

SAVITRI ANISHA UTOMO

16820070

by Yos Adi Prakoso

Submission date: 06-Aug-2020 08:52AM (UTC+0300)

Submission ID: 1366468050

File name: SAVITRI_ANISHA_UTOMO_16820070.docx (118.3K)

Word count: 5361

Character count: 32895

1
**PENGARUH PEMBERIAN INFUSA TEH HIJAU (*camellia sinensis*)
TERHADAP STRUKTUR HISTOPATOLOGIS
BRONKUS TERPAPAR ASAP ROKOK
KRETEK PADA MENCIT
(*mus musculus*)**

Savitri Anisha Utomo

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis adanya lesi nekrosis terhadap histologi bronkus yang diberikan seduhan teh hijau, serta menganalisis adanya lesi sel radang dan kerusakan berupa penebalan mukosa bronkus terhadap histologi bronkus yang diberi infusa teh hijau yang mana masing-masing mencit telah terpapar oleh asap rokok kretek. Dalam penelitian ini menggunakan mencit dewasa sehat berjenis kelamin jantan dgn berat badan sekitar 2030 gram. Penelitian ini bersifat eksperimental labortorm murni dengan memberikan perlakuan terhadap sampel kemudian diobservasi dan dilakukan pengambilan data. Perlakuan dilakukan tanpa pengulangan dengan P0 (kontrol), P1 (mencit dipapar asap rokok tanpa diberikan infusa teh hijau secara intragastrik) dan P2 (mencit dipapar asap rokok dengan diberikan infusa teh hijau secara peroral). Analisis data dilakukan dengan menggunakan data semi kuantitatif metode skorings¹ dan untuk membedakan perlakuan dengan kontrol dilakukan analisa statistik **Kruskal-Wallis dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Hasil** skorings pemeriksaan histopatologi ginjal pada P0 (sel radang 30%, degenerasi dan nekrosis 0%), P1 (sel radang, degenerasi dan nekrosis 100%), P2 (sel radang dan degenerasi 100%, nekrosis 60%)¹¹ hasil penelitian menggunakan *Kruskal Waliis* didapatkan ($P < 0,05$), sel radang dengan nilai ²⁹g. 0,000, nekrosis dengan nilai sig 0,00 dan penebalan mukosa dengan nilai sig. 0.001 yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan.

Kata Kunci : Infusa, Teh hijau, Bronkus, Asap Rokok, Mencit.

**THE EFFECT OF GREEN TEA INFUSION (*Camellia sinensis*) ON
BRONCHUS HISTOPATHOLOGICAL STRUCTURE
OF SMOKING CIGARETTE ON MICE
(*Mus musculus*)**

Savitri Anisha Utomo

ABSTRACT

The aimed of study to analyz the presence of necrotic lesions of the bronchial histology given brewed green tea, and to analyze lesions of inflammatory cells and tracheal mucosal damage in the form of thickened of the bronchial histology who were given green tea infusion which each mouse was exposed to smoke cigarettes. In this study used healthy adult male rats that weigh around 20-30 grams. This study is an experimental laboratory pure treat a sample, then observed and performed data collection. Treatment was carried out without repetition with P0 (control), P1 (mice exposed to cigarette smoke without intragastric green infusion) and P2 (mice exposed to cigarette smoke by oral infusion of green tea). Data analyzed was performed used a semi-quantitative data scoring method and to determine calculation used the Kruskal-Wallis statistical analysis control was performed followed by the Mann Whitney test. The results of renal histopathology scoring were P0 (inflammation cell 30%, degeneration and necrosis 0%), P1 (inflammation cell, degeneration and necrosis 100%), P2 (inflammation cell and degeneration 100%, necrosis 60%). The results of research used Kruskal Waliis obtained ($P < 0.05$), inflammation cell with Sig. 0,000, necrosis with sig value 0,00 and thickened of mucosa with sig value. 0.001 which means there are significant differences between treatments.

Keywords: *Infusion, Green Tea, Bronchus, CigaretteSmoke, Mice.*

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang sebagian masyarakatnya adalah pengonsumsi rokok dan dalam perjalanan waktu terjadi peningkatan jumlah perokok dan jumlah rokok yang dihasilkan pabrik rokok. Hal ini dikarenakan banyaknya anak-anak muda yang sudah menjadi pengonsumsi rokok, baik yang diketahui keluarga maupun yang sembunyi-sembunyi, sehingga permasalahan yang ditimbulkan akibat rokok menjadi serius. Rokok merupakan sumber penyebab penyakit yang berbahaya bagi tubuh manusia misalnya penyakit jantung, gangguan pernafasan, kanker, bahkan menimbulkan keguguran pada ibu hamil apabila menghirup asap rokok secara terus menerus. (Batubara, Wantouw dan Tendean, 2013).

Asap rokok memiliki kandungan beberapa zat yang membahayakan tubuh diantaranya terkandung zat nikotin dan karbonmonoksida. Nikotin merupakan zat adiktif yang dapat menyebabkan kerusakan pada tubuh. Dalam satu batang rokok mengandung lebih kurang 1 miligram nikotin. Ketika asap rokok dihisap, maka nikotin akan berpindah menuju ke alveoli, kemudian nikotin akan larut ke dalam darah dan merangsang dihasilkannya hormon endorfin kemudian dibawa oleh aliran darah menuju ke otak, sehingga dapat memberikan rasa tenang dan mengurangi rasa sakit, disamping itu juga dapat memberikan efek percaya diri.

Sementara itu karbonmonoksida merupakan zat yang disebut dengan *silent killer*, yaitu dapat membunuh secara pelan, jika manusia terpapar secara terus menerus dalam konsentrasi yang tinggi, hingga menimbulkan penyakit

dankematian. Karbonmonoksida memiliki sifat tidak berbau dan tidak memiliki rasa namun dapat berakibat fatal bagi tubuh. Didalam alveoli, karbonmonoksida bersama dengan oksigen akan mengalir menuju peredaran darah. Didalam peredaran darah terdapat haemoglobin (Hb) yang memiliki peran sebagai pengikat oksigen dan membawa oksigen keseluruh tubuh, bila karbonmonoksida mengikat oksigen dan terbawa ke peredaran darah, maka akan menyebabkan sel tubuh kekuarangan oksigen dan akan melakukan ¹⁵ kompensasi pembuluh darah dengan jalan menciut atau spasme. Bila proses spasme berlangsung lama maka pembuluh darah akan rusak dengan terjadinya aterosklerosis (penyempitan) sehingga terjadi gangguan pada fungsi organ misalnya gagal jantung, gagal ginjal dan sebagainya. (Dewanti,2018).

Teh hijau (*Camelia sinensis*) berasal dari Cina yang merupakan salah jenis tumbuhan herbal, dihasilkan dari proses khusus yang memiliki berbeda dari proses pembuatan teh hitam yang diperoleh secara fermentasi. Pembuatannya dilakukan dengan cara dikukus, sehingga senyawa penting didalam daun teh tidak akan ikut hilang. Senyawa ini adalah epigalloctechin (EGCG) yang memiliki fungsi sebagai antioksidan yang dapat memberi banyak kegunaan bagi kesehatan tubuh manusia. Satu cangkir teh mengandung EGCG kira-kira sebanyak 100-200 miligram. Kandungan yang dimiliki teh hijau dapat bermanfaat bagi tubuh manusia diantaranya adalah katekin. Teh hijau kaya akan antioksidan yang dapat membantu dalam memulihkan ketidakseimbangan oksidan dari paparan asap rokok dan dapat meminimalkan resiko kerusakan yang disebabkan racun dari asap rokok. Kandungan teh hijau yang paling kuat antioksidannya adalah kandungan dari

katekin. Katekin merupakan satu keturunan dari polifenol yang bersifat antioksidan. Senyawa katekin merupakan senyawa paling penting yang menyehatkan tubuh yang dapat menetralsir radikal bebas dan 100 kali lebih ampuh dibandingkan vitamin C dan vitamin E. selain itu katekin dapat menentukan warna, rasa, dan aroma dari produk teh. (Zowail, dkk.2009).

Berdasarkan dari potensi dan mekanisme yang terdapat pada kandungan teh hijau, penelitian ini dilakukan dengan harapan pemberian seduhan teh hijau setelah paparan asap rokok dapat memperbaiki kondisi bronkus pada mencit.

1.2 Rumsan masalah

⁹ Dari latar belakang yang telah diuraikan diatas, masalah yang menjadi fokus pada penelitian ini adalah bagaimana ¹ pengaruh pemberian seduhan teh hijau (*Camelia sinensis*) terhadap struktur histologis bronkus pada mencit yang telah terpapar asap rokok?

²¹ 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk :

1. Menganalisis adanya lesi nekrosis terhadap histologi bronkus yang telah terpapar asap rokok kretek dan pemberian seduhan teh hijau (*Camellia sinensis*).
2. Menganalisis adanya lesi sel radang terhadap histologi bronkus yang telah terpapar asap rokok kretek dan pemberian infusa teh hijau (*Camellia sinensis*).

3. Menganalisis adanya kerusakan berupa penebalan mukosa trakea terhadap histologi bronkus yang telah terpapar asap rokok kretek dan pemberian insusa teh hijau (*Camellia sinensis*).

1.4 Hipotesis

H0 : Tidak ada pengaruh pemberian seduhan the hijau (*Camelia sinensis*) pada struktur histologis bronkus mencit (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok (*Camelia sinensis*).

H1 : Ada pengaruh pemberian seduhan the hijau pada struktur histologis bronkus mencit (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok setelah diberi infusa teh hijau (*Camelia sinensis*).

1.5 Manfaat Hasil Penelitian

1. Bagi masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan, dapat memberikan informasi bahwa merokok berbahaya untuk kesehatan dan lingkungan sekitar dan teh hijau yang memiliki manfaat sebagai antioksidan yang dapat dikonsumsi sehari-hari.

2. Bagi ilmu pengetahuan

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dari efek penggunaan teh hijau (*camellia sinensis*) terhadap gambaran histopatologi mencit yang sebelumnya telah terpapar asap rokok.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bronkus

Bronkus adalah saluran nafas yang terbentuk dari dua buah belahan trakea yang memiliki ketinggian kira-kira vertebrata toracalis kelima serta mempunyai struktur serupa dan pelapis dengan jenis sel yang sama dengan trakea. Bronkus berjalan ke arah bawah dan samping menuju paru-paru dan memiliki dua cabang yaitu bronkus kanan dan bronkus kiri. Ciri dari bronkus kanan yaitu memiliki diameter lumen lebih lebar, ukuran lebih pendek dengan posisi lebih vertikal. Terdapat lebih tinggi dari arteri pulmonalis dengan sebuah cabang utama yang melintas di bawah arteri yang disebut bronkus kanan lobus bawah. Pada bronkus kiri memiliki ukuran yang lebih panjang, diameter lumen yang lebih sempit dibandingkan bronkus kanan dan melintas di bawah arteri pulmonalis sebelum di belah menjadi beberapa cabang yang berjalan ke lobus atas dan bawah. Cabang utama dari bronkus kanan dan kiri bercabang lagi menjadi bronkus lobaris yang kemudian menjadi lobus segmentalis.

Bronkus lobaris ini akan bercabang terus menjadi bronkus yang lebih kecil dengan ujung cabang yang disebut dengan bronkiolus. Setiap bronkiolus memasuki lobulus paru dan bercabang-cabang menjadi 5-7 bronkiolus terminalis. Saluran udara terkecil yang tidak ada alveoli (kantong udara) disebut dengan bronkiolus terminalis yang memiliki garis tengah kurang lebih 1 mm. Bronkiolus tidak diperkuat oleh cincin tulang rawan, akan tetapi dikelilingi dengan otot polos yang menyebabkan ukurannya dapat berubah. Saluran penghantar udara memiliki fungsi utama sebagai penghantar udara ke tempat pertukaran gas paru-paru. Bronkus dan trakea memiliki susunan struktural mukosa yang mirip, kecuali susunan tulang rawan dan otot polosnya.

Miliki lapisan mukosa yang terdiri dari lapisan sel-sel epitel silindris berpisemua bersilia dengan lamina propria yang tipis (dengan banyak serabut elastin). Teling rawan bronkus memiliki bentuk yang lebih tidak teratur dibandingkan dengan telinga rawan trakea. Pada bagian bronkus yang lebih besar, cincin tulang rawan mengelilingi seluruh lumen. Saat mengcilnya garis tengah bronkus, cincin telinga rawan akan digantikan oleh Impeng-impeng atau pulau-pulau tulang rawan hialin. Di bawah epitel dalam lamina propria, pada bronkus tampak terdapat lapisan otot polos (SM) yang terdiri dari anyaman berkas otot polos yang tersusun menyilang. Berkas otot polos menjadi terlihat lebih jelas di dekat bagian respirasi.

Gambaran 2.1 Histopatologi Bronkus

Setelah terjadi kemtian, otot akan mengalami pengerutan yang menyebabkan penampakan mukosa bronkus terlihat menjadi berlipat-lipat pada keadaan histologi. Lamina propria banyak mengandung serabut elastin serta memiliki banyak kelenjar serosa dan mukosa dengan saluran yang bermuara ke dalam lumen bronkus. Terdapat banyak limfosit yang berada di dalam lamina propria dan di antara sel-sel epitel. Di tempat percabangan bronkus banyak dijumpai kelenjer getah bening.

2.2. Rokok Kretek

Rokok kretek adalah rokok khas Indonesia yang didalamnya terdapat campuran cengkeh, sedangkan rokok putih tidak. Rokok kretek terbagi menjadi rokok kretek filter dan non-filter. Rokok kretek yang mengandung cengkeh memiliki beberapa komposisi yang berbeda dari rokok putih. Rokok kretek memiliki kandungan komposisi tambahan yaitu *eugenol*, *acetyl eugenol*, *β -caryophyllene*, *α humulene*, *caryophyllene epoxide*. Eugenol yang telah diteliti memiliki efek sebagai bahan anestetik yang Rokok kretek dapat menyebabkan pneumonitis aspirasi yang disebabkan berkurangnya reflek faringeal akibat efek anestesi dari eugenol tersebut. digunakan oleh dokter gigi yang dapat menimbulkan efek anestesi pada pengguna rokok kretek. Selain itu eugenol juga memiliki efek lain seperti antikonvulsan, penghambat transmisi neural dan inflammation.

Terdapat 2 type asap yang didapatkan terhadap burn tembakau yaitu, mainstream smoke yang dihisap perokok aktif dan sidestream smoke yang dihisap perokok pasif. Mainstream smoke mengandung 4000 jenis bahan kimia dengan 250 bahan berbahaya untuk tubuh yang terbagi menjadi 2 fase : fase partikel dan fase gas. Fase partikel mengandung nikotin, nitrosamine, N nitrosonorkotin, poliskiklik hidrokarbon, logam berat dan karsinogenik amin. Fase yang dapat menguap atau seperti gas mengandung karbonmonoksida, karbondioksida, benzene, amonia, formaldehid, hidrosianida dan lain-lain. Bahan komposisi rokok yang bersifat genotoksik antara lain:

1).Nikotin (3-[(2S)-1-methylpyrrolidin-2yl] pyridine)

Nikotin adalah parasimpatomimetik alkaloid yang terkandung dalam tembakau. Kandungan nikotinnya berkisar 0.6% - 3.0% dari berat tembakau kering.

Nikotin yg masuk kdalam aliran darah akan segera menembus blood-brain barrier and menembus otak dlam wktu 10 – 20 detik. Wktu paruh nikotin in tubuh ialah 2 hours and derna oleh tubuh oleh enzim cytochrome P450¹³. Ketika someone mrokk, darah yg penh oleh nikotin menstimulasi otak untk menglrkan brbagai hormn seperti asetilkolin, norepinefrin, epinefrin, vasopressin, histamin, arginin, serotonin, dopamin, dan beta-endorphin. Hormon-hormon ini menmbulkan berbagai efek pda tubuh seperti meningkatnya knsentrasi¹⁴, tmbhan daya ingt and kewspadaan oleh krna asetilkolin, menrnkan rasa sakit dan kecemasan. Nmn sprti halnya bahan kimia yang lain, nikotin jga member efek samping yang merugikan bagi tubuh seperti mningkatkan tekanan darah dan denyut jantung, merangsang pertumbuhan abnrmal dri sel endotel pembuluh darah dan menyebabkan kersakan pada mirkovaskuler (Chaterdula, 2011).

2). Karbon Monoksida (CO)

Karbon monoksida can happen kmatian dlm jumlah yng cukup besar di dunia, stiap tahunnya. Karbon monoksida terdapt di udara akibat emisi gas buang kdaraan, pda pabrik and industri dan pda asap rokok. Karbon monoksida terkandung dalm asap rokok baik yg mainstream maupun sidestream. Pda dosis rendah, karbon monoksida dapt mempengaruhi perfrma system saraf psat yg akan mengakibatkan terganggnya pnglihatan, penurunan kemampuan blajar, hingga pnurunan kewaspadaan dan perhtian. Pparan karbon monoksidaakan menyebabkam terbentuknya karboksihemoglobin (COHb) pada tubuh. Selains itu, karbon monoksida juga bereaksi terhadap myoglobin, sitokrom dan metaloenzim seperti sitokrom P450. Karboksihemoglobin (COHb) akan menurunkan kpasitas oksigen dlam mengngkut sel darah merah sehingga

dapat menyebabkan kekurangan oksigen pada jaringan. Hemoglobin yang berikatan dengan oksigen dan karbondioksida Hemoglobin (Dani,dkk.2010).

2.3 Teh Hijau

Salah satu one off many dikonsumsi di seluruh dunia adalah teh. Indonesia merupakan negara yang memiliki konsumsi teh terbesar di Asia. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa konsumsi teh hijau dapat melindungi dari penyakit yang terkait dengan kerusakan radikal bebas akibat dari paparan asap rokok termasuk aterosklerosis, penyakit jantung koroner dan kanker.

Teh hijau adalah minuman yang berasal dari daun *Camellia sinensis* (teh) pucuk muda yang telah mengalami oksidasi dan fermentasi. Teh hijau memiliki aktivitas antioksidan yang menjur dan polifenol (GTPs) yang sangat aktif dalam melindungi kerusakan DNA. Hal ini disebabkan karsinogen dalam mempromosikan apoptosis sel tumor dapat menghambat angiogenesis. Salah satu kandungan dari teh hijau yang dapat mengurangi resiko kanker ini adalah fenol dan katekin. Fenol alam sebagian besar larut dalam air dan juga bisa menjadi bahan yang mudah menguap. Hal ini dapat diklasifikasikan ke dalam banyak kategori termasuk fenol monosiklik sederhana yang mungkin ini termasuk satu atau lebih fungsi hidroksil fenolik atau kelompok asam karboksilat termasuk turunan asam cinnamic (C6-C3) dengan beragam aktivitas biologis. Kelompok kedua senyawa fenolik dapat mengandung lebih banyak molekul kompleks dengan dua cincin seperti coumarins, isocoumarins, stilbens, chalcones dan curcuminoids dengan aktivitas biologis yang berbeda. Curcuminoids dikenal sebagai anti karsinogen yang menjur. Kelompok ketiga senyawa fenolik dapat lebih kompleks seperti flavonoid dan isoflavonoid yang juga disebut bioflavonoid, karena aktivitas

biologisnya. Phnyl propanoid mencakup jumlah bsar katekin, sianida, dan anthocyanin. Dua class slanjutnya bertanggung jawab dlam brbagai warna dan aktivitas biologis buah, bunga, dan sayuran. Sebuah tinjauan komprehensif tersedia pada flavonoid dan polifenol alami utama (Afzal, dkk.2015).

2.4 Nekrosis

Rusaknya sel dan organelnya disebabkan oleh cedera yang terjadi pada sel disebut dengan nekrosis. Terjadinya kerusakan membrane lisosom serta keluarnya enzim kesitoplasma dan penghancuran sel serta isi sel yang keluar, hal ini disebabkan karena kerusakan pada membrane plasma sehingga terjadi inflamatori. Memiliki respon utama yaitu atrofi, hipertrofi, hyperplasia dan metaplasia. Pada kematian sel memiliki apoptosis dan nekrosis.

Tabel 2.1. Perbedaan apoptosis dan nekrosis

Gambar	Apoptosis	Nekosis
Penyebb	Fisilogi dan Pathologi	Patology
Kerlibatan	One celll	Seklompok sel
Proses biokimia	Energy oleh DNA	Hmoestastis
Keutuhn sel membran	Diperbaiki	Lysis
Morflogi	Sel mengkerut dan pecah	gone
Proses peradngan	Tidak ada	Sring
Proses kematin sel	Disrap atau Pagositosis oleh sel tetangganya	Absorbsable Neutrofil PMN dan Makrofag

Secara umum nekrosis dapat disebabkan oleh ischemia, keracunan, infeksi dan trauma. Beberapa jenis yang dimiliki oleh nekrosis yaitu nekrosis koagulatif, nekrosis liquefaktif, nekrosis lemak dan nekrosis fibrinoid (Lutfiani, 2010).

2.5 Penebalan Mukosa Bronkus

Hyperplasia pada mukosa menyebabkan penebalan pada suatu organ, khususnya organ berlumen. Hyperplasia adalah peningkatan ukuran jaringan atau organ akibat dari peningkatan abnormal jumlah sel penyusunnya. Pada saluran pernapasan terdapat selia dengan mukus yang dihasilkan dari sel goblet (Goblet sel) dengan fungsi sebagai sistem pertahanan dikarenakan terpapar oleh asap rokok, maka tubuh akan mengeluarkan cairan/mucus (Pinem, & Adi, Winaya 2016).

Gambar 2.3 Gambaran mikroskopis penebalan mukosa bronkus. (A: mukosa bronkus normal; B: penebalan mukosa bronkus) (Wira, dkk. 2018).

2.6 Infiltrasi Sel Radang

Suatu gangguan dalam sebuah jaringan pada sirkulasi darah serta reaksi seluler dan gangguan oleh faktor eksternal disebut dengan sel radang. Inflamasi terbagi atas dua pola dasar. Radang yang berlangsung relatif singkat dari beberapa menit sampai beberapa hari serta ditandai dengan perubahan vaskular, eksudasi cairan dan protein plasma serta akumulasi neutrofil yang menonjol. Inflamasi akut dapat berkembang menjadi suatu inflamasi kronis jika agen penyebab injuri masih tetap ada. Inflamasi

kronis adalah respon proliferasi dimana terjadi proliferasi fibroblast endotelium vaskuler dan infiltrasi sel mononuklear (limfosit, sel plasma dan makrofag).

Proses peradangan diawali dengan adanya benda asing yang masuk kedalam jaringan tersebut melalui mekanisme sistem imun. Kemudian sistem imun akan bekerja dengan benda asing tersebut baik itu benda asing yang sudah dikenali atau belum dikenali didalam tubuh yang kemudian antibody didalam tubuh akan segera mengaktifkan limfosit T sehingga sistem imun akan berperan dalam proses inflamasi. Pada fase inflamasi masuk kedalam darah, maka neutrophil akan banyak ditemukan dalam ulasan darah karena neutrophil berperan sebagai pertanda awal mula terjadinya inflamasi dalam melawan bakteri yang bekerja secara fagositosis (Farida,2003).

2.7 Mencit

Hewan coba is hewn yng segaja dipelihara untuk digunakan sebagai hewan model yang berkaitan dengan pembelajaran dan pengembangan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorium. Hewan laboratorium yang sering digunakan yaitu mencit (*Mus musculus*), tikus putih (*Rattus norvegicus*), kelinci, dan hamster. Sekitar 40-80% pnggunaan mncit sebgai hewan mdel laboratorium, mencit bnyak digunkan karena siklus hidupnya relatif pendek, jumlah ank per klahiran banyak, variasi sifat-sifatmya tinggi, mdah ditangani, sifat antomis dan fisiologinya terkarakterisasi dengan baik. Pemeriksaan kesehatan dilakukan agar hewn laboratorium yang akan dignakan bebas dari penyakit. Mencit dapat hidup sampai umur 1-3 tahun tetapi terdapat perbedaan usia

dari berbagai galur terutama berdasarkan kepekaan terhadap lingkungan dan penyakit. (Tolistiawaty, dkk.,2014).

2.8 Pewarnaan HE (hematoxylin eosin)

Tujuan ewarnaan pada pembuatan preparat histopatologi adalah untuk memperjelas struktur dari jaringan yang akan diamati. Pewarnaan yang sering digunakan dalam pembuatan preparat salah satunya adalah hematoxylin eosin (HE). HE merupakan kombinasi dri 2 ⁶ pewarnaan histologis : hematoxylin dan eosin. Hematoxylin mewarnai nuclei sel biru smentara eosin mewarnai sel matriks ekstraseluler, sitoplasma merah muda dan mengambil corak rona serta kombinasi warna-warna ini.

Prosedr ⁶ pewarnaan H&E merupakan pewarnaan utama dalam bidang histologi sebagian karena dapat dilakkan dengan cpat, tidak mahl dan menodai jaringan sedemikian rupa sehingga sejumlah besar anatomi mikroskopis terungkap dan dapat digunakan untuk mendiagnosis sebagai kondisi histopatologis.

III. MATERI DAN METODE

⁵ 3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya dan pembuatan²⁰ preparat histopatologi dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian ini dilangsungkan pada bulan Maret 2020.

¹⁹ 3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Peralatan Penelitian

Alat yang akan digunakan pada penelitian ini antara lain *box* untuk perlakuan, alat penyebar asap rokok, tempat pakan dan minum mencit, kandang mencit, serbuk kayu, *disposable syringe* 1cc, tabung penyimpanan preparat, *scalpel*, masker, sarung tangan, *underpad*.

⁹ 3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang akan dipakai pada penelitian ini antara lain rokok kretek merk Sampoerna, seduhan teh hijau (*Camelia sinensis*), eter, formalin 10%, dan pakan tikus,⁹ alkohol 70%, alkohol 96%, alkohol absolut, etanol, xylol, pewarna hematoksilin eosin.

¹¹ 3.2.3 Hewan Percobaan

Hewan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) dewasa sehat¹¹ berjenis kelamin jantan dengan berat badan sekitar 20-30 gram.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium murni dengan memberikan perlakuan terhadap sampel yang kemudian diobservasi dan dilakukan pengambilan data. Penelitian ini dilakukan tanpa pengulangan data dengan P0 sebagai kelompok kontrol, P1 sebagai kelompok perlakuan dimana mencit dipapar asap rokok tanpa diberikan infusa teh hijau secara intragastrik, dan P2 sebagai kelompok dimana mencit dipapar asap rokok dengan diberikan infusa teh hijau secara peroral.

3.3.2 Variabel Penelitian

Penelitian ini terdapat tiga kelompok variabel, antara lain variabel bebas yakni infusa teh hijau (*Camelia sinensis*), variabel terikat : bronkus mencit yang terpapar asap rokok kretek, sedangkan variabel kendali adalah jenis kelamin, kondisi kesehatan mencit

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Hewan Uji Coba

Hewan uji coba berupa mencit (*Mus musculus*) yang memiliki berat badan $\pm 21-30$ gram. Penentuan besar sampel dengan menggunakan jumlah minimum biasa dihitung menggunakan rumus Frederer yaitu $(n-1)(t-1) > 15$, dengan n adalah jumlah hewan yang diperlukan dan t adalah jumlah kelompok perlakuan (Ridwan, 2013) :

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

$$(n - 1)(3-1) \geq 15$$

$$2n-2 \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 8,5$$

Berdasarkan perhitungan di atas, jumlah ulangan tiap perlakuan adalah 9 ekor mencit.

3.4.2 Pembuatan Alat Pengasapan

Alat penyebar asap rokok dibuat dengan menggunakan botol plastik yang bagian atas dan dasar diberi lubang. Bagian atas digunakan untuk menyedot asap dari rokok kretek dan bagian bawah digunakan untuk mengalirkan asap rokok kedalam *box* perlakuan. Bagian bawah alat penyebar asap rokok diberi selang yang terhubung langsung dengan *box* perlakuan.

3.4.3 Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Mencit dipelihara dalam kandang berupa kandang dan tutup kawat, alas tidur jerami yang diganti secara teratur untuk menjaga kebersihan kandang mencit. Pemberian pakan dan minum dilakukan secara 2x sehari. Kemudian dilakukan pembagian kelompok terhadap hewan coba, Langkah pertama mencit dibagi kedalam 3 *box* perlakuan yang sudah terpasang alat penyebar asap rokok. P0 sebanyak 9 ekor mencit, P1 sebanyak 9 ekor mencit dan P2 sebanyak 9 ekor mencit. Pemberian asap rokok dilakukan setiap hari sebanyak sekali dalam sehari pada jam 10.00 selama 10 menit dalam kurun waktu 7 hari pemaparan asap. Pemberian seduhan teh hijau dilakukan secara peroral sebanyak sekali sehari dengan perhitungan dosis Dosis P1: 0,015gr/bb/hari dan Dosis P2: 0,020 gr/bb/hari. dan diberikan selama dua minggu setelah mencit dipapar asap rokok secara rutin.

Pemberian pakan pada mencit diberikan setiap 1x sehari setiap sebelum diberi paparan asap rokok. Langkah kedua pada percobaan ini yaitu pemberian seduhan teh hijau yang diberikan dengan cara menyeduh teh hijau Kelompok P1 sebagai perlakuan diberikan infusa teh hijau dengan dosis 1 (0,015 gr/bb/hari) secara peroral menggunakan spuit, kemudian dilakukan pemaparan asap rokok sebanyak satu batang. Kelompok P2 sebagai perlakuan diberikan infusa teh hijau dengan dosis 2 (0,020 gr/bb/hari) secara peroral menggunakan spuit 1cc, kemudian dilakukan pemaparan asap rokok sebanyak satu batang.

Kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil organ bronkus mencit yang kemudian diawetkan menggunakan formalin agar saat dilakukan pembuatan preparat tidak rusak.

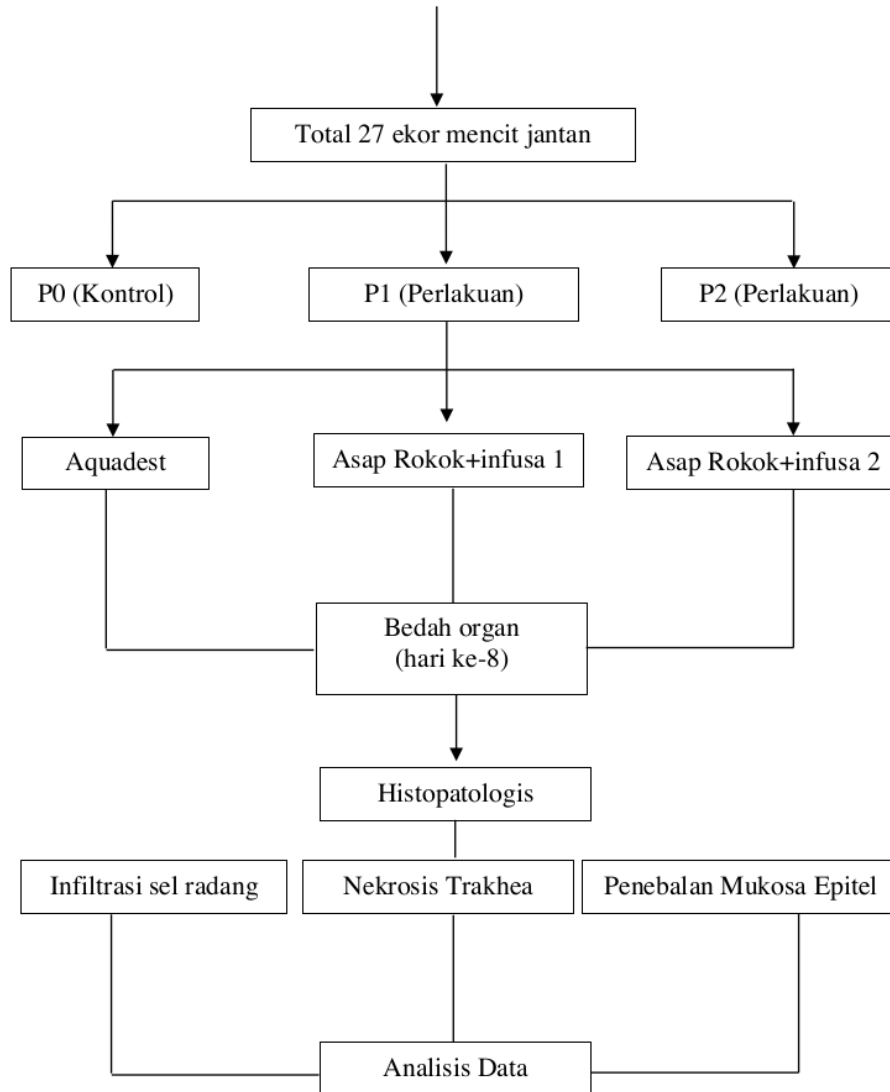
3.5 Pembuatan Preparat Histopatologi

Segera melakukan fiksasi spesimen potongan organ bronkus dengan larutan pengawet formalin 10% dan cuci dibawah air mengalir. Kemudian potong organ menjadi kecil kurang lebih 3 mm. Organ bronkus dimasukkan ke *embedding cassette* dan dilanjutkan dgn organ bronkus dimulai berturut-turut dengan alkohol 80%, 95%, 95%, alkohol absolut I, II, III masing-masing selama satu jam, setelah itu alkohol dibersihkan dgn menggunakan xylol I, II, III masing-masing selama satu jam. Selanjutnya diberi Paraffin I, II, III digunakan masing-masing selama 2 jam dalam inkubator dengan suhu 65,1°C. selanjutny Tuang paraffin dalam *pan*, pindahkan satu per satu *embedding cassette* ke dasar *pan*. Lepaskan paraffin yang berisi bronkus dari *pan* dgn memasukk ke dalam suhu 4-6°C selama beberapa saat. Potong paraffin dengan menggunakan scalpel/ pisau hangat. Letakkan pada balk kayu,

ratakan pinggirnya and make ujungnya sedikit mruncing. Blok paraffin siap dipotong dengan mikrotom. Setelah dicut, pndahkan lembran jaringan ke dalam *water bath* selama beberapa detk sampai mngembang sempurna. Kringkan slide, jika slide sudah kering, pnaskan untuk meratakan jaringan dan sisa paraffin mencair sebelum pewarnaan. Kemudian dilanjutkan dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin. Pertama Pemberian xylol I, II, III selama 5 menit, lalu yang kedua diberi alkohol asbsolut I, II, III selama 5 menit, kedua diberi akuades selama 1 menit. Keempat, potongan organ dimasukkan kedalam zat warna Hematoxylin Eosin selama 20 menit. Kemudian memasukkan potongan orgn trakea dalam akuades selama 1 menit. Keenam, menclupkan organ dalam asam alkohol 2-3 celupan. Ketujuh, dibersihkn dalam aqdest bertingkat masing-masing 1 dan 15 menit. Kedelapan, memsukkan potongan organ dalm eosin selama 2 menit. Ksembilan, secara berurutan memasukkan potongan organ dalam alkohol 96% selama 2 menit, alkohol 96%, alkohol absolut III dan IV masing-masng selama 3 menit. Terakhir, memasukkan kedalam xylol IV dan V masng-masing selama 5 menit. Setelah itu keringkan dan dilanjutkan dengan pembacaan di bawah mirkoskop dengan perbesaran 400x .

3.6 Kerangka Operasional Penelitian

Pemilihan mencit berdasarkan jenis kelamin dan berat badan



3.6.1 Metode Skoring

Perubahan histopatologis berdasarkan derajat kerusakan pada jumlah dari semua jenis lesi yang terjadi, rentang kerusakan tersebut diberi skor 0 hingga 10. (Pinem, dkk. 2016).

a. Infiltrasi sel radang

7

0 (nol) : jika tidak ditemukan sel radang pada seluruh mukosa bronkus

1 (satu) : jika jumlah sel radang < 10 pada seluruh mukosa bronkus

2 (dua) : jika jumlah sel radang antara 11 – 50 pada seluruh mukosa bronkus

3 (tiga) : jika jumlah sel radang antara 51 – 100 pada seluruh mukosa bronkus

4 (empat) : jika jumlah sel radang > 100 pada seluruh mukosa bronkus

7

b. Penebalan mukosa : Dikategorikan dalam 4 (empat) skala

0 (nol) : jika tidak ditemukan penebalan mukosa bronkus

1 (satu) : jika $\frac{1}{4}$ total jaringan teramati penebalan pada mukosa bronkus

2 (dua) : jika $\frac{1}{2}$ total jaringan teramati penebalan pada mukosa bronkus

3 (tiga) : jika $\frac{3}{4}$ total jaringan teramati penebalan pada mukosa bronkus

4 (empat) : jika penebalan terlihat diseluruh mukosa bronkus

7

c. Nekrosis : Dikategorikan dalam 4 (empat) skala

0 (nol) : jika tidak ditemukan nekrosis pada mukosa bronkus

1 (satu) : jika $\frac{1}{4}$ total jaringan teramati nekrosis pada mukosa bronkus

2 (dua) : jika $\frac{1}{2}$ total jaringan teramati nekrosis pada mukosa bronkus

3 (tiga) : jika $\frac{3}{4}$ total jaringan teramati nekrosis pada mukosa bronkus

4 (empat) : jika seluruh total jaringan teramati nekrosis pada mukosa bronkus

3.7 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan data semi kuantitatif metode skoring, untuk membedakan perlakuan dengan kontrol dilakukan ⁵ Analisis nonparametrik menggunakan metode Kruskal-Wallis dan bila terdapat perbedaan bermakna dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

24

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Pemeriksaan histopatologi bronkus

Hasil penelitian setelah dilakukan pengasapan rokok kretek dan pemberian seduhan teh hijau dilakukan skoring pada preparat hasil histopatologi dan jumlah rata-rata dari semua jenis lesi yang terjadi. Seluruh pemeriksaan ini menggunakan mikroskop cahaya, hasil pengamatan yang sudah diolah secara statistik dengan program SPSS berikut ini.

Tabel 4.1 Rerata hasil skoring pemeriksaan histopatologi organ ginjal hewan coba pada kelompok kontrol dan perlakuan.

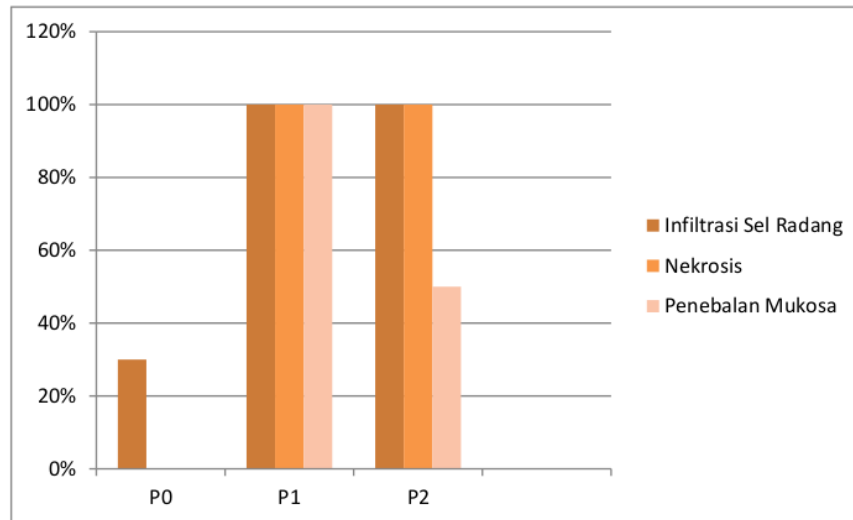
Kelompok	Sel radang	Penebalan Mukosa	Nekrosis
18	2	0	0
P1	9	9	9
P2	9	9	9
P3	9	9	6

Keterangan: rerata hasil skoring dari masing-masing 9 kelompok

Tabel 4.2 Persentase (%) skoring histopatologi dari kelompok control, perlakuan ke-1, perlakuan ke-2

Kelompok	Sel radang	Degenerasi	Nekrosis
P0	30%	0%	0%
P1	100%	100%	100%
P2	100%	100%	100%
P3	100%	100%	60%

Setelah data skoring didapatkan, kemudian dibuat diagram batang dari hasil penelitian untuk tiap kelompok perlakuan sesuai derajat kerusakan untuk mempermudah analisis di setiap perubahan lesi yang terjadi.



Gambar 4.1 Diagram batang persentase (%) hasil skoring pemeriksaan histopatologi ginjal kelompok kontrol, perlakuan ke-1, perlakuan ke-2.

4.1.2 Analisis Uji Statistik Hasil Pengamatan

Adapun hasil *Kruskal Wallis* untuk data pengamatan pada penelitian, sebagai berikut :

Tabel 4.3 *Kruskal Waliis* sel radang

Perlakuan	N	Mean Deviasi	±Standar	Sig.
P0	9	0.83 ± 0.408 ^a		0,000
P1	9	4.00 ± 0.000 ^b		0,000
P2	9	3.67 ± 0.516 ^b		0,000
Total	27	8,5 ± 0,123		

²³ Data yang diperoleh dari penelitian kemudian dianalisis menggunakan Statistik *Program For Social Science* (SPSS) motoda *Kruskal Wallis* dilakukan ³⁰ untuk menentukan perbedaan data pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. ⁸ Apabila nilai signifikansi (Sig.) < 0,05, maka terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Apabila nilai Sig. > 0,05, maka tidak ada perbedaan antar

perlakuan. Berdasarkan pengujian yang dilakukan pada uji *Kruskal Wallis* untuk sel radang nilai Sig. ¹⁷ 0,000, karena ($P < 0,05$) maka terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Kesimpulannya H_0 ditolak dan H_1 diterima. Untuk mengetahui ²⁵ perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan uji Mann – Whitney.

Tabel 4.4 *Kruskal Waliis* Nekrosis

Perlakuan	N	Mean ± Standar Deviasi	Sig.
P0	9	0,0 ± 0,500 ^a	0,000
P1	9	2,1 ± 1,705 ^b	0,000
P2	9	1,3 ± 1,095 ^b	0,000
Total	27	3,4 ± 4,11	

¹⁶ Keterangan : Berdasarkan pengujian yang dilakukan pada uji untuk nekrosis nilai Sig. 0.00 maka ($P < 0,05$) maka terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Kesimpulannya H_0 ditolak H_1 diterima. Untuk mengetahui perbedaan yang lebih signifikan dilanjutkan dengan uji mann withney.

Tabel 4.5 *Kruskal Waliis* Penebalan mukosa

Perlakuan	N	Mean ± Standar Deviasi	Sig.
P0	9	0,0 ± 1,771 ^a	0,000
P1	9	2,3 ± 0,832 ^b	0,000
P2	9	1,3 ± 1,305 ^b	0,000
Total	27	3,6 ± 3,908	

Keterangan : Berdasarkan pengujian yang dilakukan pada uji untuk nekrosis nilai Sig. 0.001 ⁸ maka ($P < 0,05$) maka terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Kesimpulannya H_0 ditolak H_1 diterima. Untuk mengetahui perbedaan yang lebih signifikan dilanjutkan dengan uji mann withney.

4.1.3 Gambaran Histopatologi Bronkus



Gambar 4.2. Hasil histopatologi dari kelompok perlakuan P0 epitel masih rapat dan tidak ada lesi dengan kerusakan.(*Heamatoxylin eosin: 10x*).

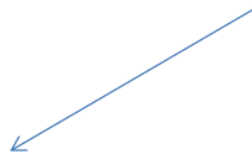


Gambar 4.3. P0 yang terlihat pada anak panah pada bronkus.(*Heamatoxylin eosin: 10x*).



Gambar 4.4. P1 terlihat epitel mukosa bronkus rupture serta penebalan mukosa (*Heamatoxylin eosin: 10x*).

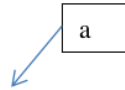
Gambar 4.5. P1 epitel yang tampak ruptur, penebalan epitel serta infiltrasi sel radang. (*Heamatoxylin eosin: 40x*).



Gambar 4.6. P1 terlihat infiltrasi sel radang yang menumpuk serta penebalan mukosa .(*Heamatoxylin eosin: 40x*).



Gambar 4.7. P2 penebalan mukosa sedikit berkurang, nekrosis pada epitel dan infiltrasi sel radang masih terlihat .(*Heamatoxylin eosin: 10x*).



Gambar 4.8. P2 40x penebalan mukosa sedikit berkurang, nekrosis pada epitel dan infiltrasi sel radang masih terlihat. (*Heamatoxylin eosin*: 40x).

P0 : Kelompok kontrol, mencit diberi aquadest 0,1 ml perhari ³ selama 14 hari

P1 : Kelompok perlakuan I, mencit diberi infusa teh hijau sebanyak 0,015 gr/bb/hari (0,015 x 30 gr BB mencit = 4,5 gr/mencit) dan dipapar asap rokok kretek sebanyak ³ 1 batang/hari selama 14 hari

P2 : Kelompok perlakuan II, mencit diberi infusa teh hijau sebanyak 0,020 gr/bb/hari (0,020 x 30 gr BB mencit = 6 gr/mencit) dan dipapar asap rokok kretek sebanyak 1 batang/hari selama 14 hari

Dari hasil penelitian diatas, pemaparan asap rokok pada mencit pada kelompok perlakuan tidak ada lesi dari nekrosis serta penebalan epitel namun hanya 25% kerusakan dan sedikit adanya infiltrasi sel radang, pada kelompok perlakuan P1 hampir semua jaringan pada bronkus mengalami kerusakan akibat ¹² paparan asap rokok dan diberi teh hijau dengan dosis sedang dan mencapai angka kerusakan hingga 100% (0,0015 gr) sedangkan pada kelompok perlakuan P2 terlihat 75%

kerusakan setelah pemaparan asap rokok dan infusa teh hijau dengan menggunakan dosis pekat (0,020 gr) nekrosis epitel sedikit berkurang, penebalan berkurang.

14

4.2 Pembahasan

4.2.1 Infiltrasi sel radang

Dari data hasil penelitian, asap rokok mengakibatkan kerusakan hampir 80% dari organ bronkus pada setiap kelompok perlakuan terdapat infiltrasi sel radang yang ditemukan pada histopatologi bronkus mencit. Hal ini disebabkan karena bronkus menghasilkan mucus secara terus menerus dan mengakibatkan menumpuknya sel neutrophil pada mukosa bronkus hingga terjadi peradangan. infiltrasi sel radang ditandai dengan adanya sel neutrophil yang berwarna ungu dan memiliki inti dan menggerombol di sekitar jaringan bronkus saat dilakukan pengasapan bersamaan dengan pemberian teh hijau, pada kelompok perlakuan P1 dan P2 mengalami peningkatan dan tidak ada perubahan yang signifikan. sementara pada kelompok perlakuan P0 hanya sedikit terdapat infiltrasi sel radang pada jaringan mukosa bronkus.

Proses terjadinya peradangan yaitu diawali dengan adanya benda asing yang masuk kedalam jaringan tersebut melalui mekanisme sistem imun. Kemudian sistem imun akan bekerja dengan benda asing tersebut baik itu benda asing yang sudah dikenali atau belum dikenali didalam tubuh kemudian selanjutnya antibody didalam tubuh akan segera mengaktifkan limfosit T sehingga sistem imun akan berperan dalam proses inflamasi. Dalam fase inflamasi masuk kedalam darah, maka neutrophil akan banyak ditemukan dalam ulasan darah karena neutrophil berperan

sebagai pertanda awal mula terjadinya inflamasi dalam melawan bakteri yang bekerja secara fagositosis.(Handaru,2010).

4.2.2 Penebalan Mukosa

Dari hasil penelitian ini terdapat lesi penebalan pada mukosa bronkus, penebalan mukosa berawal dari infiltrasi sel radang sel goblet akan menghasilkan mucus secara terus menerus kemudian mulai terbentukna infiltrasi sel radang disertai dengan penebalan mukosa,kemudian terdapat adanya peningkatan tebal mukosa yang seiring dengan pengurangan kandungan teh dalam papan partikel. Jika dibandingkan dengan kondisi tebal mukosa pada kontrol dapat dilihat bahwa semua perlakuan P1 dan P2 tebal mukosanya lebih besar daripada kontrol. (Hyunjik,2010)

4.2.3 Nekrosis

Rusaknya sel dan organelnya disebabkan oleh cedera yang terjadi pada sel. Terjadi kerusakan membrane lisosom yang mengeluarkan enzim ke sitoplasma, menghancurkan sel dan isi sel keluar dikarenakan kerusakan pada membrane plasma terjadi inflamatori. Respon utamanya adalah atrofi,hipertrofi,hyperplasia dan metaplasia. Kematian sel memiliki apoptosis dan nekrosis. Dari hasil penelitian ini nekrosis dapat dilihat di kelompok perlakuan P1 dan P2 epitel bronkus mengalami rupture dan bentuknya menjadi tidak beraturan hal ini diakibatkan karena kandungan dari rokok membuat fungsi dari epitel dan mukosa bronkus mengalami kematian sel kerena banyaknya flek yang mengakibatkan mukosa dan epitel bronkus tidak bisa mengembalikan fungsi normal dari organ bronkus. (Ismiyati,2009).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pada Infiltrasi sel radang terjadi kerusakan organ yang disebabkan oleh asap rokok 25 hingga 100% baik pada P0,P1 maupun P2
2. Pada Penebalan Mukosa terdapat 50% kerusakan organ pada kelompok perlakuan P1 dan P2
3. Pada Nekrosis terdapat 50% kerusakan akibat dari pengasapan asap rokok dan pemberian teh hijau pada kelompok perlakuan P1 dan P2

5.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan di atas, agar penelitian ini dapat lebih bermanfaat, maka dapat disarankan bahwa perlu diadakan penelitian lanjutan dengan memberikan perlakuan yang sama, namun dengan metode lain dan diharapkan penelitian ini dapat berguna untuk masyarakat sekitar untuk kesehatan dalam pencegahan radikal bebas.

ORIGINALITY REPORT

27 %

SIMILARITY INDEX

25 %

INTERNET SOURCES

2 %

PUBLICATIONS

10 %

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	digilib.unila.ac.id Internet Source	7 %
2	eprints.undip.ac.id Internet Source	6 %
3	es.scribd.com Internet Source	3 %
4	ejournal.litbang.kemkes.go.id Internet Source	2 %
5	docplayer.info Internet Source	1 %
6	id.wikipedia.org Internet Source	1 %
7	repository.unhas.ac.id Internet Source	1 %
8	www.scribd.com Internet Source	1 %
9	id.123dok.com Internet Source	1 %

10	id.scribd.com Internet Source	1%
11	Submitted to iGroup Student Paper	1%
12	Submitted to Universitas Muhammadiyah Surakarta Student Paper	<1%
13	minionsyellownutri.blogspot.com Internet Source	<1%
14	sariwiryaneyty.blogspot.com Internet Source	<1%
15	rosidahamini.blogspot.com Internet Source	<1%
16	Submitted to Fakultas Ekonomi Universitas Indonesia Student Paper	<1%
17	staffnew.uny.ac.id Internet Source	<1%
18	Submitted to Colorado Technical University Online Student Paper	<1%
19	fr.scribd.com Internet Source	<1%
20	Submitted to Universitas Airlangga Student Paper	<1%

21 mafiadoc.com <1%
Internet Source

22 docobook.com <1%
Internet Source

23 pasca.uns.ac.id <1%
Internet Source

24 ebookuniverse.net <1%
Internet Source

25 garuda.ristekdikti.go.id <1%
Internet Source

26 Alfred Budiono, Benny Wantouw, Lusiana Satiawati. "PENGARUH LYSERGIC ACID DIETHYLAMIDE YANG TERDAPAT PADA LEM EHA-BOND TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA WISTAR JANTAN (Rattus norvegicus)", Jurnal e-Biomedik, 2015 <1%
Publication

27 repository.unair.ac.id <1%
Internet Source

28 Gorgias, N.K.. "Clonidine versus ketamine to prevent tourniquet pain during intravenous regional anesthesia with lidocaine", Regional Anesthesia and Pain Medicine, 200111 <1%
Publication

repository.usu.ac.id

29

Internet Source

<1%

30

Submitted to Universitas Brawijaya

Student Paper

<1%

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off