terbaik selanjutnya secara berurutan memasukkan kedalam zat kimia dibawah ini dengan waktu sebagai berikut:

Untuk pewarnaan, zat kimia yang pertama digunakan *xylol* I, II, III masing-masing selama 5 menit. Zat kimia yang kedua aquadest Selama 1 menit, kemudian semua potongan organ dimasukkan dalam zat warna harris

Hematoxylin Eosin selama 20 menit. Kemudian memasukan potongan organ kedalam fosin selama 2 menit, secara berurutan potongan organ dalam alkohol 96% selama 2 menit, alkohol absolut III dan IV masing-masing selama 3 menit. Terakhir, memasukkan dalam *xylol* IV dan V masing- masing 5 menit.

i. Mounting

Setelah pewarnaan selesai menempatkan slide diatas kertas tisu padatempat datar, kemudian ditetesi dengan *mounting* yaitu Kanada balsam dantutup dengan *cover glass* dan cegah *janagan* sampai terbentuk gelembung udara.

j. Membaca slide dengan mikroskop

Slide diperiksa dibawah mikroskop sinar dengan pembesaran 400X.

2.9 Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Hewan laboratorium atau hewan percobaan adalah hewan yang sengaja dipelihara untuk dipakai sebagai hewan model guna mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorik. Tikus telah umum digunakan sebagai hewan laboratorium selama bertahun tahun, hal ini dikarenakan tikus memiliki

karakteristik atau ciri fisiologi yang hampir sama dengan manusia (Dju, 2020). Tikus termasuk hewan mamalia, oleh sebab itu dampaknya terhadap suatu perlakuan mungkin tidak jauh berbeda dibanding mamalia lainnya. Selain itu, penggunaan tikus sebagai hewan percobaan juga didasarkan atas pertimbangan ekonomis dan kemampuan hidup tikus 2-3 tahun. Keunggulan tikus putih sebagai hewan percobaan, karena lebih cepat dewasa, lebih cepat berkembang biak, mudah ditangani, dapat ditinggal sendirian dalam kandang dan berukuran cukup besar, sehingga memudahkan dalam pengamatan (Depkes RI, 2000). Terdapat beberapa galur tikus yang sering digunakan dalam penelitian. Galur-galur tersebut antara lain : *Wistar*, *Sprague-Dawley*, *Long-Evans*, dan *Holdzman*. Tikus galur *Wistar* dengan ciri-ciri kepala lebih besar dan ekor lebih Panjang (Patrick Sharp and Villano, 2012).

Dalam penelitian di laboratorium, tikus sebagai hewan model harus memenuhi syarat-syarat tertentu, antara lain strain yang sama, jenis kelamin tertentu, umur tidak jauh berbeda, termasuk berat badan, mempunyai tubuh sehat yang ditandai dengan mata cerah, aktivitas motoric normal, rambut yang tidak sehat dan harus disesuaikan dengan tujuan penelitian (BPOM, 2014). Keutamaan menggunakan tikus putih sebagai hewan percobaan laboratorium dibandingkan tikus lainnya antara lain tikus putih memiliki waktu tumbuh kembang yang cepat, siklus reproduksi yang singkat dan ukuran tubuh yang besar, serta penanganan tikus dan ekor tikus yang panjang memudahkan dalam menggunakan manset pengukur tekanan darah serta sistem hormonal tikus jantan relatif stabil (Patrick Sharp and Villano, 2012).



Gambar 2. 4 Tikus *Wistar* (Akbar, 2010)

Menurut Krinke (2000) klasifikasi tikus *Wistar* (*Rattus norvegicus*) adalah sebagaiberikut : Kingdom : *Animalia*, Filum : *Chordata*, Subfilum : *Vertebrata*, Kelas : *Mamalia*, Ordo : *Rodentia*, Famili : *Muridae*, Genus : *Rattus*, Spesies : *Rattus norvegicus*, Galur : *Wistar*.