

EFEK GENISTEIN DALAM EKSTRAK KACANG TUNGGAK (*Vigna unguiculata*) DENGAN METODE MASERASI TERHADAP DIAMETER ALVEOLI PARU TIKUS GALUR WISTAR (*Rattus novergicus*) PADA BERBAGAI LAMA WAKTU PAPARAN ASAP MESIN BERBAHAN BAKAR BENSIN

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh :

Dhany Pristiano Indirwan

NIM : 0910711024

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2013

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

Efek Ekstrak Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan Metode Maserasi terhadap Diameter Pelebaran Alveoli Paru Tikus Galur Wistar (*Rattus novergicus*) pada Berbagai Lama Waktu Paparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin

Oleh :

Dhany Pristiano Indirwan

NIM: 0910711024

Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 25 Februari 2012

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. Imam Sarwono, Sp.PA

NIP. 195211111198002 1 001

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

dr. Soemardini, MPd

Sp.PK (K)

NIK: 110446417

Prof. Dr. dr. Edi Widjajanto, MS,

NIP: 1950 04 27 1980 02 1 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi

Prof.Dr.dr. Teguh Wahyu Sardjono,DTM&H.,M.SC.,Sp.Par.K

NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT dengan segala kemurahan dan limpahan Rahmat-Nya penulis mampu menyelesaikan proposal Tugas Akhir dengan judul “Efek Ekstrak Kacang Tunggak (*Vigna Ungiculata*) terhadap Diameter Pelebaran Alveoli Paru Tikus Galur Winstar (*Ratus Novergicus*) pada Berbagai Lama Waktu Paparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin” dengan baik.

Penulis tertarik dengan topik ini disebabkan jumlah kendaraan bermotor yang berbahan bakar bensin di masa saat ini begitu pesat pertumbuhannya. Banyak masyarakat di dunia ini yang menggunakan kendaraan bermotor sebagai alat transportasi. Dengan pesatnya perkembangan dari jumlah kendaraan bermotor di dunia ini, maka asap gas buang kendaraan bermotor di dunia ini juga meningkat. Akibatnya menimbulkan banyak efek bagi manusia, efek yang begitu tampak adalah berpengaruh pada kualitas kesehatan manusia. Asap kendaraan bermotor mengandung ribuan macam partikulat zat yang efeknya bisa merusak organ dalam manusia terutama paru – paru manusia. Sebab paru – paru adalah organ yang berfungsi dalam sistem respirasi, dimana terjadi pertukaran gas di dalamnya. Apabila kondisi ini dibiarkan terus menerus dengan lama paparan asap yang lama, maka asap kendaraan bermotor itu dapat merusak jaringan alveoli paru dan menyebabkan pelebaran dari diameter ukuran paru – paru. Untuk itu diadakan penelitian ini untuk mengetahui efek ekstrak kacang tunggak dalam menurunkan kadar radikal bebas di dalam tubuh manusia akibat paparan asap mesin berbahan bakar bensin

Dengan ini terselesaikannya proposal Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
2. Prof. Dr. Moch. Aris Widodo, MS, SpFK, PhD sebagai dosen pembimbing pertama yang telah memberi kesempatan saya untuk ikut penelitian bersama beliau mengenai ekstrak kacang tunggak sebagai antioksidan
3. dr. Bambang Sumantri, Mkes sebagai dosen pembimbing kedua yang telah memberikan saran dan kritik untuk mengoreksi penyelesaian tugas akhir
4. dr. Soebarkah Basoeki, Sp.PA sebagai dosen penguji yang telah memberikan waktu dan saran untuk mengoreksi penyelesaian tugas akhir
5. dr. Ketut yang telah memberikan saran dan nasehatnya dalam menyelesaikan tugas akhir
6. Para staff dan analisis Laboratorium Farmakologi UB khususnya mas Memed, mbak Aminah, bu Ferrida yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini, memberi nasihat dan saran dalam pelaksanaan tugas akhir

7. Para staff dan analisis Laboratorium Patologi Anatomi UB khususnya mas Mizan yang telah membantu dalam pembuatan slide histo PA
8. Para staff dan analisis Laboratorium Biosains UB khususnya mas Anton, mbak Wahyu, mbak Vina yang telah membantu dalam proses pengukuran diameter alveolus dan foto preparat histo
9. Seluruh staff tim etik FKUB yang telah membantu dalam proses etik penelitian tugas akhir
10. Seluruh staff dan anggota Tim Tugas Akhir FKUB yang telah membantu dalam penyelesaian tugas akhir.
11. Yang tercinta kepada kedua orang tua Ayahanda Sulkan dan Ibunda Hartatik serta kakak Hinsia Adi Pratama yang telah memberikan kasih sayang serta doa nya sehingga saya dapat menyelesaikan tugas akhir ini
12. Teman – teman kelompok penelitian ekstrak kacang tunggak, Obi, Vidi, Sasa, Adys, Diana, Messa, Khrisna Rangga, Mourent, Irsyad yang telah membantu dalam proses penelitian dan mampu bekerja sama dalam penyelesaian penelitian tugas akhir
13. Anindita Januari yang telah membantu dan mengajari saya dalam menyelesaikan analisa data statistik
14. Okties Hertanti yang telah memberikan dukungan dan pengertiannya dalam penyelesaian tugas akhir
15. Teman – teman PD 2009 semua yang telah memberikan dukungan dalam penyelesaian tugas akhir ini.
16. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari akan kesempurnaan dari proposal ini. Oleh karena itu, penulis akan menampung segala saran dan kritik membangun guna menyempurnakan dari proposal ini. Semoga proposal ini berguna bagi pembaca.

Malang, 25 Februari 2013

Penulis

ABSTRAK

Priyanto Indirwan, Dhany. **Efek Ekstrak Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan Metode Maserasi terhadap Diameter Alveoli Paru Tikus Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) pada Berbagai Lama Waktu Paparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin.** Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Pembimbing: (1) prof.dr.Moch. Aris Widodo, MS,SpFK,PhD (2) dr. Bambang Soemantri, M.Kes

Asap mesin berbahan bakar bensin mengandung senyawa yang dapat menghasilkan efek sistemik beracun terhadap organ paru – paru, seperti nitrogen dioksida (NO₂), Ozon (O₃), fotokimia oksidan, sulfur dioksida (SO₂) dan partikulat tersuspensi (SPM), carbon monoksida (CO) dan bahan dengan efek karsinogenik. Senyawa – senyawa itu mampu menimbulkan kerusakan terhadap jaringan paru sampai kebagian alveolus. Radikal bebas mampu menembus bagian pinggiran paru – paru dengan wilayah centriacinar sebagai situs deposisi utama, dan diserap ke dalam mukosa dan saluran pernafasan. Efek patologis yang ditimbulkan dari pajanan senyawa – senyawa tersebut adalah perubahan eksudatif yang berhubungan dengan degenerasi dan peluruhan pneumosit. Radikal bebas ini juga menyebabkan akumulasi dari makrofag dan neutrophil, menyebabkan kadar neutrophil elastase paru lebih tinggi dari $\alpha 1$ -protease inhibitor. Akibatnya terjadi gangguan integritas epitel pelapis, elastin, dan kolagen yang menyebabkan terjadinya kerusakan dinding alveolus dan terjadi pelebaran diameter alveolus. Untuk menghambat aktifitas dari radikal bebas, diperlukan antioksidan. Salah satu bahan alami yang mengandung antioksidan adalah ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*). Di dalam ekstrak kacang tunggak mengandung genistein yang merupakan isoflavone yang menyerupai struktur kimia dari hormon yang ditemukan pada golongan kacang – kacangan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh genistein dalam menghambat pelebaran diameter alveolus paru tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin. Metode penelitian adalah true experimental dengan tikus sebagai hewan coba yang dibagi menjadi kelompok kontrol normal, kelompok perlakuan asap mesin berbahan bakar bensin 2,3,4 menit tanpa pemberian genistein, kelompok perlakuan asap mesin berbahan bakar bensin 2,3,4 menit dengan pemberian genistein 0,5 ml/kgBB , kelompok kontrol normal dengan pemberian genistein, dan kelompok normal dengan pemberian O₂ murni 10 atm. Hasil penelitian yang dianalisa menggunakan *One Way Anova* menunjukkan peningkatan bermakna ($p < 0,05$) diameter alveoli paru pada semua kelompok perlakuan asap mesin berbahan bakar bensin yang dihambat dengan genistein ekstrak kacang tunggak. Kesimpulan dari penelitian ini genistein mampu menghambat pelebaran diameter alveolus paru tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin.

Kata kunci: Asap mesin berbahan bakar bensin, radikal bebas, diameter alveolus paru, genistein

ABSTRACT

Priyanto Indirwan, Dhany. **Cowpea Beans Extract (*Vigna unguiculata*) with Maserasi Method Effects on the Diameter of Alveolar in Wistar Rat's (*Rattus novergicus*) in Various Time Exposed to Gasoline Fueled Machine Smoke.**

Final Assignment. Medical Faculty of Brawijaya.

Consultant: (1) prof.dr.Moch Aris Widodo,MS,SpFK,PhD (2) dr. Bambang Soemantri, Mkes

Gasoline fueled machine smoke contains compounds that can produce systemic toxic effects on pulmonary organs, such as nitrogen dioxide (NO₂), Ozone (O₃), photochemical oxidants, sulfur dioxide (SO₂) and suspended particulate matter (SPM), carbon monoxide (CO) and materials with carcinogenic effects. The compounds can damage the lung tissue until to the alveoli. Free radicals are capable to penetrating the edges of the lungs with pulmonary centriacinar region as the main depositionsite, and absorbed into the mucosa and respiratory tract. Pathological effects arising from exposure to the compounds was exudative changes associated with degeneration and decay pneumosit. Free radicals also cause the accumulation of macrophages and neutrophils, causing neutrophil elastase levels higher than lung α1-protease inhibitor. As a result, the integrity of the epithelial lining disruption occurs, elastin and collagen hat causes damage to the walls of the alveoli and dilation of alveolar diameter. To inhibit the activity of free radicals, antioxidants is needed. One of the natural ingredients that contain antioxidants are extracts of cowpea (*Vigna unguiculata*). In the cowpea extracts containing isoflavones genistein which is a chemical that resembles the structure of the hormones found in group nuts. The purpose of this study was to determine the effect of genistein to inhibiting dilation of pulmonary alveolar diameter white rat's (*Rattus novergicus strain Wistar*) were exposed by the smoke of gasoline fueled machine. The Metode is true experimental study with mice as experimental animals were divided into 8 group, consist of normal group or negative control, the treatment group who exposed with smoke of gasoline fueled machine in 2,3,4 minutes without giving genistein, the treatment group who exposed with smoke of gasoline fueled machine in 2,3,4 minutes with giving genistein, the normal control group by administering genistein, and normal groups by giving 10 atm of pure O₂. The results were analyzed using *One Way ANOVA* showed significant improvement ($p < 0,05$) diameter of the pulmonary alveoli in all gasoline fueled machine smoked groups that is inhibited by genistein extract cowpea. The conclusion of this study are genistein can inhibit enlargement of lung alveolar diameter rat's *Rattus novergicus strain Wistar* are exposed by the smoke of gasoline fueled machine.

Keywords: Smoke gasoline engine, free radicals, pulmonary alveolar diameter, genistein

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	xii
Daftar Tabel	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Daftar Singkatan	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat Akademik	6
1.4.2 Manfaat Praktis	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Polusi Udara	7
2.1.1 Pengertian Polusi Udara	7



2.1.2 Klasifikasi Polusi Udara	7
2.1.3 Penyebab Polusi Udara	9
2.1.4 Kandungan Asap Kendaraan Bermotor dan Efeknya terhadap Kesehatan	11
2.2 Saluran Pernafasan	14
2.2.1 Anatomi	14
2.2.2 Struktur Histologi Alveolus Paru	15
2.2.3 Elastisitas Alveolus Paru	17
2.2.4 Efek Asap Kendaraan Bermotor terhadap Paru – Paru	18
2.2.5 Reaksi Inflamasi	19
2.3 Radikal Bebas	20
2.3.1 Pengertian Radikal Bebas	20
2.3.2 Tipe Radikal Bebas dalam Tubuh	21
2.3.3 Sumber Radikal Bebas	22
2.3.4 Pembentukan Radikal Bebas dalam Sel	25
2.3.5 Reaksi Perusakan oleh Radikal Bebas	26
2.3.6 Stres Oksidatif	27
2.4 Antioksidan	28
2.4.1 Pengertian Antioksidan	28
2.4.2 Jenis Antioksidan	29
2.4.3 Cara Kerja Antioksidan	30
2.5 Kacang Tunggak	31
2.5.1 Taksonomi Kacang Tunggak	31
2.5.2 Morfologi Kacang Tunggak	33
2.5.3 Penyebaran Pertumbuhan Kacang Tunggak	33

2.5.4 Kandungan Kacang Tunggak	33
2.5.5 Manfaat Antioksidan Kacang Tunggak	35
2.5.6 Mekanisme Kerja Antioksidan	35
2.5.7 Genistein	36
2.5.7.1 Cara Kerja Genistein sebagai Antioksidan	37
2.5.7.2 Farmakokinetik	38
2.5.7.3 Farmakodinamik	40

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian	45
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	46

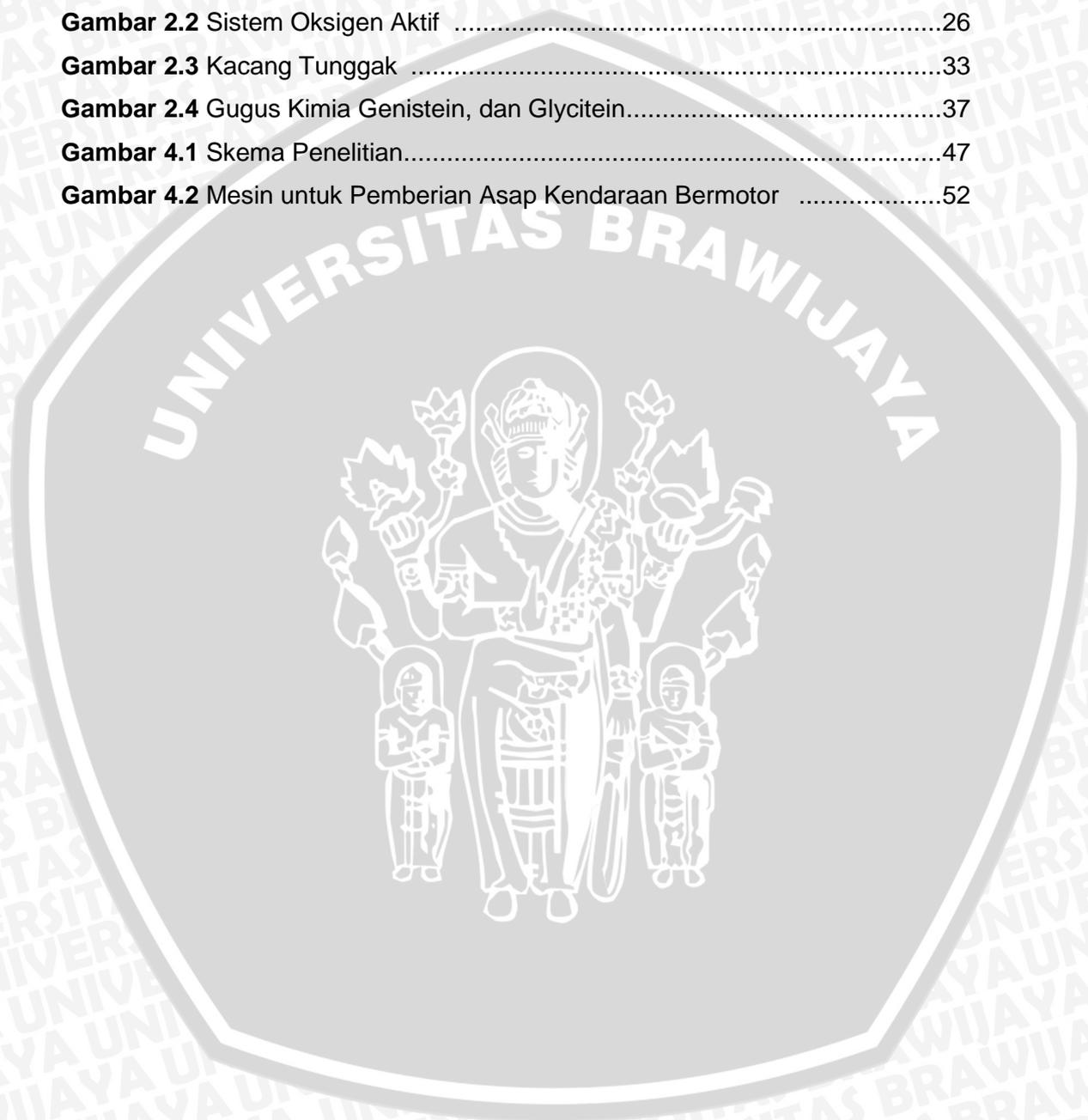
BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	47
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	48
4.3 Variabel Penelitian	49
4.3.1 Variabel Bebas	49
4.3.2 Variabel Kontrol	49
4.4 Tempat dan Waktu Penelitian	50
4.5 Bahan dan Alat Penelitian	50
4.5.1 Bahan Penelitian	50
4.5.1.1 Bahan Ekstraksi Kacang Tunggak	50
4.5.1.2 Bahan Bakar Paparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin	50
4.5.1.3 Bahan Pengambilan Organ Paru – Paru Tikus	50
4.5.1.4 Bahan Pembuatan Sediaan Histopatologi Paru Tikus	51

5.3.1 Uji Normalitas Data	70
5.3.2 Uji Homogenitas Varians	71
5.3.3 Uji Oneway ANOVA	71
5.3.4 Uji Post-Hoc Multiple Comparison	71
5.3.5 Uji Korelasi	72
5.3.6 Uji Regresi	73
BAB VI PEMBAHASAN	
6.1 Diameter Alveolus Paru Tikus pada Kelompok Kontrol Negatif.....	74
6.2 Pengaruh Lama Paparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin terhadap Pelebaran Diameter Alveoulus Paru Tikus	75
6.3 Pengaruh Pemberian Genistein dalam Menghambat Pelebaran Diameter Alveolus Paru Tikus (<i>Rattus novergicus</i>) Galur Wistar yang Dipapar Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin	77
BAB VII PENUTUP	
7.1 Kesimpulan	79
7.2 Saran	79
DAFTAR PUSTAKA.....	81
LAMPIRAN	89

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Alveolus	17
Gambar 2.2 Sistem Oksigen Aktif	26
Gambar 2.3 Kacang Tunggak	33
Gambar 2.4 Gugus Kimia Genistein, dan Glycitein.....	37
Gambar 4.1 Skema Penelitian.....	47
Gambar 4.2 Mesin untuk Pemberian Asap Kendaraan Bermotor	52

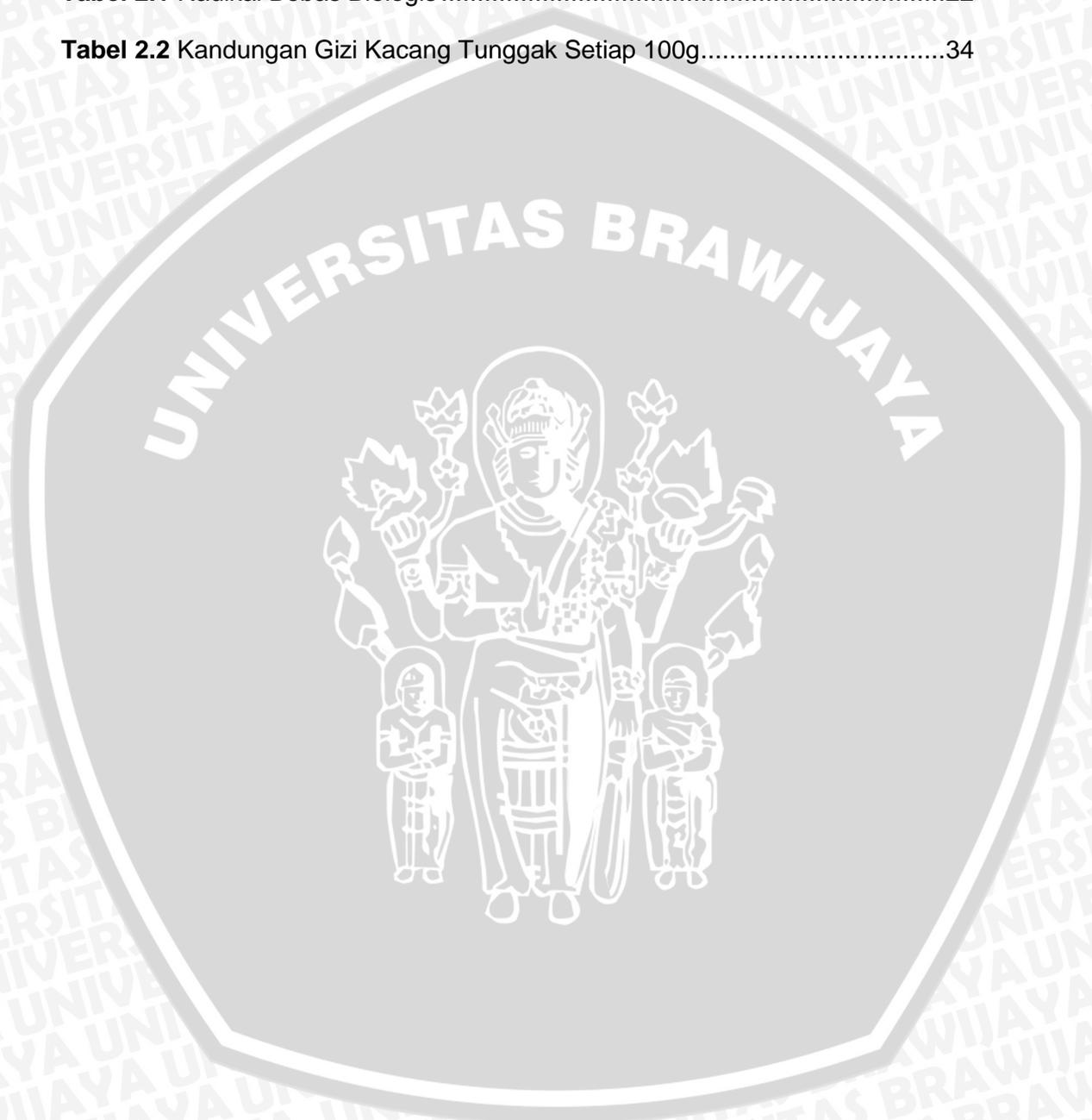


DAFTAR TABEL

Halaman

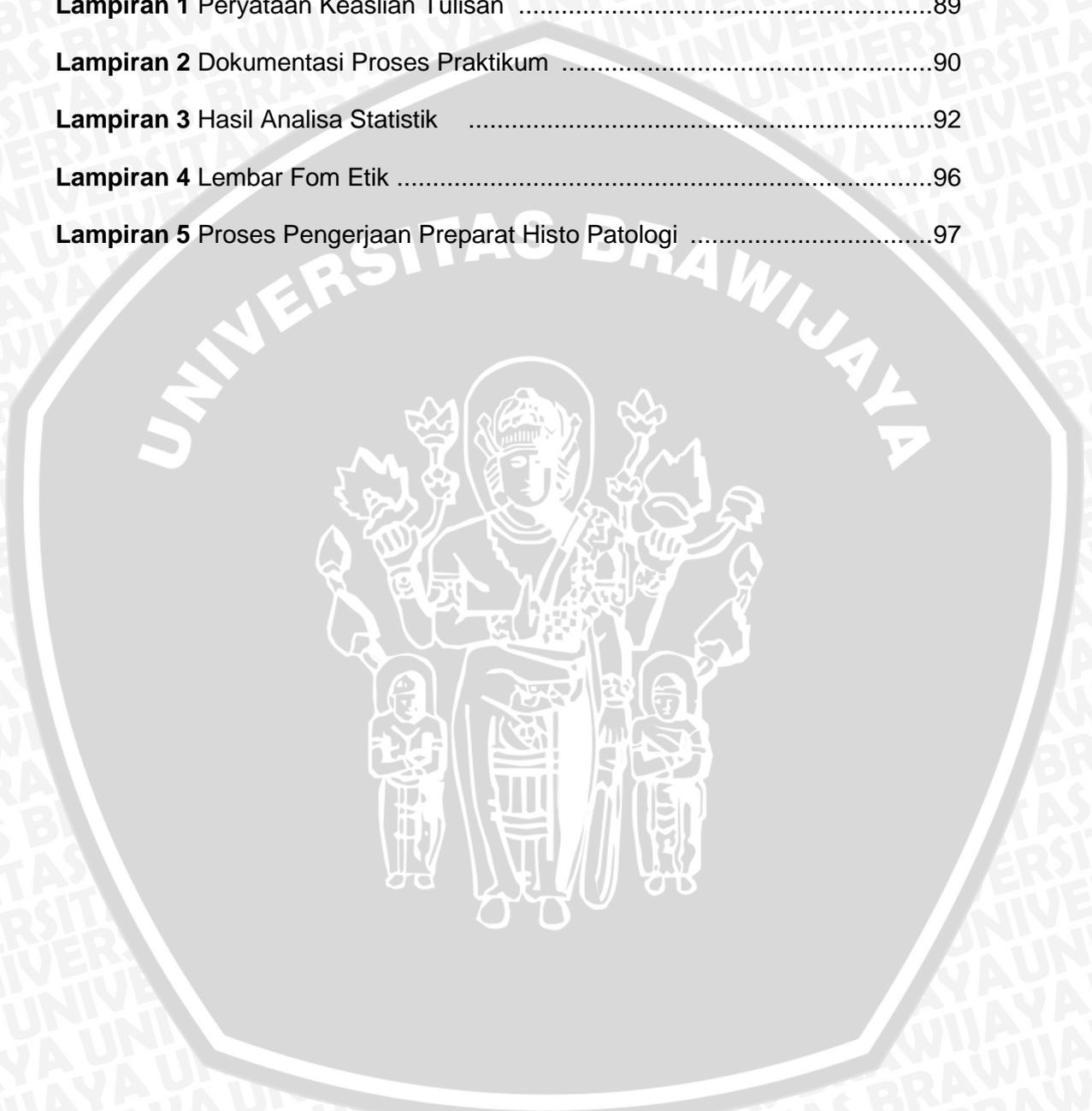
Tabel 2.1 Radikal Bebas Biologis22

Tabel 2.2 Kandungan Gizi Kacang Tunggak Setiap 100g.....34



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Pernyataan Keaslian Tulisan	89
Lampiran 2 Dokumentasi Proses Praktikum	90
Lampiran 3 Hasil Analisa Statistik	92
Lampiran 4 Lembar Fom Etik	96
Lampiran 5 Proses Pengerjaan Preparat Histo Patologi	97



DAFTAR SINGKATAN

CO ₂	: Carbon Dioksida	PUFA	: Poly unsaturated Fatty Acid
CO	: Carbon Monoksida	DNA	: Deoxyribonucleic Acid
O ₃	: Ozon	AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome
SO ₂	: Sulfur Dioksida	SPM	: Suspended Particulate Matter
NO ₂	: Nitrogen Dioksida	ROO	: Peroxyl Radical
MDA	: Malondialdehyde	H ₂ O ₂	: Hidrogen Peroksida
Pb	: Plumbum (Timbal)	Fe	: Ferrous
ROS	: Reactive Oxygen Species	LO-2	: Radikal Peroksil
LO	: Radikal Alkoxy	RO	: Alkoxy
SOD	: Superoksida Dismutase	BHA	: Butil Hidroksi Anisol
Cu	: Cuprum (tembaga)	ECG	: Electrocardiography
CuCr	: Cuprum Chrom	BHT	: Butil HidroksiToluen
CuZn	: Cuprum Zincum (kuningan)	IL	: Interleukin
PMN	: Polymorphynuclear	CD 8	: Cluster of Differentiation 8
TNF	: Tumor Necrosis Factors	Quinon	
TBHQ	: Tert-Butil Hidroksi	HO ₂	: Hydroperoxyl
NFKB	: Nuclear Factor Kappa Beta	ERE	: estrogen response element
CMMV	: Cowpea Mild Mottle Virus	ERK	: extracellular-signal regulated kinase
RO ₂	: Peroxyl		
HOCL	: Hipoklorit		
HOBr	: Hypobromous		
HOCL	: Asam Hipoklorit		

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kendaraan bermotor merupakan salah satu penyebab pencemaran udara di dunia. Hal ini disebabkan penggunaan kendaraan bermotor di dunia ini yang meningkat dari tahun ke tahun. Jumlah mobil di jalan – jalan dunia sudah melampaui satu miliar pada tahun lalu. Menurut sebuah penelitian yang telah mendorong perdebatan tentang jumlah mobil bertumbuh cepat, akan berarti bagi perekonomian dunia dan lingkungan. Jumlah mobil pada tahun 2010 melebihi angka 1.015.000.000 menurut laporan dari Auto Ward (Tencer, 2011). Peningkatan jumlah kendaraan bermotor ini juga terjadi di Indonesia. Jumlah kendaraan bermotor di Indonesia pada tahun 2009 sudah melampaui angka 70.714.569. Jumlah itu merupakan gabungan dari berbagai jenis kendaraan, mulai dari angkutan umum, bis, truk, sepeda motor. Jumlahnya dari tahun ke tahun selalu meningkat (Badan Pusat Statistik RI,2009). Total Populasi kendaraan bermotor di Indonesia menjadi yang tertinggi di kawasan Asia Tenggara, di atas Thailand sebanyak 25,29 juta unit, Vietnam 14,51 juta unit, Malaysia 7,28 juta unit, dan Filipina 2,15 juta unit. Dengan jumlah penduduk Indonesia mencapai 234,69 juta orang pada 2010, rasio penduduk terhadap populasi kendaraan bermotor adalah 1 unit kendaraan berbanding 4,6 orang. Itu berarti setiap 4,6 orang di Indonesia memiliki kendaraan bermotor, baik mobil maupun motor (Dunia Industri, 2011).

Meningkatnya jumlah penggunaan kendaraan bermotor menyebabkan pencemaran udara, sebab emisi kendaraan bermotor mengandung berbagai senyawa kimia (Tugaswati,2000). Kandungan senyawa kimia dalam asap kendaraan bermotor terdiri dari nitrogen oksida, benzena, particulates, senyawa organik volatil, karbon dioksida dan karbon monoksida (Mozer, 2012). Dari jumlah total tiap zat pencemar utama yang dikeluarkan setiap tahun, karbon monoksida (CO) merupakan zat pencemar terbanyak dan kendaraan bermotor adalah sumber utamanya. Namun dari segi yang paling berbahaya bagi kesehatan manusia itu adalah sulfur oksida dan partikulat menempati dua urutan teratas. Sebaliknya karbon monoksida menempati urutan terbawah dari ke-6 jenis zat pencemar. (Marssy,2007)

Pengaruh dari pajanan NO₂, SO₂, dan CO ini merugikan mulai dari meningkatnya kematian akibat adanya episode smog sampai pada gangguan estetika dan kenyamanan. Gangguan kesehatan lain diantara kedua pengaruh yang ekstrim ini, misalnya kanker pada paru – paru atau organ tubuh lainnya, penyakit pada saluran tenggorokan yang bersifat akut maupun kronis, dan kondisi yang diakibatkan karena pengaruh bahan pencemar terhadap organ lain seperti paru, misalnya sistem syaraf. Organ pernafasan merupakan bagian yang diperkirakan paling banyak mendapatkan pengaruh karena yang pertama berhubungan dengan bahan pencemar udara. Sejumlah senyawa spesifik yang berasal dari gas buang kendaraan bermotor seperti oksida - oksida sulfur dan nitrogen, partikulat dan senyawa-senyawa oksidan, dapat menyebabkan iritasi dan radang pada saluran pernafasan. Walaupun kadar oksida sulfur di dalam gas buang kendaraan bermotor dengan bahan bakar bensin relatif kecil, tetapi tetap berperan karena jumlah kendaraan bermotor dengan bahan bakar solar

makin meningkat. Selain itu menurut studi epidemiologi, oksida sulfur bersama dengan partikulat bersifat sinergetik sehingga dapat lebih meningkatkan bahaya terhadap kesehatan (Tugaswati,2000).

Sulfur dioksida (SO₂) merupakan gas buang yang larut dalam air yang langsung dapat terabsorpsi di dalam hidung dan sebagian besar saluran ke paru-paru. Karena partikulat di dalam gas buang kendaraan bermotor berukuran kecil, partikulat tersebut dapat masuk sampai ke dalam alveoli paru-paru dan bagian lain yang sempit. Partikulat itu merusak parenkim paru. Parenkim paru yang rusak oleh oksidan terjadi karena rusaknya dinding alveolus dan timbulnya modifikasi fungsi dari anti elastase pada saluran nafas. Sehingga timbul kerusakan jaringan interstitial alveolus. Partikel polusi udara mengendap pada lapisan mukus yang melapisi mukosa bronkus. Sehingga menghambat aktivitas silia. Pergerakan cairan yang melapisi mukosa berkurang. Sehingga iritasi pada sel epitel meningkat. Hal ini akan merangsang kelenjar mukosa. Keadaan ini ditambah dengan gangguan aktivitas silia. Bila oksidasi dan iritasi di saluran nafas terus berlangsung, maka terjadi erosi epitel serta pembentukan jaringan parut. Selain itu terjadi pula metaplasia squamosa dan pembentukan lapisan squamosa. Hal ini menimbulkan stenosis dan obstruksi saluran nafas yang bersifat irreversibel, sehingga terjadi pelebaran alveolus yang permanen disertai kerusakan dinding alveoli (Akmal, 2012).

Partikulat gas buang kendaraan bermotor terutama terdiri jelaga (hidrokarbon yang tidak terbakar) dan senyawa anorganik (senyawa-senyawa logam, nitrat dan sulfat). Sulfur dioksida di atmosfer dapat berubah menjadi kabut asam sulfat (H₂SO₄) dan partikulat sulfat. Sifat iritasi terhadap saluran pernafasan, menyebabkan SO₂ dan partikulat dapat membengkakkan membran

mukosa dan meningkatkan hambatan aliran udara pada saluran pernafasan. Diantara berbagai jenis oksida nitrogen yang ada di udara, nitrogen dioksida Sedangkan (NO₂) merupakan gas yang paling beracun. Karena larutan NO₂ dalam air yang lebih rendah dibandingkan dengan SO₂, maka NO₂ akan dapat menembus ke dalam saluran pernafasan lebih dalam. Bagian dari saluran yang pertama kali dipengaruhi adalah membran mukosa dan jaringan paru (Tugaswati,2000).

Ada beberapa jenis kacang – kacang yang hidup di Indonesia. Salah satunya kacang tunggak (*Vigna unguiculata*). Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) mempunyai kandungan gizi yang bagus untuk dikonsumsi, protein 22,9 gram, lemak 1,1 gram, dan karbohidrat 61,6 gram. Setiap 100 gram kacang tunggak mengandung protein 30,2 gram, lemak 15,6 gram dan karbohidrat 30,1 gram (Kholis,2010). Selain mengandung nutrisi seperti protein, karbohidrat, lemak, kacang tunggak juga mengandung non-nutrient, isoflavones (Kaur and Murphy, 2012).

Suatu penelitian mengatakan bahwa kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) mengandung tiga aglycones flavonoid, yaitu *quercetin*, *kaempferol*, dan *isorhamnetin* (Fatokun, 2002). Quercetin adalah biflavonoid utama dalam diet manusia yang dapat berfungsi sebagai antioxidant. Beberapa perlakuan yang membuatnya sebagai agen anti kanker yang potensial, termasuk regulasi siklus sel, interaksi tipe II estrogen dan menghambat pertumbuhan tumor (Lamson, D.W, and Brignall,M.S.,2000). *Quercetin* juga dapat menstabilkan pembuluh darah kecil dan membantu mengurangi retensi cairan (Richards,B.J.,2012)

Jadi dengan demikian, melalui berbagai hasil penelitian yang ada tentang kacang tunggak (*Vigna unguiculata*), diharapkan melalui efek antioxidant dari

kandungan genistein pada kacang tunggak, dapat menetralkan paparan NO_2 , SO_2 , dan CO di udara. Sehingga terhindar dari iritasi dan radang pada saluran pernafasan. Dengan demikian pelebaran alveolus yang permanen disertai kerusakan dinding alveoli tidak akan terjadi. Berdasarkan latar belakang ini, peneliti ingin mengetahui efek genistein dari ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan metode maserasi terhadap diameter pelebaran alveoli paru tikus galur Wistar (*Ratus norvegicus*) pada berbagai lama waktu paparan asap mesin pembakar bensin.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah genistein dalam ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan metode maserasi dapat mencegah pelebaran diameter alveoli paru tikus galur Wistar (*Ratus norvegicus*) pada berbagai lama waktu paparan asap mesin berbahan bakar bensin ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas maka tujuan dari penelitian dalam Tugas Akhir ini sebagai berikut:

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan bahwa genistein dalam ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan metode maserasi dapat mencegah pelebaran diameter alveoli paru tikus pada berbagai lama waktu paparan asap mesin berbahan bakar bensin.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengukur diameter alveoli tikus pada berbagai lama waktu paparan asap mesin berbahan bakar bensin melalui pengamatan pada sediaan histologi paru tikus.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Memberikan ilmu pengetahuan di bidang ilmu kesehatan
2. Menambah referensi bacaan ilmiah yang dapat dijadikan kajian pustaka pada suatu penelitian atau penulisan karya ilmiah berikutnya yang terkait dengan efek genistein dalam ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*)

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Menambah wawasan kepada masyarakat umum tentang efek genistein dalam kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan metode maserasi sebagai antioksidan terhadap paparan asap mesin berbahan bakar bensin
2. Mengenalkan genistein dalam ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan metode maserasi sebagai obat herbal yang dapat mencegah pelebaran diameter alveoli paru akibat paparan asap mesin berbahan bakar bensin

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Polusi Udara

2.1.1 Pengertian Polusi Udara

Pencemaran udara adalah kehadiran satu atau lebih substansi fisik, kimia, atau biologi di atmosfer dalam jumlah yang dapat membahayakan kesehatan makhluk hidup, mengganggu estetika dan kenyamanan, atau merusak properti (Putra, 2009). Pencemaran udara dapat ditimbulkan oleh sumber – sumber alami maupun kegiatan manusia. Beberapa gangguan fisik seperti panas, radiasi atau polusi cahaya merupakan polusi udara. Sifat alami udara mengakibatkan dampak pencemaran udara dapat bersifat langsung dan lokal, regional, maupun global (Rachmariska, 2009). Polusi udara berasal dari berbagai sumber seperti pabrik, pembangkit listrik, mobil, bus, truk, kebakaran hutan, dll. Polusi udara ini tidak hanya mempengaruhi udara, tetapi juga mengancam kesehatan manusia, pohon, hewan, dan menghancurkan lapisan ozon yang melindungi kita dari bahaya radiasi ultra violet. Statistik berbicara, setiap individu rata – rata per hari bernafas lebih dari 3.000 galon udara dan karena banyak orang tinggal di daerah perkotaan yang penuh kabut asap ini mempengaruhi kesehatan mereka menyebabkan mereka banyak masalah kesehatan (Haluzan, 2007).

2.1.2 Klasifikasi Polusi Udara

1. Pencemar primer : pencemar yang di timbulkan langsung dari sumber pencemar udara.

- 2 Pencemar sekunder : Pencemar yang terbentuk dari reaksi pencemar – pencemar primer di atmosfer.

Contoh : Sulfur dioksida dan sulfur monoksida yang bereaksi dengan uap air akan menghasilkan asam sulfurik (Putra, 2009).

Klasifikasi juga dapat dibedakan menurut bahan atau zat pencemaran udara.

Apabila bahannya gas, maka dapat dibedakan menjadi:

- Golongan belerang (sulfur dioksida, hidrogen sulfida, sulfat aerosol)
- Golongan nitrogen (nitrogen oksida, nitrogen monoksida, amoniak, dan nitrogen dioksida)
- Golongan karbon (karbon dioksida, karbon monoksida, hidrokarbon)
- Golongan gas yang berbahaya (benzene, vinyl klorida, air raksa uap)

Sedangkan untuk bahan yang berbentuk partikel dibedakan menjadi 3, yaitu:

- Mineral (anorganik) dapat berupa racun seperti air raksa dan timah
- Bahan organik yang terdiri dari ikatan hidrokarbon, klorinasi alkan, benzene
- Makhluk hidup terdiri dari bakteri, virus, telur cacing

Sementara itu jenis pencemaran udara menurut tempat dan sumbernya dibedakan menjadi 2, yaitu:

- Pencemaran udara bebas meliputi secara alami (meliputi letusan gunung berapi, pembusukan, dan lain – lain) dan bersumber pada kegiatan manusia, misalnya berasal dari kegiatan industri, rumah tangga, asap kendaraan bermotor.
- Pencemaran udara ruangan meliputi dari asap rokok, bau tidak sedap ruangan (Rachmariska, 2009).

2.1.3 Penyebab Polusi Udara

Polusi udara di jaman sekarang sudah tumbuh dengan pesat. Apalagi di daerah perkotaan dan daerah industri, yang pertumbuhan polusinya pesat. Hal ini disebabkan karena kebutuhan energi yang digunakan sangat besar yang akan menghasilkan pembuangan limbah / zat pencemar lebih banyak. Hasil dari pembakaran limbah rumah tangga, kendaraan bermotor, dalam proses – proses industri dan pembuangan limbah zat – zat pencemar di daerah perkotaan (Yusad, 2003).

Zat – zat pencemar udara yang paling sering dijumpai dilingkungan perkotaan adalah: SO₂, NO dan NO₂, CO, O₃, SPM (Suspended Particulate Matter) dan Pb. SO₂ berperan dalam terjadinya hujan asam dan polusi partikel sulfat aerosol. NO₂ berperan terhadap polusi partikel dan deposit asam dan prekursor ozon yang merupakan unsur pokok dari kabut fotokimia. Asap dan debu termasuk polusi partikel. Ozon, CO, SPM, dan Pb seluruhnya telah dibuktikan memberi pengaruh yang merugikan bagi kesehatan manusia. Kebanyakan semua partikel itu ada di kota besar (Yusad, 2003).

Di kota besar, kebanyakan penyebab polusi udara berasal dari asap kendaraan bermotor, sekitar 70 % asap kendaraan bermotor ini mencemari kota besar. Data pada tahun 1993 – 1997 menyebutkan telah terjadi peningkatan jumlah kendaraan di Jakarta, berupa:

- Sepeda motor 207 %
- Mobil penumpang 177 %
- Mobil barang 176 %
- Bus 138 %

(Putra, 2009)

Pencemaran udara juga bisa dibagi menurut penyebabnya:

1. Kegiatan manusia

Manusia merupakan sumber pencemaran di dunia ini. Melalui aktivitasnya, mereka membuat pencemaran udara di dunia ini. Beberapa kegiatan manusia yang menyebabkan pencemaran udara antara lain:

a. Transportasi

Banyaknya alat transportasi yang digunakan akan menghasilkan gas buang dari kendaraan tersebut dalam jumlah besar. Hal ini menyebabkan terjadinya pencemaran udara.

b. Industri

Gas buang yang dihasilkan dari proses industri dapat menunjang terjadinya pencemaran udara.

c. Pembakaran

Proses pembakaran akan menghasilkan asap atau gas buang yang dapat mencemarkan udara. Selain itu, hal lainnya yang berhubungan dengan pembakaran seperti perapian, kompor, furnace, insinerator dengan berbagai jenis bahan bakar juga akan mengakibatkan udara terpolusi.

d. Limbah

Pembuangan limbah yang tidak pada tempatnya akan menimbulkan bau tak sedap sehingga dapat menjadi polutan pada udara.

2. Sumber Alami

Polutan udara alami adalah zat yang dihasilkan dari terjadinya letusan gunung berapi, kebakaran hutan, nitrifikasi dan denitrifikasi biologi. Selain

itu, partikel – partikel padatan atau cairan berukuran kecil dapat tersebar di udara oleh letusan vulkanik, angin, atau gangguan alam lainnya.

3. Sumber – sumber lainnya

Beberapa sumber pencemar udara lainnya adalah transportasi ammonia, kebocoran tangki klor, timbulnya gas metana dari tempat pembuangan sampah, dan uap pelarut organik (Pahlevi RR, 2009).

2.1.4 Kandungan Asap Kendaraan Bermotor dan Efeknya terhadap Kesehatan

Asap kendaraan bermotor menyumbang 26 % dari total emisi yang dihasilkan di Indonesia dan menyebabkan 60 – 90 % dari seluruh polusi di negara – negara industri. Menurut data Bappenas, setiap kali kendaraan mengeluarkan asap, sekitar 1000 unsur beracun yang terkandung di dalamnya turut mengotori udara (Icha, 2009).

Jenis bahan bakar pencemar yang dikeluarkan oleh mesin dengan bahan bakar bensin maupun bahan bakar solar sebenarnya sama saja, hanya berbeda proporsinya karena perbedaan cara operasi mesin. Secara visual selalu terlihat asap dari knalpot kendaraan bermotor dengan bahan bakar solar, yang umumnya tidak terlihat pada kendaraan bermotor dengan bahan bakar bensin.

Walaupun gas buang kendaraan bermotor terutama terdiri dari senyawa yang tidak berbahaya seperti nitrogen, karbon dioksida, dan uap air, tetapi didalamnya terkandung juga senyawa lain dengan jumlah yang cukup besar yang dapat membahayakan kesehatan maupun lingkungan. Bahan pencemar yang terutama terdapat didalam gas buang – buang kendaraan bermotor adalah karbon monoksida (CO), berbagai senyawa hidrokarbon, berbagai oksida nitrogen (NOx) dan sulfur (Sox), dan partikulat debu termasuk timbal (Pb). Bahan

bakar tertentu seperti hidrokarbon dan timbal organik, dilepaskan ke udara karena adanya penguapan dari proses pembakaran. Lalu lintas kendaraan bermotor, juga dapat meningkatkan kadar partikulat debu yang berasal dari permukaan jalan, komponen ban dan rem.

Setelah berada di udara, beberapa senyawa yang terkandung dalam gas buang kendaraan bermotor dapat berubah karena terjadinya suatu reaksi, misalnya dengan sinar matahari dan uap air, atau juga antara senyawa – senyawa tersebut satu sama lain. Proses reaksi tersebut ada yang berlangsung cepat dan terjadi saat itu juga di lingkungan jalan raya, dan adapula yang berlangsung dengan lambat. Reaksi kimia di atmosfer kadangkala berlangsung dalam suatu rantai reaksi yang panjang dan rumit, dan menghasilkan produk akhir yang dapat lebih aktif atau lebih lemah dibandingkan senyawa aslinya. Sebagai contoh, adanya reaksi di udara yang mengubah nitrogen monoksida (NO) yang terkandung di dalam gas buang kendaraan bermotor menjadi nitrogen dioksida (NO₂) yang lebih reaktif, dan reaksi kimia antara berbagai oksida nitrogen dengan senyawa hidrokarbon yang menghasilkan ozon dan oksida lain, yang dapat menyebabkan asap awan fotokimi (photochemical smog). Pembentukan smog ini kadang tidak terjadi di tempat asal sumber (kota), tetapi dapat terbentuk di pinggiran kota. Jarak pembentukan smog ini tergantung pada kondisi reaksi dan kecepatan angin.

Bahan pencemar yang sifatnya lebih stabil seperti limbah (Pb), beberapa hidrokarbon-halogen dan hidrokarbon poliaromatik, dapat jatuh ke tanah bersama air hujan atau mengendap bersama debu, dan mengkontaminasi tanah dan air. Senyawa tersebut selanjutnya juga dapat masuk ke dalam rantai makanan yang pada akhirnya masuk ke dalam tubuh manusia melalui sayuran,

susu ternak, dan produk lainnya dari ternak hewan. Karena banyak industri makanan saat ini akan dapat memberikan dampak yang tidak diinginkan pada masyarakat kota maupun desa (Tugaswati, 2000).

Emisi gas buang kendaraan bermotor ini harus ditekan seminimal mungkin, yaitu dengan menggunakan filter knalpot (exhaust manifold) pada setiap kendaraan bermotor. Sekarang ini sudah banyak material yang sudah terbukti memiliki kemampuan untuk mereduksi emisi gas buang kendaraan. Jenis material pereduksi emisi gas buang kendaraan bermotor ini sangat bervariasi, ada yang berasal dari logam, keramik dan komposit. Secara prinsip bahwa material penyusun filter gas emisi kendaraan yang dapat berfungsi untuk mereduksi emisi gas buang adalah:

1. Katalis

Katalis merupakan suatu zat yang mempengaruhi kecepatan reaksi tetapi tidak dikonsumsi dalam reaksi dan tidak mempengaruhi kesetimbangan kimia pada akhir reaksi. Di dunia industri katalis telah digunakan secara luas, terutama pada industri kimia. Akhir-akhir ini katalis juga digunakan untuk menangani masalah polusi udara, terutama untuk mengurangi emisi gas carbon monoksida pada kendaraan bermotor. Bahan-bahan yang dapat digunakan sebagai katalis adalah menggunakan logam-logam mulia antara lain platinum, rhodium dan palladium. Namun karena jumlahnya terbatas dan harganya yang mahal maka pemakaiannya terbatas. Sebagai bahan alternatif dapat juga digunakan material substrat logam tembaga (Cu), kuningan (CuZn) dan tembaga chrom (CuCr) untuk menggantikan bahan katalis tersebut.

2. Absorber

Absorber diartikan sebagai penyerap gas-gas yang berbahaya dari emisi kendaraan bermotor. Material-material yang memiliki kekuatan untuk menyerap gas emisi kendaraan bermotor adalah zeolit, arang karbon, dll.

Dalam perencanaan filter gas emisi kendaraan dapat digabungkan atau dipadukan antara katalis dengan absorber untuk dapat mengoptimalkan pereduksinya. Pemasangan filter gas emisi kendaraan ini dapat diletakkan di dalam knalpot atau exhaust manifold (Asyabatini, 2011).

2.2 Saluran Pernapasan

2.2.1 Anatomi

Respirasi adalah peristiwa terjadinya oksigen (udara) dari luar masuk ke dalam tubuh (inspirasi) dan karbondioksida yang berada didalam tubuh keluar (ekspirasi) tubuh melalui proses pernapasan. Pernapasan sangat berguna untuk mengambil udara masuk ke dalam paru – paru dan mengeluarkan hasil pertukarannya yaitu CO₂. Pernapasan juga sangat berguna untuk melindungi sistem pernafasan dari jaringan pathogen (Saibullah, 2012). Selain itu juga memiliki fungsi lain, yaitu sebagai alat untuk berbicara, mencium bau, membantu mengontrol keseimbangan asam basa tubuh (Ziser, 2010).

Secara anatomis, saluran pernafasan dibagi menjadi 2 bagian, saluran pernafasan atas dan saluran pernafasan bawah. Saluran pernafasan atas terdiri dari hidung, faring, laring. Sedangkan untuk saluran pernafasan bawah terdiri dari semua organ yang ada di cavum thoraks. Organ terbesar yang ada di dalamnya adalah paru – paru (Ziser, 2010).

Pernafasan bagian atas, meliputi hidung, faring, laring, trakea, bronkus dan bronkiolus. Saluran pernafasan dari hidung sampai bronkiolus dilapisi oleh

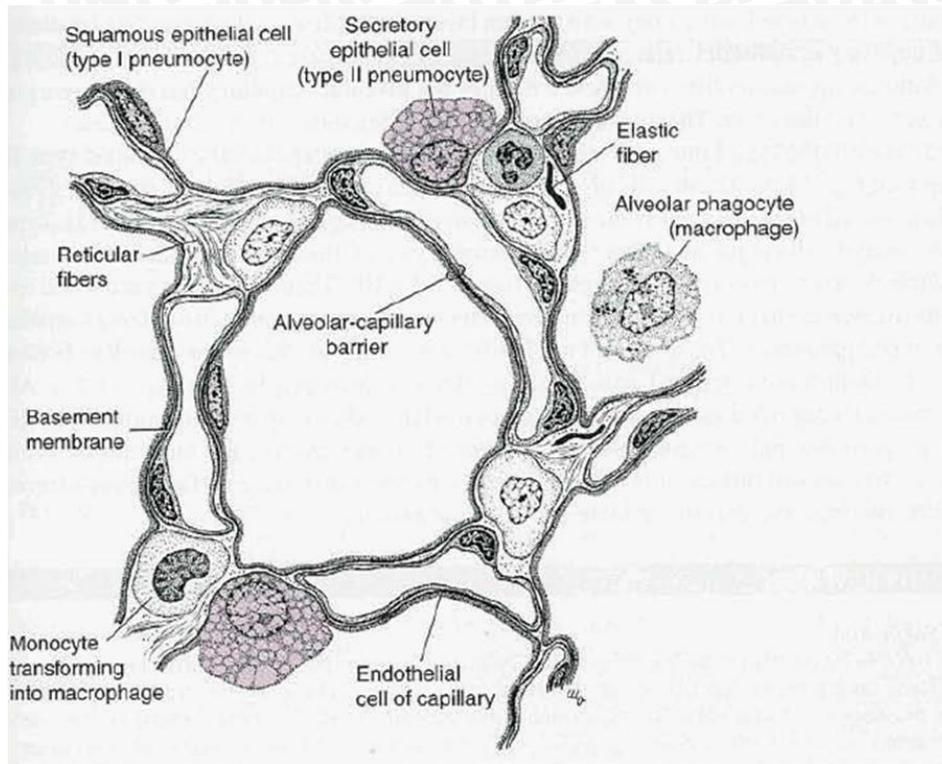
membran mukosa bersilia. Ketika masuk rongga hidung, udara disaring, dihangatkan dan dilembabkan. Ketiga proses ini merupakan fungsi utama mukosa respirasi yang terdiri dari epitel toraks bertingkat, bersilia dan bersel goblet. Permukaan epitel diliputi oleh lapisan mucus yang disekresi oleh sel goblet dan kelenjar mukosa. Partikel debu yang kasar disaring oleh rambut-rambut yang terdapat dalam lubang hidung, sedangkan partikel yang halus akan terperjat dalam lapisan mucus. Gerakan silia mendorong lapisan mucus ke posterior didalam rongga hidung, dann ke superior didalam sistem pernafasan bagian bawah menuju ke faring. Dari sini partikel halus akan tertelan atau dibatukkan keluar. Lapisan mucus memberikan air untuk kelembaban, dan banyaknya jaringan pembuluh darah dibawahnya akan menyuplai panas ke udara inspirasi. Jadi udara inspirasi telah disesuaikan sedemikian rupa, sehingga udara yang mencapai faring hampir bebas debu, bersuhu mendekati suhu tubuh dan kelembabannya mencapai 100% (Rambadi, 2011).

2.2.2 Struktur Histologi Alveolus Paru

Struktur alveolus berbentuk polyhedral dengan dinding epitel selapis pipih. Di mulai dari atas yang berasal dari trachea, bercabang menjadi 2 bronkus primaries yang masuk ke jaringan paru – paru melalui hilus pulmonalis dengan arah ke bawah dan lateral. Bronkus yang sebelah kanan bercabang menjadi 3 dan yang sebelah kiri bercabang menjadi 2, di mana setiap cabang tersebut merupakan percabangan dari bronkus primaries. Setelah itu bercabang lagi menjadi bronkeolus terminalis, bronkeolus respiratorius, ductus alveolaris, atrium, saccus alveolaris, dan alveoli bersama dengan pembuluh darah, limfe, serabut saraf, dan jaringan pengikat.

Bronchiolus respiratorius bercabang menjadi 2 – 11 saluran yang disebut ductus alveolaris. Saluran ini dikelilingi oleh alveoli sekitarnya. Alveoli merupakan gelembung berbentuk polyhedral yang berdinding tipis. Dindingnya penuh dengan anyaman kapiler darah yang saling beranatomose. Epitel alveolus dengan endotel kapiler darah dipisahkan oleh lamina basalis. Pada dinding alveolus dibedakan atas 2 macam sel: sel epitel gepeng (squamous pulmonary epithelial atau sel alveolar kecil atau pneumosit tipe I). Sel kuboid yang disebut sel septal atau alveolar besar atau pneumosit tipe II.

Sel alveolar kecil membatasi alveolus secara kontinyu, kadang diselingi oleh alveolus yang besar. Inti sel alveolus kecil ini gepeng. Bentuk dan ketebalan sel alveolar kecil tergantung dari derajat perkembangan alveolus dan tegangan sekat antara alveoli. Sedangkan sel alveoli besar ialah sel yang tampak sebagai dinding alveolus pada pengamatan dengan mikroskop cahaya. Sel ini terletak lebar ke dalam daripada pneumosit type I. Kompleks golginya sangat besar disertai granular endoplasma reticulum dengan ribosom bebas. Kadang – kadang tampak bangunan ini terdapat dipermukaan sel seperti gambaran sekresi sel kelenjar. Diduga benda – benda ini merupakan cadangan zat yang berguna untuk menurunkan tegangan permukaan dan mempertahankan bentuk dan besar alveolus. Secret tersebut dinamakan surfactant. Udara di dalam alveolus dan darah dalam kapiler dipisahkan dengan Sitoplasma sel epitel alveolus, membrana basalis epitel alveolus, membrana basalis yang meliputi endotel kapiler darah, dan sitoplasma endotel kapiler darah (Tadeus, 2009).



Gambar 2.1 Alveolus (Rambadi, 2011)

2.2.3 Elastisitas Alveolus Paru

Jaringan elastin memberikan sifat elastisitas pada alveoli paru. Sifat ini menyebabkan paru untuk meregang dan mengerut (elastis recoil) yang fungsinya untuk efisiensi fungsi respirasi alveoli paru.

Di dalam jaringan elastin terdapat serabut elastin yang merupakan protein struktural. Elastin disintesis oleh fibroblas dalam bentuk precursor yaitu tropoelastin yang berpolimerasi di dalam jaringan ekstraseluler. Deposisi elastin dalam bentuk serabut memerlukan mikrofibril yaitu suatu fibrillin glikoprotein struktural. Struktur ini berintegrasi disekeliling dan didalam serabut elastik (Wahab, 2005).

Pada keadaan normal, dalam paru - paru terdapat keseimbangan elastase – antielastase di jaringan paru untuk melindungi jaringan elastin daripada dirusak oleh elastase yang bersifat elastolitik (Wahab, 2005).

Elastase sendiri merupakan enzim proteolitik. Enzim ini terutama disintesa oleh neutrofil. Elastase disimpan dalam granula azurofil pada leukosit PMN (polymorphynuclear) yang matur. Elastase disekresi apabila terjadi pelepasan granula (eksositosis) akibat reaksi inflamasi. Sifat proteolitik elastase dapat merusak serabut elastin. Enzim α 1-antitripsin merupakan antielastase yang utama di jaringan paru. Individu dengan defisiensi enzim α 1-antitripsin mempunyai kemungkinan terkena emfisema lebih besar. 2 % penderita emfisema mengalami defisiensi α 1-antitripsin. Aktivitas inhibisi spesifik dari enzim α 1-antitripsin ditentukan oleh pusat reaktifnya, yaitu segmen asam amino serine methionin. α 1- antitripsin disintesa oleh sel – sel hepatosit dalam hepar, α 1-antitripsin merupakan anggota dari golongan besar supergen 'suicide serpin' yang dapat menginaktifkan kelompok protease tertentu dan merupakan inhibitor fisiologis utama bagi elastase. α 1- antitripsin yang bertemu dengan elastase akan membentuk ikatan reversibel dan akan menyebabkan perubahan konformasi sehingga fungsi elastase terhenti (Wahab, 2005).

2.2.4 Efek Asap Kendaraan Bermotor terhadap Paru – Paru

Asap kendaraan bermotor dapat secara langsung atau melalui jalur neuro hormonal dapat menyebabkan hipersekresi kelenjar mukus bronchus, diikuti oleh hiperplasia dan metaplasia, pembentukan sel goblet yang mengeluarkan musin pada epitel permukaan kedua saluran udara besar ataupun yang kecil. Sekret ini bila banyak akan menyebabkan hambatan aliran udara pada saluran udara yang lebih besar. Dalam saluran udara kecil bahkan dapat lebih membuntu, karena

adanya emfisema sering menimbulkan hilangnya jaringan penyangga, dan perubahan tekanan udara di dalam bronchioli alveoli menyempitkan jalan udara dan membatasi aliran udara.

Selain itu asap kendaraan bermotor juga berefek pada alveoli. Hal ini berkaitan dengan elastisitas dari alveoli tersebut. Asap kendaraan bermotor menyebabkan makin banyaknya jumlah netrofil yang kaya dengan elastase dan enzim katabolik lainnya. Asap kendaraan bermotor juga mempercepat inaktivasi α 1-protease inhibitor yang merupakan antielastase. Radikal bebas yang terdapat pada asap kendaraan bermotor bisa menyebabkan kerusakan alveoli dimulai dengan rangsangan pada epitel pelapis, diikuti dengan degradasi elastin, dan mungkin juga komponen jaringan penyokong lain dari dinding pemisah.

Paparan asap kendaraan bermotor akan mengganggu pertahanan antioksidan yang ada pada saluran pernapasan. Stress oksidatif yang ditimbulkan asap kendaraan bermotor akan menurunkan elastin karena terjadinya elastoliosis. Prosesnya bisa secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung dengan cara merusak komponen matrik paru seperti elastin dan kolagen. Secara tidak langsung yaitu dengan mempengaruhi sintesis dan perbaikan elastin, dengan cara melakukan inaktivasi terhadap α 1-protease inhibitor, memicu neutrofil mengeluarkan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL8 (Afandri, 2009).

2.2.5 Reaksi Inflamasi

Radikal bebas yang masuk ke dalam jaringan paru menimbulkan peroksidasi lipid yang menyebabkan reaksi inflamasi dan kerusakan sel. Reaksi inflamasi mengaktifkan sel makrofag alveolar. Aktivasi makrofag alveolar menyebabkan dilepaskannya faktor kemotaktik neutrofil antara lain Interleukin-8

dan leukotrien-B₄. Adanya faktor – faktor itu, maka akan menstimulasi neutrofil melepaskan elastase. Aktivasi makrofag meningkatkan aktivitas elastase makrofag atau metalloprotease. Aktivitas elastase makrofag tidak dihambat oleh α 1-antitripsin, tetapi sebaliknya α 1-antitripsin dirusak oleh elastase tersebut.

Radikal bebas juga mengaktivasi sel epitel saluran pernafasan untuk melepaskan limfosit CD-8. Limfosit ini dapat menstimulasi reaksi inflamasi.

Selain itu, radikal bebas bekerja secara intraseluler dengan mempengaruhi transduksi sinyal, dimana ia menginaktivasi inhibitor transkripsi nukleus faktor KB (*nuclear factor of KB*) (NFKB). Akibatnya, NFKB dapat beraktivasi lalu menstimulasi lebih banyak sitokain proinflamasi. Produk peroksidasi lipid juga merupakan mediator proinflamasi yang poten.

Peningkatan aktivitas elastase yang tidak diimbangi oleh antielastase akibat reaksi inflamasi seperti yang dijelaskan, menyebabkan degradasi elastin. Satu hal yang menarik adalah proses inflamasi dapat terus berlanjut karena produk degradasi elastin itu sendiri merupakan mediator proinflamasi (Wahab, 2005).

2.3 Radikal Bebas

2.3.1 Pengertian Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (Buttner, 2009). Radikal bebas umumnya tidak stabil dan sangat reaktif. Contoh radikal bebas adalah superoksida, hidroksit, peroxy (RO₂), alkoxy (RO), dan hydroperoxy (HO₂). Oksida nitrat dan nitrogen dioksida (NO₂) adalah dua nitrogen radikal bebas. Oksigen dan nitrogen radikal bebas dapat dikonversi ke non-radikal reaktif spesies, seperti hidrogen peroksida, asam hipoklorit (HOCl), asam hypobromous (HOBr), dan asam hipoklorit (HOCl), dan

asam hypobromous (HOBr) (Fang YZ, Yang S, Wu G, 2002). Radikal bebas ini penting bagi kesehatan dan fungsi tubuh yang normal dalam memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah dan organ – organ dalam tubuh kita. Kerja radikal bebas yang aman dan efektif dalam tubuh kita bila tidak dalam jumlah yang berlebihan atau dalam keadaan seimbang, akan tetapi masalahnya adalah mekanisme keseimbangan tubuh kita yang sangat rapuh ini sering sekali keluar jalur, sehingga menimbulkan penyakit. Saat tubuh kita dipenuhi radikal bebas yang berlebihan, maka molekul yang tidak stabil yang berada dalam tubuh kita berubah bentuk menjadi molekul pemangsa. Mereka mulai bergerak liar dan menyerang bagian tubuh yang sehat maupun yang tidak sehat sehingga terjadi penyakit (Sumampouw, 2003).

2.3.2 Tipe Radikal Bebas dalam Tubuh

Radikal bebas dalam tubuh merupakan derivat dari oksigen yang disebut kelompok oksigen reaktif (reactive oxygen species/ROS), termasuk didalamnya adalah triplet ($3O_2$), tunggal (singlet/ O_2), anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil ($-OH$), nitrit oksida (NO^-), peroksinitrit ($ONOO^-$), asam hipoklorus ($HOCl$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal alkoxy (LO^-), dan radikal peroksil (LO_2^-). Radikal bebas yang mengandung karbon (CCL) yang berasal dari oksidasi radikal molekul organik. Radikal yang mengandung hidrogen hasil dari penyerangan atom H (H^-). Bentuk lain adalah radikal yang mengandung sulfur yang diproduksi pada oksidasi glutathion menghasilkan radikal thiol ($R-S^-$). Radikal yang mengandung nitrogen juga ditemukan, misalkan radikal fenyl diazine. (Arief, 2007).

Kelompok Oksigen Reaktif	
O ₂	Radikal Superoksida (Superoxide radical)
OH	Radikal hidroksil (Hydroxyl radical)
ROO	Radikal peroksil (Peroxyl radical)
H ₂ O ₂	Hydrogen peroksida (Hydrogen peroxide)
O ₂	Oksigen tunggal (Singlet oxygen)
NO	Nitrit oksida (Nitrit oxide)
ONOO?	Nitrit peroksida (Peroxynitrite)
HOCl	Asam hipoklor (Hypochlorous acid)

Tabel 2.1 Radikal Bebas Biologis

2.3.3 Sumber Radikal Bebas

Radikal bebas yang ada di tubuh manusia berasal dari 2 sumber, endogen dan eksogen. Sumber endogen itu terdiri dari autooksidasi, oksidasi enzimatis, dan respiratory burst. Sedangkan sumber eksogen terdiri dari obat – obatan, radiasi, dan asap rokok (Arief, 2007). Semua sumber terjadi melalui mekanisme reaksi. Yang pertama pembentukan awal radikal bebas (inisiasi), lalu perambatan atau terbentuknya radikal baru (propagasi), dan tahap terakhir, yaitu pemusnahan atau perubahan menjadi radikal bebas stabil dan tak reaktif (Sofia, 2005). Berikut penjelasan mengenai masing – masing sumber endogen dan sumber eksogen.

1. Sumber endogen, berasal dari dalam tubuh manusia sendiri
 - a. Autooksidasi

Produk ini berasal dari proses metabolisme aerobik. Molekul yang mengalami autoksidasi berasal dari katekolamin, hemoglobin, mioglobin, sitokrom C yang tereduksi, dan thiol. Autoksidasi dari molekul di atas menghasilkan reduksi dari oksigen diradikal dan pembentukan kelompok reaktif oksigen. Superoksida merupakan bentukan awal radikal. Ion ferrous (Fe II) juga dapat kehilangan elektronnya melalui oksigen untuk membuat superoksida dan Fe III melalui proses autoksidasi.

b. Oksidasi Enzimatik

Beberapa jenis sstem enzim mampu menghasilkan radikal bebas dalam jumlah yang cukup bermakna, meliputi xanthine oxidase (*activated in ischemiareperfusion*), *prostaglandin synthase*, *lipoxxygenase*, *aldehyde oxidase*, dan amino acid oxidase. Enzim *myeloperoxidase* hasil aktivasi netrofil, memanfaatkan hidrogen peroksida untuk oksidasi ion klorida menjadi suatu oksidan yang kuat asam hipoklor.

c. Ledakan Pernafasan

Merupakan terminologi yang digunakan untuk menggambarkan proses dimana sel fagositik menggunakan oksigen dalam jumlah yang besar selama fagositosis. Lebih kurang 70-90 % penggunaan oksigen tersebut dapat diperhitungkan dalam produksi superoksida. Fagositik sel tersebut memiliki ikatan membran flavoprotein cytochrome-b-245 NADPH oxidase. Enzim membran sel seperti NADPH-oxidase keluar dalam bentuk inaktif. Paparan terhadap bakteri yang diselimuti imunoglobulin, kompleks imun, komplemen 5a, atau leukotrien dapat mengaktifkan enzim NADPH-oxidase. Aktivasi tersebut mengawali respiratory burst pada membran sel untuk memproduksi superoksida. Kemudian H₂O₂

dibentuk dari superoksida dengan cara dismutasi bersama generasi berikutnya dari OH dan HOCl oleh bakteri.

2. Sumber eksogen , berasal dari luar tubuh manusia

a. Obat-obatan

Beberapa macam obat dapat meningkatkan produksi radikal bebas dalam bentuk peningkatan tekanan oksigen. Bahan-bahan tersebut bereaksi bersama hiperoksia dapat mempercepat tingkat kerusakan. Termasuk didalamnya antibiotika kelompok quinoid atau berikatan logam untuk aktifitasnya (nitrofurantoin), obat kanker seperti bleomycin, anthracyclines (adriamycin), dan methotrexate, yang memiliki aktifitas pro-oksidan. Selain itu, radikal juga berasal dari fenilbutason, beberapa asam fenamat dan komponen aminosalisilat dari sulfasalasin dapat menginaktivasi protease, dan penggunaan asam askorbat dalam jumlah banyak mempercepat peroksidasi lemak 2,4.

b. Radiasi

Radioterapi memungkinkan terjadinya kerusakan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas. Radiasi elektromagnetik (sinar X, sinar gamma) dan radiasi partikel (partikel elektron, photon, neutron, alfa, dan beta) menghasilkan radikal primer dengan cara memindahkan energinya pada komponen seluler seperti air. Radikal primer tersebut dapat mengalami reaksi sekunder bersama oksigen yang terurai atau bersama cairan seluler.

c. Asap rokok

Oksidan dalam rokok mempunyai jumlah yang cukup untuk memainkan peranan yang besar terjadinya kerusakan saluran napas.

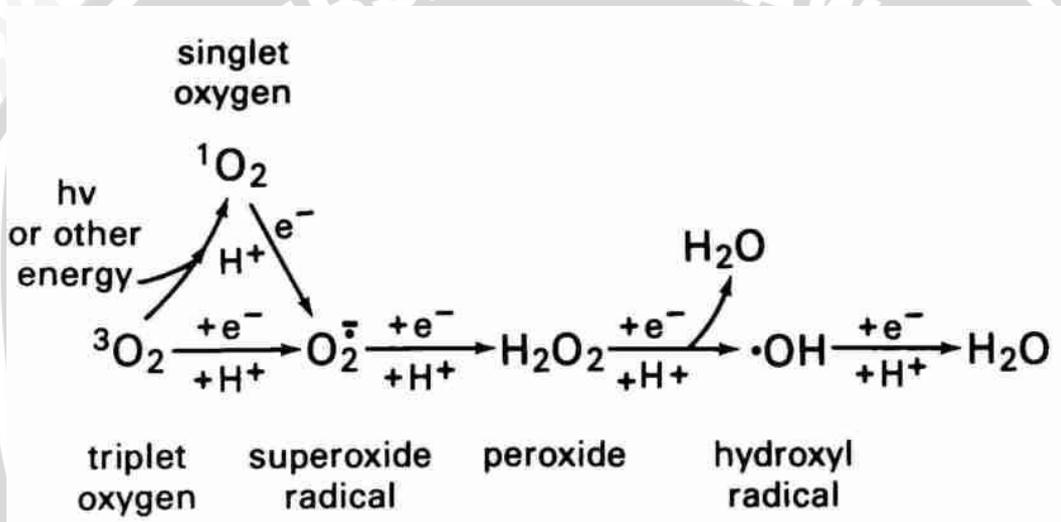
Telah diketahui bahwa oksidan asap tembakau menghabiskan antioksidan intraseluler dalam sel paru (in vivo) melalui mekanisme yang dikaitkan terhadap tekanan oksidan. Diperkirakan bahwa tiap hisapan rokok mempunyai bahan oksidan dalam jumlah yang sangat besar, meliputi aldehida, epoxida, peroxida, dan radikal bebas lain yang mungkin cukup berumur panjang dan bertahan hingga menyebabkan kerusakan alveoli. Bahan lain seperti nitrit oksida, radikal peroksil, dan radikal yang mengandung

karbon ada dalam fase gas. Juga mengandung radikal lain yang relatif stabil dalam fase tar. Contoh radikal dalam fase tar meliputi *semiquinone moieties* dihasilkan dari bermacam-macam *quinone* dan *hydroquinone*. Perdarahan kecil berulang merupakan penyebab yang sangat mungkin dari desposisi besi dalam jaringan paru perokok. Besi dalam bentuk tersebut menyebabkan pembentukan radikal hidroksil yang mematikan dari hidrogen peroksida. Juga ditemukan bahwa perokok mengalami peningkatan netrofil dalam saluran napas bawah yang mempunyai kontribusi pada peningkatan lebih lanjut konsentrasi radikal bebas (Arief, 2007).

2.3.4 Pembentukan Radikal Bebas dalam Sel

Radikal bebas itu diproduksi di dalam sel melalui reaksi pemindahan elektron, menggunakan mediator enzimatik atau non-enzimatik. Produksi radikal bebas di dalam sel dapat terjadi secara rutin maupun sebagai reaksi terhadap rangsangan. Secara rutin adalah superoksida yang dihasilkan melalui aktivasi fagosit dan reaksi katalisa seperti ribonukleotida reduktase. Sedang pembentukan melalui rangsangan adalah kebocoran superoksida, hidrogen

peroksida dan kelompok oksigen reaktif (ROS) lainnya pada saat bertemunya bakteri dengan fagosit teraktifasi. Pada keadaan normal sumber utama radikal bebas adalah kebocoran elektron yang terjadi dari rantai transport elektron, misalnya yang ada dalam mitokondria dan endoplasma retikulum dan molekul oksigen yang menghasilkan superoksida. Dalam kondisi yang tidak lazim seperti radiasi ion, sinar ultraviolet, dan paparan energi tinggi lainnya, dihaikkan radikal bebas yang sangat berlebihan (Arief, 2007).



Gambar 2.2 Sistem oksigen aktif

2.3.5 Reaksi Perusakan oleh Radikal Bebas

Tekanan oksidatif (*oxidative stress*) adalah suatu keadaan dimana tingkat oksigen reaktif intermediate (ROI) yang toksik melebihi pertahanan anti-oksidan endogen. Keadaan ini mengakibatkan kelebihan radikal bebas, yang akan bereaksi dengan lemak, protein, asam nukleat seluler, sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu. Lemak merupakan biomolekul yang rentan terhadap serangan radikal bebas.

a. Peroksidasi Lemak

Membran sel kaya akan sumber poly unsaturated fatty acid (PUFA), yang mudah dirusak oleh bahan – bahan pengoksidasi; proses tersebut dinamakan peroksidasi lemak. Hal ini merusak karena merupakan suatu proses berkelanjutan. Pemecahan hidroperoksida lemak sering melibatkan katalisis ion logam transisi.

b. Kerusakan Protein

Protein dan asam nukleat lebih tahan terhadap radikal bebas daripada PUFA, sehingga kecil kemungkinan dalam terjadinya reaksi berantai yang cepat. Serangan radikal bebas terhadap protein sangat jarang kecuali bila sangat ekstensif. Hal ini terjadi hanya jika radikal tersebut mampu berakumulasi (jarang pada sel normal), atau bila kerusakannya terfokus pada daerah tertentu dalam protein. Salah satu penyebab kerusakan terfokus adalah jika protein berikatan dengan ion logam transisi.

c. Kerusakan DNA

Pada DNA kerusakan terjadi sebelum replikasi maka akan terjadi mutasi. Radikal oksigen dapat menyerang DNA jika terbentuk disekitar DNA seperti pada radiasi biologis (Arief, 2007).

2.3.6 Stres Oksidatif

Stres oksidatif adalah keadaan yang ditandai oleh ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dalam tubuh (Setiawan dan Suhartono, 2005). Keadaan ini disebabkan molekul radikal bebas yang dihasilkan dari metabolisme tubuh, jumlahnya melebihi kapasitas tubuh untuk menetralsirnya. Akibat dari hal ini adalah intensitas proses oksidasi sel – sel tubuh yang normal menjadi semakin tinggi dan menimbulkan kerusakan yang lebih banyak. Keadaan stres

oksidatif membawa pada kerusakan oksdatif mulai dari tingkat sel, jaringan hingga ke organ tubuh. Kondisi sel – sel yang rusak inilah yang akhirnya bermanifestasi menjadi penyakit dan proses penuaan sel menjadi lebih cepat (premature aging). Stres oksidatif ini dapat terjadi karena dipicu oleh beberapa kondisi, namun pada dasarnya stres oksidatif ini terjadi akibat adanya ketidakseimbangan antara molekul radikal bebas dan penetralisirnya (antioksidan). Penyebabnya bisa dikarenakan kurangnya antioksidan atau kelebihan produksi radikal bebas oleh tubuh. Berbagai studi dan penelitian dunia kedokteran telah membuktikan bahwa lebih dari 50 macam penyakit yang ada diduga kuat berkaitan dengan aktivitas radikal bebas, diantaranya yaitu stroke, penyakit jantung koroner, diabetes melitus, asma, parkinson hingga AIDS. Pada kulit kita, radikal bebas yang diproduksi berlebih pada stres oksidatif akan merusak lapisan lemak pada membran sel kulit, akibat kulit menjadi kehilangan ketegangan dan elastisitasnya dan menyebabkan keriput (wrinkle) (Pamela, 2008).

2.4 Antioksidan

2.4.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Senyawa itu adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid. Senyawa yang secara nyata dapat memperlambat oksidasi, walaupun dengan konsentrasi yang lebih rendah sekalipun dibandingkan dengan substrat yang dapat dioksidasi (Priambodo , 2009).

2.4.2 Jenis Antioksidan

Antioksidan dibagi dalam 2 golongan besar yaitu yang larut dalam air dan larut dalam lemak. Setiap golongan dibagi lagi dalam kelompok yang lebih kecil. Sebagai contoh adalah antioksidan dari golongan vitamin, yang paling terkenal adalah vitamin C dan vitamin E. Vitamin C banyak kita peroleh pada buah – buahan sedangkan vitamin E banyak diperoleh dari minyak nabati.

Antioksidan dari golongan Enzim seperti golongan enzim Superoksida Dismutase (SODs), Katalase, dan Peroksidase. Antioksidan golongan Karetinoid seperti likopen dan karoten yang banyak terdapat pada buah dan sayuran.

Golongan antioksidan lain yang terkenal adalah antioksidan dari senyawa polifenol dan yang paling banyak diteliti adalah dari golongan flavonoid yang terdiri dari flavonols, catechins, flavones, anthocyanidins, dan isoflavanoids. Sumber senyawa polifenol adalah dari teh, kopi, buah – buahan, minyak zaitun, cinnamon, dan sebagainya. Contoh yang terkenal adalah Resveratrol yang ditemukan pada buah anggur, Epigallocatekin galat adalah contoh senyawa polifenol yang terdapat pada teh hijau, theaflavin pada teh hitam dan sebagainya (Bioaktifa, 2012).

Antioksidan juga bisa dibedakan berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik merupakan antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia dan telah diproduksi untuk tujuan komersial. Contohnya adalah butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat, tert-butil hidroksi quinon (TBHQ), dan tokoferol.

1. Butil Hidroksi Anisol (BHA): Memiliki kemampuan antioksidan yang baik pada lemak hewan dalam sistem makanan panggang, namun relatif tidak efektif pada minyak tanaman. BHA bersifat larut lemak dan tidak larut air, berbentuk padat putih dan dijual dalam bentuk tablet atau serpih, bersifat volatil sehingga berguna untuk penambahan ke materi pengemas.
2. Butil Hidroksi Toluena (BHT): Antioksidan sintetik BHT memiliki sifat serupa BHA, akan memberi efek sinergis bila dimanfaatkan bersama BHA, berbentuk kristal padat putih dan digunakan secara luas karena relatif murah.

2.4.3 Cara Kerja Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Karakter utama senyawa antioksidan adalah kemampuannya untuk menangkap radikal bebas. Mekanisme kerja antioksidan ada empat yaitu, mengikat reactive oxygen species (ROS) dan radikal nitrogen bebas, metabolisme peroksida lipid menjadi produk non radikal, mengkelat ion logam, mereduksi potensial oksidasi suatu molekul. Konsumsi antioksidan dapat mencegah stress oksidatif dan kerusakan sel yang dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti stroke dan penyakit neurodegeneratif (Septianingrum ER, 2009). Sedangkan menurut fungsinya, antioksidan dapat dibagi menjadi: 1. Tipe pemutus rantai reaksi pembentuk radikal bebas, dengan menyumbangkan atom H; 2. Tipe pereduksi, dengan mentransfer atom H atau oksigen; 3. Tipe pengikat logam mampu mengikat zat peroksidan, seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} , misalnya flavonoid; 4. Antioksidan sekunder, mampu mendekomposisi hidroperoksida menjadi bentuk stabil, pada manusia dikenal SOD, katalase, glutathion peroksidase (Hariyatmi, 2004).

2.5 Kacang Tunggak

2.5.1 Taksonomi Kacang Tunggak

Klasifikasi *Vigna unguiculata* L. menurut nomenklatur adalah

Divisio : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Rosales

Suku : Caesalpiniaceae

Marga : *Vigna*

Jenis : *Vigna unguiculata*

(Nur Kholis, dkk. 2010).

2.5.2 Morfologi Kacang Tunggak

Kacang tunggak merupakan tumbuhan tahunan yang melata, tegak hingga agak tegak, dengan sistem perakaran yang berkembang dengan baik. Batangnya berbentuk persegi, dengan buku biasanya berwarna ungu. Penumpunya jelas terlihat, berbentuk bundar telur, menempel. Daunnya berseling, berdaun tiga. Dua daun pertama berhadapan, tidak simetris. Daun yang teratas simetris berbentuk bundar telur, kadang – kadang bercuping dangkal. Bunga biasanya muncul di ketiak. Sedangkan kacang polongnya menggantung atau tegak agak menjalar, dengan panjang 10 – 30 cm. Bentuk dan ukuran bervariasi, berbentuk persegi hingga lonjong dengan lebar penampang 5 – 10 mm, warnanya juga beragam. Tumbuhan ini dapat tumbuh baik di bawah cahaya matahari dengan temperatur siang 25 – 35 °C dan temperatur malam tidak di bawah 15°C itu artinya bahwa penanaman terbatas pada ketinggian rendah dan sedang. Pada ketinggian di atas 700 m pertumbuhan akan lebih lambat. Penanaman pada musim kemarau dengan

irigasi besar dilakukan, seperti halnya penanaman sepanjang musim hujan, dengan ketentuan pengairan yang cukup. Penaburan benih pada saat musim hujan akan menyebabkan kerusakan pada pertumbuhan tanaman muda. Tanaman tumbuh baik pada lahan basah tapi apabila tiba – tiba terdapat suatu periode muncul air berlebih, akan menyebabkan kerusakan serius dan pengurangan hasil. Dapat tumbuh pada semua tipe lahan dari tanah berpasir ringan atau latosol hingga liat berat, dengan PH 5,5 – 7,5 (Nur Kholis, dkk. 2010).

Akar tanaman kacang tunggak menyebar pada kedalaman tanah antara 30 cm – 60 cm. Sifat penting dari akar tanaman kacang tunggak adalah dapat bersimbiosis dengan bakteri rhizobium sp., untuk mengikat nitrogen bebas (N_2) dari udara yang kemudian di bentuk menjadi nodula – nodula (bintil – bintil) akar. Tiap hektar kacang tunggak dapat menghasilkan 198 kg nodula/tahun, setara dengan 440 kg urea. Menanam kacang tunggak dapat memberikan dua manfaat bagi tanah yaitu sebagai penutup tanah (vegetasi) tanah pengendali erosi dan penghasil nodula/bintil akar sebagai sumber nitrogen penyubur tanah. Penelitian dan pengembangan kacang tunggak antara lain untuk menghasilkan varietas unggul, yaitu varietas yang memiliki daya hasil tinggi, berumur pendek, dan toleran terhadap penyakit bercak daun serta virus CMMV (Cowpea Mild Mottle Virus). Perbaikan varietas kacang tunggak dilakukan melalui persilangan, seleksi dan evaluasi terhadap varietas introduksi maupun varietas lokal (Aswan,2009).



Gambar 2.3 Kacang Tunggak (Forest & Kim Starr, 2008 dan H. Robertson, 2009)

2.5.3 Penyebaran Pertumbuhan Kacang Tunggak

Kacang tunggak (*Vigna unguiculata* L.) merupakan tanaman asal afrika (kelompok kultivar Ungiculata), India, dan Asia Tenggara (kelompok kultivar Biflora). Kacang tunggak kini dibudidayakan secara luas di seluruh daerah tropis dan subtropis, terutama di Afrika, Asia, terutama di India, Australia, Karibia, Amerika Serikat bagian Selatan. Nama bahasa Inggris kacang tunggak adalah common copea, black eye bean, dan southern pea (kelompok kultivar Ungiculata), catjang copea, sowpea (kelompok kultivar Biflora). Di Timor dibudidayakan secara tumpangsari dengan jagung bersama sama dengan kacang nasi (*Vigna umbellata*) (Mudita, 2012).

2.5.4 Kandungan Gizi Kacang Tunggak

Kacang tunggak dapat dikonsumsi pada setiap tahap pertumbuhannya sebagai sayuran. Daunnya yang bertekstur lembut merupakan sumber makanan penting di Afrika dan disajikan sebagai sayuran hijau seperti bayam. Polong mudanya seringkali dicampur dengan bahan makanan lainnya. Biji kacang tunggak yang berwarna hijau biasa direbus sebagai sayuran segar, atau juga dapat dikemas dalam kaleng atau dibekukan. Biji Kacang tunggak yang telah matang pada pengukuran 100 g mengandung 10 g air, 22 g protein, 1,4 g lemak, 51 g karbohidrat, 3,9 g vitamin, 3,7 g karbon, 104 mg kalsium dan nutrisi lainnya.

Energi yang dihasilkannya sekitarnya sekitar 1420 kJ/100 g. Pada biji yang masih muda dalam 100 g mengandung 88,3 air, 3 g protein, 0,2 lemak, 7,9 g karbohidrat, 1,6 vitamin, 0,6 karbon, dan energi yang dihasilkannya sekitar 155 kJ/100 g. Selengkapnya kandungan gizi dalam 100 g biji kacang tunggak bisa dilihat dalam Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Kandungan Gizi Kacang Tunggak Setiap 100g

No	Kandungan Gizi	Jumlah
1	Kalori	1420 kJ
2	Karbohidrat	51 g
3	Protein	22 g
4	Lemak	1,4 g
5	Kalsium	104 mg
6	Air	10 g
7	Carbon	3,7 g
8	Vitamin	3,9 g

(Aswan, 2009)

Pada subspecies kacang tunggak yaitu *Vigna unguiculata subs. unguiculata (black eye pea)* mengandung jumlah genistein tertinggi dibandingkan subspecies lainnya yaitu sebesar 16,9 $\mu\text{g/g}$, juga kadar kaempferol yang lebih tinggi dibanding subspecies lainnya yaitu sebesar 20,3 $\mu\text{g/g}$. *Vigna unguiculata subs. unguiculata* juga mengandung kadar myricetin sebesar 51,3 $\mu\text{g/g}$ dan quercetin sebesar 412,5 $\mu\text{g/g}$ (Wang, 2006).

2.5.5 Manfaat Antioksidan Kacang Tunggak

Kacang tunggak mengandung senyawa fenolik diantaranya tanin, asam ferulat, dan asam p-kumarat. Sebagian senyawa fenolik berperan sebagai zat antioksidan, namun adapula yang memiliki sifat antinutrisi. Senyawa fenolik merupakan senyawa antioksidan alami yang terdapat dalam bentuk senyawa aktif dalam makanan. Senyawa fenolik dapat mencegah berbagai jenis penyakit, seperti kanker dan jantung koroner. Senyawa ini pun berperan sebagai faktor pelindung terhadap bahaya oksidasi pada tubuh manusia.

Kacang – kacangan mengandung senyawa fenolik dalam beberapa bentuk. Senyawa fenolik yang terdapat dalam kacang – kacangan antara lain asam hidroksibenzoat, asam hidroksisinamat baik dalam bentuk bebas maupun terikat, flavonoids terutama flavan-3-ols, flavonols dan flavones yang terdapat dalam bentuk glikosida. Senyawa antioksidan ini adalah multifungsional dan dapat bereaksi sebagai (a) pereduksi, (b) penangkap radikal bebas, (c) pengkelat logam, (d) peredam terbentuknya singlet oksigen (Ningsih, 2007).

2.5.6 Mekanisme Kerja Antioksidan

Kacang tunggak memiliki kandungan isoflavon atau flavonoid yang berguna sebagai antioksidan. Isoflavon ini tidak disintesa oleh mikroorganisme. Dengan demikian, mikroorganisme tidak mempunyai kandungan senyawa ini. Senyawa isoflavon ini pada umumnya berupa senyawa kompleks atau konjugasi dengan senyawa gula melalui ikatan glikosida. Jenis senyawa isoflavon ini terutama adalah genistein, diadzin, dan glisin. Bentuk senyawa demikian mempunyai aktivitas fisiologis kecil. (Pawiroharsono, 2007).

Aktivitas penghambatan antioksidan dalam reaksi oksidasi berdasarkan keseimbangan reaksi oksidasi reduksi. Molekul antioksidan akan bereaksi

dengan radikal bebas dan membentuk molekul yang tidak reaktif dan dengan demikian reaksi berantai pembentukan radikal bebas dapat dihentikan. Tahap – tahap reaksi oksidasi meliputi inisiasi (pembentukan radikal lipid), propagasi dan terminasi (pembentukan produk non-radikal) sebagai berikut :



Dimana :

RH = lemak / minyak tidak jenuh

ROO* = radikal peroksida

R* = radikal asam lemak

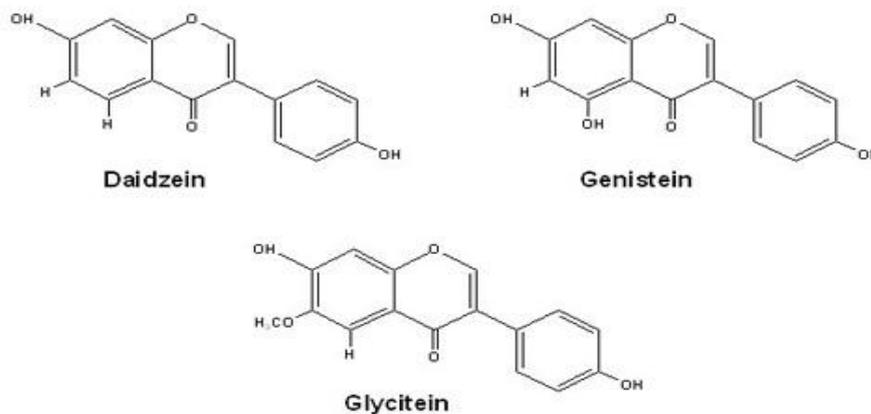
(Yuliana,2003)

2.5.7 Genistein

Genistein adalah isoflavone, menyerupai struktur kimia dari hormon yang ditemukan pada golongan kacang – kacang an. Beberapa penelitian mengemukakan bahwa genistein menunjukkan efek phytoestrogen dan antioksidan, dan sering digunakan untuk mengobati level atau kadar estrogen dalam tubuh. Konsentrasi genistein biasanya ditemukan di plasma, kadarnya mulai 50 – 800 ng / ml (Borras dkk,2006).

Genistein merupakan antioksidan yang kuat. Aktivitas ini dapat menjaga DNA dari kerusakan oksidasi, dan mutasi terjadi. Proses ini dapat juga menjaga kolesterol dari oksidasi dan berkontribusi terhindar dari serangan jantung.

Genistein sendiri memiliki formula kimia $C_{15}H_{10}O_5$. Gugus kimia seperti pada gambar 2.4 (George, 2012).

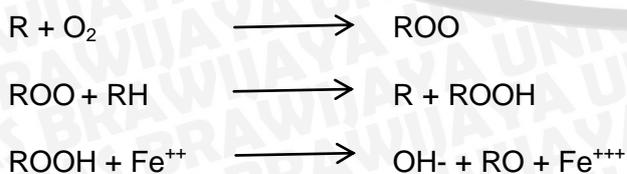


Gambar 2.4 Gugus Kimia Genistein, Daidzein, dan Glycitein (Barlow et al, 2007)

2.5.7.1 Cara Kerja Gensitein sebagai Antioksidan.

Genistein merupakan antioksidan yang kuat. Genistein bisa menekan kerusakan yan disebabkan oleh radikal bebas dan mengurangi terjadinya proksidasi lipid. Selain itu genistein mampu meningkatkan aktivitas enzim antioksidan yang lain seperti glutathione peroksidase, superoxide dismutase (SOD) dan glutathione reductase.

Suatu studi yang dilakukan Rakesh P. Patel, dkk menghasilkan bahwa genistein mampu menghambat terjadinya lipid peroksidasi. Normalnya jika tidak ada genistein, radikal bebas (+R) yang bereaksi dengan O_2 akan membentuk peroxy radical ($ROO\cdot$). Kemudian jika peroxy radical ini bereaksi dengan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA / dilambangkan LH) maka akan terjadi oksidasi yang menghasilkan hydroperoxide ($ROOH$) yang tidak stabil yang nantinya akan mengalami degenerasi menjadi, salah satunya, malondialdehyde (MDA) (Patel, et al, 2001).



Dengan keikutsertaan genistein maka peroxy radical (ROO) akan bereaksi dengan genistein (gen) tidak dengan PUFA. Hasilnya ialah phenoxyl radical (genistein radical/gen) dan hydroperoxide (REAKSI 1). Kemudian phenoxyl radical (gen) ini akan mengalami 3 kemungkinan reaksi, yaitu bereaksi dengan PUFA (REAKSI 2), bereaksi dengan antioksidan askorbat (REAKSI 4), atau mengalami reaksi tahap terminasi dengan peroxy radical (ROO) menjadi senyawa yang tidak reaktif lagi (REAKSI 3). Antara terjadinya REAKSI 2, REAKSI 3 dan REAKSI 4 terjadi secara kompetitif. Akibatnya kemungkinan terjadinya peroksidasi lipid bisa ditekan (Patel, et al, 2001)

2.5.7.2 Farmakokinetik

Absorpsi

Pada sebuah penelitian, genistein dengan cepat diabsorpsi, hal ini ditunjukkan dengan konsentrasi genistein di plasma yang menunjukkan pola satu puncak.

Sedangkan dosis maksimal agar genistein dapat sempurna oleh usus adalah sebesar 300 mg. (Ullman, 2008)

Waktu Paruh

Dengan dosis genistein sebesar 30 - 300 mg, waktu paruhnya sebanyak 7,7 – 10,2 jam (Ullman et al, 2008)

Konsentrasi maksimum dalam plasma darah

Konsentrasi yang mampu dicapai dalam plasma darah tercapai dalam selang waktu 4 – 6 jam setelah pemberian (Ullman et al, 2008)

Metabolisme dan Ekskresi

Genistein diabsorpsi dan mengalami siklus enterohepatik dan dapat diekskresikan melalui empedu, dikonjugasi melalui empedu, didekonjugasi oleh flora usus, direabsorpsi, dan direkonjugasi oleh liver, dan diekskresikan dalam urine. Lignan dan

isoflavon dapat diukur dalam urine, plasma, feces, semen, empedu, saliva, dan ASI (Murkise, 1998).

Di dalam saluran cerna manusia, enzim beta-glikosidase memotong rantai gula dari molekul tersebut dapat berasal dari usus halus (endogen) dan dapat juga berupa bakteri glikosida yang dihasilkan oleh mikroflora dalam usus. Para peneliti menyatakan bahwa kadar isoflavon dalam plasma pada setiap individu yang mengonsumsinya dalam jumlah yang sama dapat bervariasi. Hal ini sebagian mungkin disebabkan oleh fakta bahwa setiap individu yang berbeda bisa saja memiliki populasi mikroflora yang sangat berbeda, yakni beberapa populasi bisa lebih efisien dalam menghidrolisis glikosida dibandingkan dengan populasi yang lain (Kurniawati, 2006).

Setelah diglikosiliasi, aglikon bebas dapat diabsorpsi secara langsung (untuk genistein dan daidzein) atau didimetilasi oleh bakteri kolon (biochain A menjadi genistein, dan formononetin menjadi daidzein) sebelum absorpsi. Di hepar, mayoritas aglikon (-97%) dikongjugasi oleh asam glukoronat dan oleh sulfat (dalam jumlah yang lebih sedikit), sebelum memasuki sirkulasi hepatik. Kongjugasi ini memungkinkan isoflavon juga mengalami proses yang serupa (Kurniawati, 2006).

Setcel dkk mendemonstrasikan terhadap beberapa subyek, bahwa sementara glukosida dan aglikon diabsorpsi secara efisien, genistein membutuhkan rata – rata waktu 5,2 jam setelah pemberian untuk mencapai konsentrasi puncak dalam plasma, sementara daidzein membutuhkan waktu 6,6 jam. Tetapi, ketika subyek menelan bentuk glukosida (genistein dan daidzein), kadar puncak baru tercapai setelah 9,3 jam untuk genistein dan 9 jam untuk daidzein. Kadar puncak untuk glicitein terjadi kurang lebih 4 jam setelah pemberian glicitein. Secara keseluruhan, bioavailabilitas dari glukosida melebihi bioavailabilitas aglikon bebas. Para peneliti berspekulasi bahwa ini diakibatkan oleh molekul gula yang bertindak sebagai pelindung untuk menstabilkan isoflavon dan

degradasi dalam saluran cerna. Tercata juga bahwa isoflavon biochain A dan formononetin secara cepat didimetiliasi setelah pemberian, dan kemudian terdeteksi sebagai genistein dan daidzein dalam plasma (Kurniawati, 2006).

Bukti menunjukkan bahwa matriks makanan dimana isoflavon terkandung memiliki pengaruh pada kadar plasma dari genistein dan daidzein. Kecambah dari kedelai menghasilkan kadar daidzein yang lebih tinggi dan genistein yang lebih rendah. Di sisi lain, protein kedelai menghasilkan lebih banyak genistein dan daidzein yang lebih sedikit dalam plasma. Studi menunjukkan komponen spesifik pada isoflavon yang dapat menurunkan kolesterol dapat dipengaruhi oleh matriks makanan, yakni komponen yang terisolasi dapat dipengaruhi oleh matriks makanan, yakni komponen yang terisolasi tidak menurunkan kolesterol, sementara komponen yang terdapat dalam matriks protein kedelai dapat menurunkan kolesterol. Beberapa studi melaporkan bahwa absorpsi isoflavon lebih baik bila berasal dari bahan makanan yang difermentasikan bila dibandingkan dengan yang tidak difermentasikan (seperti susu kedelai). Beberapa strain bakteri yang digunakan dalam industri fermentasi produk kedelai, yaitu tempe, diketahui dapat membentuk bermacam – macam metabolit polihidroksilasi dari isoflavon (Kurniawati, 2006).

Toksisitas

Pada penggunaan genistein yang dimurnikan konsentrasinya mencapai 99,4 %, Hasilnya genistein aman dikonsumsi. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan signifikan pada tanda – tanda vital, ECG, dan tanda - tanda laboratorium klinis (Ullmann et al, 2008)

2.5.7.3 Farmakodinamik

Kandungan kacang tunggak yang paling penting sebagai antioksidan adalah Genistein. Dimana Genistein merupakan salah satu antioksidan kuat yang mampu

mencegah proses oksidasi dari radikal bebas sehingga dapat mencegah kemungkinan terjadinya kerusakan sel. Mekanisme kerjanya secara langsung melalui penangkapan radikal bebas, yaitu dengan mengubah O_2^- (ion superoksida yang merupakan metabolit tereduksi) yang dikatalisa reaksi dismutasi. (Challem, 2005).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah ada, diketahui bahwa genistein bekerja melalui dua jalur, yaitu dengan perantara reseptor estrogen (jalur estrogenik) dan yang tidak diperantarai reseptor 40 estrogen (jalur non-estrogenik). Mekanisme kerja genistein melalui jalur estrogenik dapat menimbulkan efek antioksidan, estrogenik, antiestrogenik. Sedangkan jalur non-estrogenik berupa inhibisi kanker (Challem, 2005)

1. Jalur Estrogenik

Jalur estrogenik merupakan aksi genistein yang berikatan dengan reseptor estrogen. Sebenarnya efek antioksidan bisa ditunjukkan melalui mekanisme kerjanya secara langsung melalui reaksi kimia dengan radikal bebas, yaitu dengan mengubah O_2^- (ion superoksida yang merupakan metabolit tereduksi) yang dikatalisa reaksi dismutasi. Hal ini dikarenakan adanya gugus hidroksil pada struktur fenolik genistein yang merupakan reduktor kuat. Posisi gugus hidroksil ini menentukan aktivitas antioksidan dari genistein (Kintono, 2010). Di sisi lain, karena genistein mampu mengikat reseptor estrogen dan beraksi seperti estrogen, maka jalur estrogenik diperoleh dengan mengikat reseptor estrogen dalam tubuh. Kemampuan ini dikarenakan strukturnya mirip dengan estrogen endogen manusia (Adam, 2005).

Reseptor estrogen spesifik terdiri dari 2 jenis, yaitu reseptor estrogen α ($E \alpha$) dan reseptor estrogen β ($E \beta$) yang memediasi aksi estrogen dan isoflavon dalam jalur yang saling berlawanan. Pada saat estrogen mengikat reseptor estrogen α , gen yang menginduksi proliferasi sel teraktivasi. Sebaliknya, proliferasi sel diinhibisi oleh aktivitas reseptor estrogen β . Isoflavon tidak dapat menggeser ikatan estrogen dengan

reseptornya apabila sudah terjadi 41 ikatan . Namun , pada konsentrasi yang tinggi isoflavon dapat secara kompetitif mengikat reseptor estrogen β , yang kemungkinan akan menginduksi terjadinya inhibisi proliferasi sel dan menurunkan resiko terjadinya kanker payudara (Adam, 2005).

Penelitian yang dilakukan Borrás *et. al.* (2006) menunjukkan bahwa efek antioksidan genistein lebih dikarenakan *up*-regulasi ekspresi gen antioksidan endogen yang melibatkan aktivasi *extracellular-signal regulated kinase* (ERK1/2) dan *nuclear factor κ B* (NF κ B). Mekanisme kerja klasik dari estrogen dan isoflavon fitoestrogen (seperti genistein) melibatkan reseptor estrogen intrasel. Kompleks hormon-reseptor ini akan berikatan dengan *estrogen response element* (ERE) spesifik pada region promotor dari gen tertentu yang *estrogen-responsive* sehingga menyebabkan aktivasi transkripsional gen target tersebut. Di sisi lain, aktivasi gen target oleh estrogen juga dimediasi oleh faktor transkripsi lain yang independen ERE, seperti *activating protein* (AP)-1 dan NF κ B.

Dari penelitian yang dilakukan pada sel MCF-7 (human mammary gland tumor cell line), diketahui bahwa genistein dalam konsentrasi rendah (0,5 μ M) mampu meningkatkan kapasitas antioksidan dalam sel melalui aktivasi jalur pensinyalan (0,5 μ M, 3-30 menit) yaitu diawali dengan pengikatan ER- β , kemudian diikuti oleh fosforilasi cepat (aktivasi) ERK $\frac{1}{2}$ dan NF κ B, serta translokasi subunit p50 pada kompleks NF κ B ke nukleus, yang menyebabkan transaktivasi ekspresi MnSOD. Peningkatan ekspresi mRNA MnSOD sebagai respon terapi genistein menyebabkan penurunan kadar peroksida intersel (Borrás, 2006)

Selain mengaktivasi reseptor estrogen α atau reseptor estrogen β , genistein mempunyai efek lain dalam hal mempengaruhi sintesa estrogen dan degradasinya. Genistein menghambat aktivitas beberapa enzim yang berpartisipasi dalam metabolisme

estrogen. Genistein menghambat enzim yang memecah estrogen (Enzim sitokrom P450 (CYP450)). Efek inhibisi ini akan mengakibatkan kadar estrogen tubuh meningkat. Selain itu, efek inhibisi ini dapat menguntungkan karena enzim CYP450 juga dikenal memproduksi metabolit yang bersifat karsinogenik. Genistein juga menghambat enzim lain (sulfotransferase atau SULT), dimana efek enzim ini adalah mengekskresikan estrogen dari dalam tubuh (Adams, 2005).

2. Jalur Non estrogenik

Mekanisme kerja genistein yang lain yaitu melalui via jalur yang tidak bersangkutan dengan estrogen. Efek-efek antiproliferasi ini pada umumnya terjadi saat genistein terdapat dalam konsentrasi tinggi di dalam tubuh (Adams, 2005)

□ Inhibisi proliferasi sel yang diinduksi oleh *growth factor*

Genistein adalah penghambat reseptor membran untuk sinyal pertumbuhan (Protein tyrosin kinase atau PTK). Reseptor-reseptor ini menghubungkan sinyal dari *growth factor* ekstraseluler ke dalam nukleus menuju gen yang mengontrol pertumbuhan sel. Sejumlah studi telah menunjukkan bahwa genistein menghambat reseptor-43 reseptor membran ini (PTKs), yang menyebabkan efek antiproliferasi (Adams, 2005).

□ Stimulasi Kematian sel yang terprogram

Genistein memediasi 2 gen yang bersangkutan dengan proses kematian sel yang terprogram. *Gen Bcl-2* mencegah kematian sel dan *Gen Bax* mengakibatkan kematian sel. Genistein menyebabkan *down regulation* dari gen yang mencegah kematian sel (*Bcl-2*) dan menyebabkan *up regulation* gen yang mengakibatkan kematian sel (*Bax*), sehingga genistein menyebabkan peningkatan eliminasi sel oleh proses kematian sel yang terprogram (Adams, 2005).

□ **Aktivasi Gen Penekan tumor**

Terdapat gen lain yang dipengaruhi oleh genistein yaitu gen penekan tumor (p21) yang menyebabkan penghentian siklus sel dan menghentikan pembelahan sel. Genistein menyebabkan *up regulation* terhadap aktivitas gen ini dalam percobaan-percobaan *in vitro*. Hal ini kembali mengakibatkan peningkatan kematian sel (Adams, 2005).

□ **Inhibisi metabolisme yang mendukung tumor**

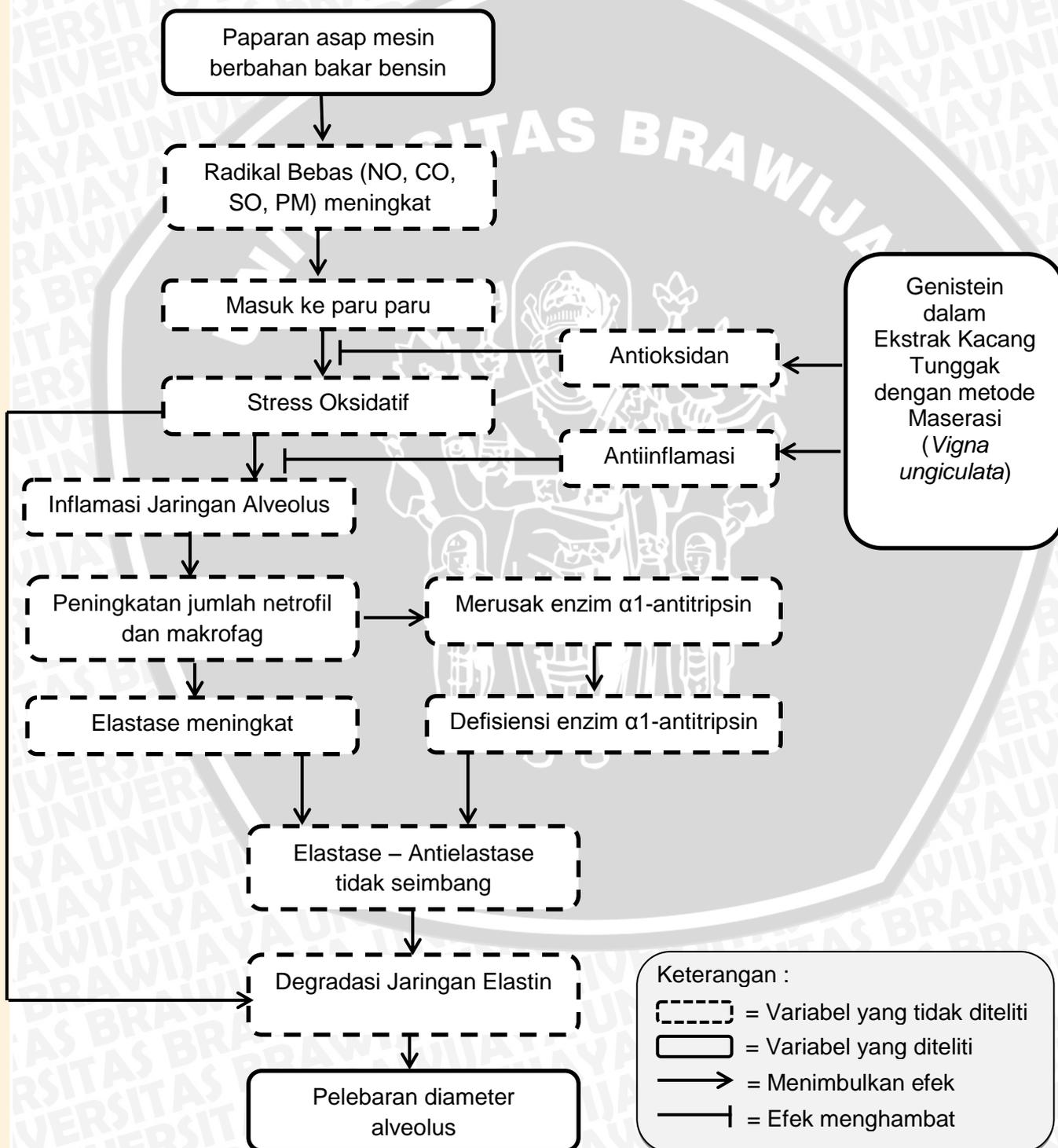
Efek antiproliferasi tambahan dari genistein diperkirakan berupa efek inhibisi angiogenesis dan respon stress. Angiogenesis adalah pembentukan pembuluh-pembuluh darah baru yang penting bagi terjadinya pertumbuhan jaringan, termasuk jaringan tumor. Jadi, efek inhibisi angiogenesis oleh genistein menurunkan kemampuan jaringan tumor untuk tumbuh (Adams, 2005).

Terdapat juga hipotesa mengenai kemampuan genistein untuk menghambat protein stres. Terdapat bukti bahwa protein yang dilepaskan ke dalam tubuh sebagai respon terhadap stres dari lingkungan (seperti protein yang terkait glukosa) dapat melindungi sel dari proses kematian sel yang terprogram, sehingga hal ini dapat menstimulasi pertumbuhan tumor. Hal ini mengartikan bahwa efek inhibisi genistein terhadap protein-protein stress akan mengurangi perlindungan sel-sel tumor terhadap kematian sel yang terprogram (Adams, 2005).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

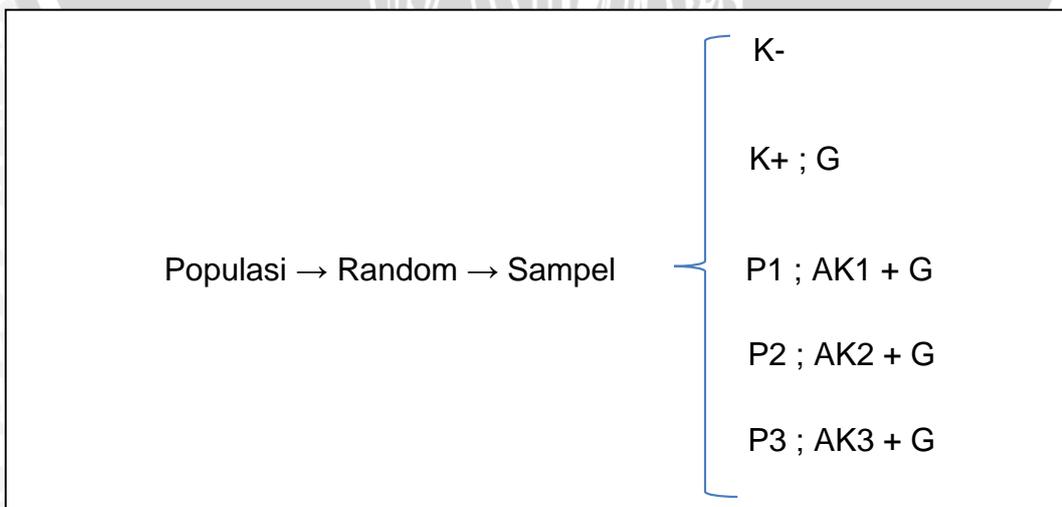
Asap mesin berbahan bakar bensin mengandung zat – zat radikal bebas seperti, NO, SO, CO, dan *partikulat matter*. Semua zat itu bercampur dengan kandungan udara yang kita hirup setiap harinya. Akhirnya zat – zat itu terinhalasi masuk ke paru – paru. Akibat paparan secara terus menerus dari asap mesin pembakar bensin, maka jumlah radikal bebas di tubuh semakin meningkat dan melibihi jumlah antioksidan di dalam tubuh. Kondisi seperti ini dinamakan stress oksidatif, dimana jumlah radikal bebas lebih banyak daripada jumlah antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas sendiri setelah memasuki tubuh, maka dia akan langsung merusak sel target. Target utama dari radikal bebas adalah peroksidasi lipid membran sel sehingga nantinya fungsi dan permeabilitas dari membran plasma menurun (Machlin, 1987).

Akibat dari stres oksidatif yang dikarenakan jumlah radikal bebas di jaringan terus meningkat, akibatnya tubuh meresponnya dengan reaksi inflamasi. Jumlah neutrofil dan makrofag semakin meningkat. Di neutrofil ini kaya akan elastase dan enzim katabolik lainnya. Di samping itu, asap rokok mempercepat inaktivasi dari enzim antielastase atau enzim $\alpha 1$ -antitripsin. Akibatnya terjadi penurunan dari enzim $\alpha 1$ -antitripsin. Terjadi keadaan dimana jumlah enzim elastase lebih banyak daripada enzim antielastase. Enzim elastase – antielastase adalah enzim yang mengatur kelenturan dari dinding alveolus saat terjadi proses respirasi. Akibat dari ketidakseimbangan itu, maka kerja alveoli paru saat respirasi tidak efektif. Dinding alveoli paru bisa meregang , tapi tidak bisa mengerut lagi. Akibatnya ukuran dari diameter alveoli paru melebar.

BAB IV
METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan metode Randomized post test controlled group design untuk mengetahui pengaruh genistein dalam ekstrak kacang tunggak terhadap diameter alveoli pada sediaan histopatologi paru tikus yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin. Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus di mana setiap tikus memiliki probabilitas yang sama untuk mendapatkan perlakuan sehingga dapat menjaga validasi generalisasi ke populasi. Perlakuan pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak kacang tunggak pada tikus yang terpapar asap mesin berbahan bakar bensin dengan waktu yang berbeda – beda. Tikus – tikus yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok dan masing-masing kelompok ada 6 ekor tikus. Secara skematis, rancangan penelitian tersebut digambarkan dalam gambar 4.1 dibawah ini :



Gambar 4.1 Skema Penelitian

Keterangan :

- AP : Asap mesin Pembakar bensin
- G : Genistein
- K- : Kontrol Negatif (Tanpa paparan asap mesin berbahan bakar dan tanpa Pemberian Ekstrak Kacang Tunggak / genistein).
- K+ : Kontrol Positif (Tanpa paparan asap mesin berbahan bakar bensin, dan diberi Ekstrak kacang tunggak / genistein).
- P1 : Perlakuan 1 (Dipapar asap mesin berbahan bakar bensin selama 2 menit dan oksigen 8 menit perhari sampe 1 bulan dan diberi Ekstrak kacang tunggak / genistein).
- P2 : Perlakuan 2 (Dipapar asap mesin berbahan bakar bensin selama 4 menit dan oksigen 8 menit perhari sampe 1 bulan dan diberi Ekstra kacang tunggak / genistein).
- P3 : Perlakuan 3 (Dipapar asap mesin berbahan bakar bensin selama 8 menit dan oksigen 8 menit perhari sampe 1 bulan dan diberi Ekstrak kacang tunggak / genistein).

Setelah perlakuan selama 1 bulan, maka organ paru – paru diambil, dan dibuat sediaan histopatologinya. Setelah itu dilakukan penghitungan ukuran diameter alveolus paru dengan pembesaran 400x. Lalu keluar hasil dan hasil itu dianalisis.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi yang menjadi hewan coba ini adalah tikus putih galur winstar (*Rattus novergicus*) yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Brawijaya, dengan kriteria :

a. Kriteria inklusi:

- Tikus jantan berusia 3-4 bulan
- Berat badan sekitar 250-300 gram
- Kondisi badan sehat yang ditandai dengan mata jernih, bulu mengkilap, gerakan aktif dan lincah, dan faeces tidak lembek.

b. Kriteria eksklusi

- Tikus yang sakit
- Pernah digunakan di eksperimen lain

Jumlah sampel yang diperlukan untuk masing – masing kelompok perlakuan dihitung berdasarkan rumus di bawah ini

(Supranto,2000):

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

dengan r = jumlah sampel tiap perlakuan

t = jumlah perlakuan, dimana dalam penelitian ini ada 9

kelompok perlakuan

sehingga:

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

$$(9-1)(r-1) \geq 15$$

$$(r-1) \geq 15/8$$

$$(r-1) \geq 1,875$$

$$r \geq 2,875$$

$$r \geq 3$$

Jadi, minimal yang dibutuhkan adalah 3 ekor tikus untuk tiap kelompok perlakuan. Akan tetapi, dalam penelitian ini digunakan 5 ekor tikus untuk masing – masing perlakuan sehingga di dapatkan tikus sejumlah 45 ekor tikus penelitian.

4.3 Variable Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

- a. Lama paparan asap mesin berbahan bakar bensin
- b. Dosis genistein pada ekstrak kacang tunggak pada kelompok perlakuan sebanyak 2 ml/hari..

4.3.2 Variabel Kontrol

Perubahan diameter alveolus paru – paru

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang selama 2 bulan dari bulan Januari sampai bulan Maret 2012.

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

4.5.1.1 Bahan Ekstraksi Kacang Tunggak

Pada proses ekstraksi dengan metode Maserasi digunakan bahan berikut:

1. Biji Kacang Tunggak
2. Etanol 96,5 (pelarut)
3. Aquades

4.5.1.2 Bahan Bakar Paparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin

Bahan bakar yang digunakan adalah bensin premium murni dengan nilai oktan sebesar 88

4.5.1.3 Bahan Pengambilan Organ Paru – Paru Tikus

Untuk pengambilan organ paru – paru tikus bahan yang dibutuhkan selain tikus penelitian adalah sebagai berikut:

1. Eter
2. Kapas
3. Formalin 10%

4.5.1.4 Bahan Pembuatan Sediaan Histopatologi Paru Tikus

Bahan – bahan yang dibutuhkan dalam pembuatan sediaan histopatologi paru tikus adalah:

1. Alkohol dengan berbagai konsentrasi
2. Xylol
3. *Counter staining*
4. Cat Hematoksilin-Eosin (HE)
5. Parafin lunak
6. Sediaan paru tikus penelitian
7. Ammonium
8. Parafin Keras
9. Canadian Balsam / Entellan
10. Alkohol Asam
11. Aquades

4.5.2 Alat Penelitian

4.5.2.1 Alat untuk Membuat Ekstrak Kacang Tunggak

- a. Oven
- b. Timbangan (1)
- c. Blender
- d. Gelas Erlenmeyer (2)
- e. Corong Gelas (1)
- f. Labu Evaporator (1)
- g. Kertas Saring (1)
- h. Evaporator (1)
- i. Labu Penampung Etanol (1)
- j. Selang Water Pump
- k. Pendingin Spiral / Rotary Evaporator (1)
- l. Water Bath
- m. Water Pump
- n. Botol Hasil Ekstrak
- o. Vacum Pump (1)

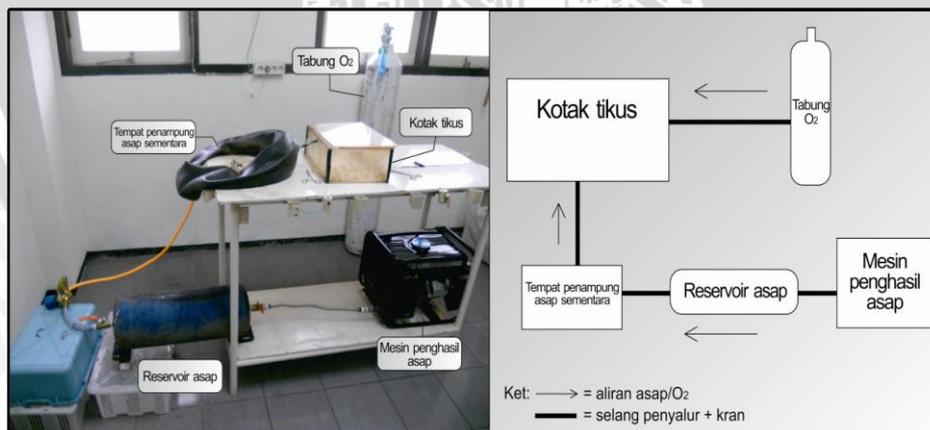
4.5.2.2 Kotak Tempat Paparan Tikus

Kotak tempat memapar tikus dengan asap mesin berbahan bensin terbuat dari bahan mika dengan ukuran 25,5 x 12 x 37 cm.

4.5.2.3 Mesin Pemberian Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin

Mesin berbahan bakar bensin yang ada di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Alat ini terdiri dari beberapa komponen, kotak tempat tikus, mesin genset mikawa berbahan bakar bensin, tabung kompresor, ban dalam mobil, tabung O₂ dengan tekan 10 mmhg dan alat pengatur tekanan udara. Adapun spesifikasi genset mikawa sebagai berikut :

- Type : MK2500
- Dimension: 460x380x390
- Net Weight: 25 kg
- Rated Power: 1000w Max: 1200w
- Rated Voltage: 220v
- Rated Freq: 50 hz
- Rated Current: 8.3A
- DC rated voltage: 12v
- DC rated current: 8.3A
- Type: Aircooled single cyl, 4stroke
- Starter: Manual(Recoil)
- Operation time: 9 hour



Gambar 4.2 Mesin untuk Pemberian Asap Kendaraan Bermotor

4.5.2.4 Alat Pemberian Ekstrak Kacang Tunggak pada Tikus

Pemberian ekstrak kacang tunggak pada tikus digunakan alat spuit atau sonde. Sonde di pasang di ujung spuit lalu dimasukkan kedalam gaster tikus.

4.5.2.5 Alat Pengambilan Alveoli Paru Tikus

Pengambilan alveoli paru tikus dibutuhkan alat – alat sebagai berikut:

1. Tabung sementara pengawetan paru - paru
2. Kotak tertutup
3. Alat bedah minor
4. Parafin untuk memfiksasi tikus saat dibedah

4.5.2.6 Alat Pembuatan Sediaan Histopatologi Paru Tikus

Dalam pembuatan sediaan histopatologi paru tikus dibutuhkan alat – alat sebagai berikut:

1. Mikrotom
2. *Cover glass*
3. *Object glass*

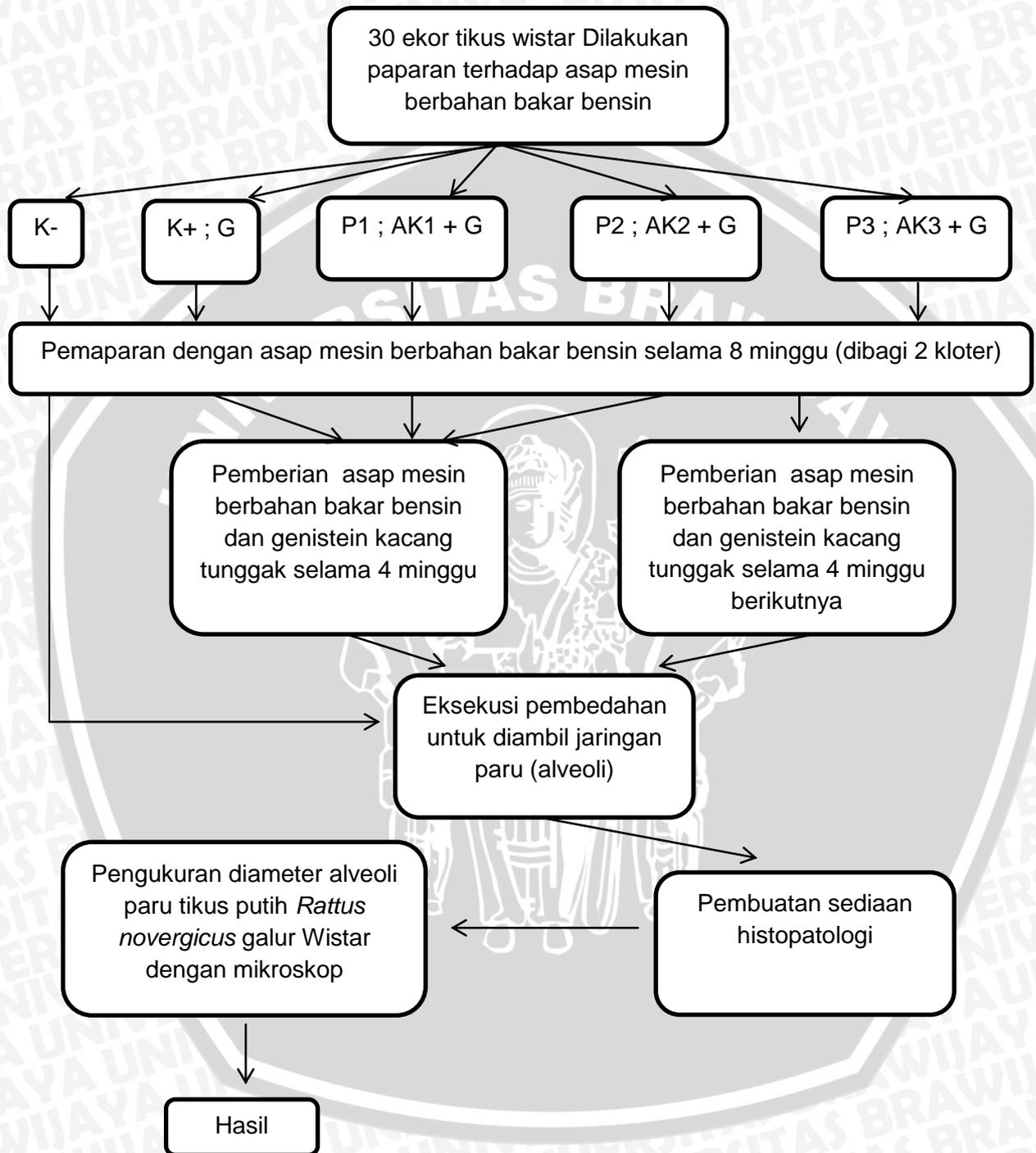
4.6 Definisi Operasional

1. Hewan coba tikus : yang digunakan adalah tikus puth galur Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan berumur 3 – 4 bulan dengan berat badan 250-300 gram. Tikus diperoleh dari Laboratorium Farmakologi FKUB. Tikus yang sudah disiapkan dibagi menjadi 5 kelompok dimana masing – masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Satu kelompok sebagai kontrol negatif, satu kelompok lagi sebagai kontrol positif, dan tiga kelompok lain sebagai kelompok perlakuan. Penelitian menggunakan tikus ini juga dimintakan sertifikat laik etik penelitian menggunakan hewan coba.

2. Paparan asap mesin berbahan bakar bensin: pemaparan dengan menggunakan alat bantu mesin yang dapat menyalurkan asap hasil pembakaran bahan bakar mesin ke dalam kotak tempat tikus perlakuan.
3. Ekstrak kacang tunggak : diperoleh dari kacang tunggak KT-6 yang telah melalui proses ekstraksi metode Maserasi yang hasilnya kemudian diluapkan dari pelarutnya (etanol 96 %) menggunakan rotary evaporator. Hasil yang didapat adalah ekstrak kasar kacang tunggak.
4. Diameter alveoli paru : Alveoli paru berupa kantung berbentuk bulat/polyhedral dengan pembatas berepitel pipih yang disebut dinding alveoli. Diameter alveoli paru adalah rata-rata minimal 3 jarak terjauh dinding alveolus yang dihitung dengan mikrometer okuler dan kemudian dikalibrasi dengan mikrometer obyektif.



4.7 Alur Kerja



Keterangan :

- AP : Asap mesin pembakar bensin
- G : Genistein
- K- : Kontrol Negatif (Tanpa paparan asap mesin berbahan bakar bensin dan tanpa Pemberian Ekstrak Kacang Tunggak / genistein).
- K+ : Kontrol Positif (Tanpa paparan asap mesin berbahan bakar bensin , dan diberi Ekstrak kacang tunggak / genistein).
- P1 : Perlakuan 1 (Dipapar Asap mesin berbahan bakar bensin selama 2 menit dan oksigen 8 menit perhari sampe 1 bulan dan diberi Ekstrak kacang tunggak / genistein).
- P2 : Perlakuan 2 (Dipapar asap mesin berbahan bakar bensin selama 4 menit dan oksigen 8 menit perhari sampe 1 bulan dan diberi Ekstra kacang tunggak / genistein).
- P3 : Perlakuan 3 (Dipapar asap mesin berbahan bakar bensin selama 8 menit dan oksigen 8 menit perhari sampe 1 bulan dan diberi Ekstrak kacang tunggak / genistein).

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Ekstraksi Kacang Tunggak

Untuk mendapatkan kandungan zat aktif genistein dalam kacang tunggak diperlukan suatu proses pengekstrakan. Dalam penelitian ini dilakukan dengan metode Maserasi. Cara kerjanya adalah sebagai berikut:

A. Proses pengeringan

1. Kacang tunggak (sample basah) dicuci bersih sebelum dikeringkan

B. Selanjutnya dimasukkan oven dengan suhu 40-60°C atau dengan panas matahari hingga kering.

C. Proses Ekstraksi

1. Setelah kering, dihaluskan dengan blender sampai halus
2. Ditimbang sebanyak 100 gram (sample kering)
3. Dimasukkan 100 gram sample kering ke dalam gelas erlenmeyer ukuran $\pm 1L$
4. Kemudian direndam dengan etanol sampai volume 900 mL
5. Dikocok sampai benar benar tercampur (± 30 menit)

6. Didiamkan 1 malam sampai mengendap
7. Diambil lapisan atas campuran etanol (pelarut) dengan zat aktif yang sudah tercampur (bisa dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring).
8. Proses perendaman ini dilakukan sampai 3 kali.

D. Proses Evaporasi

1. Hasil dari proses ekstraksi dimasukkan dalam labu evaporasi
2. Labu evaporasi dipasang pada evaporator
3. Water bath diisi dengan air sampai penuh
4. Semua rangkaian alat dipasang termasuk rotary evaporator, pemanas water bath (diatur sampai 90°C atau sesuai dengan Titik Didih Pelarut), kemudian disambungkan dengan aliran listrik.
5. Larutan etanol dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu evaporasi.
6. Ditunggu sampai aliran etanol berhenti menetas pada labu penampung ($\pm 1,5$ sampai 2 jam untuk 1 labu) ± 900 ml.
7. Hasil yang diperoleh kira-kira $\frac{1}{4}$ dari bahan kering.
8. Kemudian disimpan dalam freezer.

4.8.2 Penentuan Dosis Ekstrak Kacang Tunggak

Dalam penelitian ini dosis ekstrak bukan variabel bebas yang bisa diubah – ubah karena variabel bebas sebenarnya adalah lama waktu paparan terhadap asap mesin pembakar bensin. Oleh karena itu, digunakan dosis tunggal dalam penelitian ini. Dosis efektif yang dapat menimbulkan efek antioksidan ekstrak kacang tunggak adalah 0,5 ml/kgBB. Hal ini didasarkan pada penelitian Christina (2010) dan Kintono (2010) yang membuktikan efek ekstrak kacang tunggak

dalam meningkatkan kadar SOD dan menurunkan MDA serum tikus yang dioverektomi. Apabila penggunaan genistein dalam ekstrak kacang tunggak melebihi dosis efektif, maka yang terjadi efek antioxidant dalam genistein akan menjadi radikal bebas untuk tubuh kita sendiri.

4.8.3 Persiapan Hewan Coba

Sebelum penelitian dimulai dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan yang ditempatkan pada suhu ruang 20-25°C, sekam yang diganti tiap 2 hari, tempat makan dan minum, serta makanan berbentuk pelet dengan kebutuhan perhari 50 gram/ekor. Tikus-tikus penelitian dibagi menjadi 5 kelompok yang masing – masing terdiri dari 5 ekor, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan I, kelompok perlakuan II, dan kelompok perlakuan III.

4.8.4 Pemberian Ekstrak Kacang Tunggak pada Tikus

Pemberian ekstrak kacang tunggak pada kelompok tikus yang akan diberi perlakuan dilakukan melalui alat sonde sesuai dengan dosis yang sudah ditentukan secara per oral. Sonde dipasang pada ujung spuit kemudian dimasukkan ke dalam mulut tikus Wistar sehingga mencapai esophagus bahkan sampai lambung.

4.8.5 Pemaparan Asap Mesin Pembakar Bensin

Pemaparan asap mesin pembakar bensin dilakukan selama 8 minggu dengan total masing – masing kelompok 4 minggu pemaparan.

Cara pemaparan :

1. Tikus ditimbang berat badannya dengan neraca Ohaus sebelum pemaparan.
2. Tempat pemaparan dibersihkan dari kotoran dan asap.

3. Peralatan yang akan digunakan untuk pemaparan diperiksa terlebih dahulu dan dipastikan dapat berfungsi dengan baik
4. Mesin berbahan bakar bensin dihidupkan terlebih dahulu selama 4 menit dengan tujuan agar asap yang keluar dapat mengisi di ruang ban dengan penuh.
5. Ukuran gas di atur dengan ukuran yang tetap dan banyaknya asap yang keluar menggunakan ukuran ban terisi penuh dengan asap.
6. Kelompok perlakuan I, II, dan III, sebelum dilakukan pemaparan tikus diberikan ekstrak kacang tunggak 30 menit sebelumnya.
7. Selanjutnya tiga ekor tikus (satu kelompok perlakuan) dimasukkan ke dalam kotak dan segera ditutup. Dalam penelitian ini, satu kelompok perlakuan dibagi menjadi 2 tahap pemaparan, masing – masing 3 ekor tikus.
8. Pemaparan asap mesin pembakar bensin dilakukan dengan cara menyalakan mesin dan kran penyalur asap dan O_2 sesuai dengan waktu yang telah ditentukan untuk masing – masing kelompok perlakuan yaitu dengan waktu 2 menit, 3 menit, 4 menit.
9. Setelah itu mesin dan kran penyalur dimatikan, lalu tutup kotak dibuka dan tikus dipindahkan ke kandang semula.
10. Setiap pemaparan asap kendaraan berikutnya, kotak selalu dibersihkan dahulu dari sisa asap mesin sebelumnya.
11. Perlakuan ini berulang ulang untuk kelompok perlakuan berikutnya.

4.8.6 Pengambilan Organ Paru – Paru Tikus

Dalam penelitian ini organ paru – paru tikus yang akan diambil adalah paru - parunya, dimana akan dibuat sediaan histopatologinya untuk diamati dan

diukur diameter alveoli paru - parunya. Cara kerja pengambilannya adalah sebagai berikut:

1. Hewan coba tikus dianastesi dengan cara dimasukkan ke dalam kotak yang di dalamnya berisi kapas yang telah dituangi eter.
2. Tikus dibiarkan lemas dan tidak bergerak lagi
3. Lalu dilakukan pembedahan dan diambil organ paru - parunya.
4. Paru - paru yang telah diambil, diletakkan dalam tabung sementara dan difiksasi dengan formalin 10%.
5. Masing – masing tabung diberi identitas sesuai dengan kelompok perlakuan.
6. Organ paru - paru selanjutnya siap untuk dibuat preparat histologi.

4.8.7 Pembuatan Sediaan Histopatologi Paru - Paru Tikus

Pembuatan sediaan histopatologi paru - paru tikus dilakukan di Laboratorium Histopatologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Cara kerja pembuatan sediannya sebagai berikut:

1. Setelah direndam. Jaringan paru didehidrasi dengan merendamnya pada alkohol dengan konsentrasi bertingkat, yaitu konsentrasi 30%, 50%, 70%, 95%, dan dua kali alkohol absolut. Semua perendaman pada fase dehidrasi ini dilakukan masing – masing 30 menit.
2. Setelah semua proses perendaman selesai, dilanjutkan dengan proses clearing, yaitu dengan merendam sediaan pada xylol sebanyak 2 kali masing – masing selama 1 jam.
3. Lalu dilakukan proses infiltrasi dengan parafin lunak pada suhu 42-46°C selama dua kali satu jam.
4. Dilakukan *blocking* dengan parafin keras pada suhu 46-52°C selama 1 jam.

5. Kemudian disliding pada mikrotom rotary dengan suhu 4-6 mm.
6. Dipanaskan dengan suhu 60°C.
7. Dilakukan deparafinasi dengan perendaman jaringan pada cairan xylol selama dua kali lima menit.
8. Selanjutnya dilakukan perendaman dalam alkohol bertingkat dengan ukuran konsentrasi terbalik mulai dari alkohol 95%, 85%, 75%, 50%, 30% dan terakhir dengan aquades selama 3 menit.
9. Terakhir dilakukan pewarnaan dengan HE sebagai berikut:
 - a. Pemberian HE 15 menit
 - b. Direndam pada alkohol asam selama 3-10 detik
 - c. Diberi cairan ammonium selama 3-10 detik
 - d. Pemberian *counter staining* selama 15-20 detik
 - e. Dehidrasi pada alkohol bertingkat (50%, 70%, 85%, 90%, dua kali alkohol bebas)
 - f. Pemberian xylol 5 menit
 - g. Dilakukan *mounting* menggunakan entellan
10. Sediaan sel diamati dengan mikroskop dna dibuat dokumentasi dengan kamera

4.8.8 Metode Pengukuran Diameter Alveoli Paru Tikus

Sediaan paru diamati menggunakan mkroskop dengan pembesaran 400x. Pengukuran diameter alveoli paru menggunakan mikrometer okuler yang sudah dikalibrasi dengan mikrometer obyektif yang dipasang pada mikroskop. Perhitungan diameter alveoli paru ditentukan secara acak dengan cara sebagai berikut:

- Menentukan batas atas, bawah, kanan, kiri sediaan paru dengan tujuan untuk memastikan lapang pandang pengamatan. Batas ditentukan dengan mencari titik koordinat (x,y)
- Enam lapang pandang ditentukan secara acak sepanjang garis x dan y di daerah yang dominan terjadinya pelebaran alveolus. Enam alveoli yang akan diukur diameternya dipilih secara acak pula pada setiap lapang pandang.
- Sediaan paru yang pertama kali dihitung adalah kelompok kontrol normal dengan tujuan mengetahui nilai rata – rata diameter alveoli normal, dimana kriteria alveoli paru sediaan kelompok perlakuan yang dihitung adalah yang mempunyai diameter sama atau lebih besar dari diameter alveoli kelompok kontrol normal dan memiliki dinding yang masih utuh.
- Selanjutnya dilakukan penghitungan diameter alveoli paru pada sediaan kelompok kontrol positif dan diikuti dengan sediaan kelompok pemberian Genistein.

4.9 Penumpukan dan Analisis Data

4.9.1 Pengumpulan Data

Data dalam penelitian ini dikumpulkan dari hasil evaluasi pada kelompok tikus kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan I, II, dan III. Setelah 1 bulan perlakuan dengan pemberian ekstrak kacang tunggak pada tikus yang terpapar asap mesin berbahan bakar bensin dilakukan evaluasi berupa pengamatan, pengamatan, penghitungan, dan pencatatan hasil dari evaluasi.

4.9.2 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan bantuan software *SPSS 19.00 for Windows*. Data dari pengukuran diameter alveoli paru tikus antara kelompok 0,1,2,3,4,5,6,7, dan 8 dianalisa dengan *analysis of varian* (ANOVA). Hasil

pengukuran diameter alveoli juga ditabulasi dan dicari rata – rata dan standar deviasinya. Uji One Way ANOVA ini digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kelompok – kelompok perlakuan dan membandingkan rata – rata masing – masing kelompok tersebut. Sebelum menggunakan Uji One Way ANOVA , maka data di uji homogenitas dan normalitasnya. Hal ini merupakan syarat dari uji One Way ANOVA yaitu data harus homogen dan berdistribusi normal. Penelitian dianggap bermakna atau signifikan bila $p \leq 0,05$. Jika memang terdapat perbedaan antara kelompok perlakuan bermakna, dilanjutkan dengan uji Tukey HSD (post-hoc tukey). Hasil uji ini akan menunjukkan kelompok mana saja yang berbeda makna. Setelah itu, dilakukan uji korelasi antara genistein dengan ukuran diameter alveoli paru tikus yaitu dengan menggunakan uji korelasi pearson. Uji yang terakhir yaitu uji regresi. Dimana uji regresi mempunyai tujuan untuk menilai tingkat kepercayaan model penelitian.

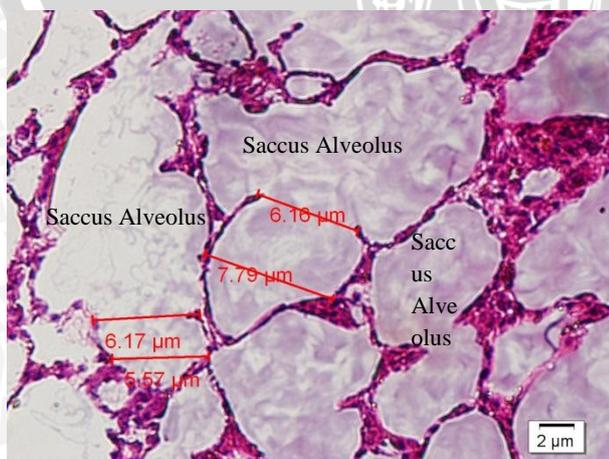
BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Pengamatan Sediaan Paru

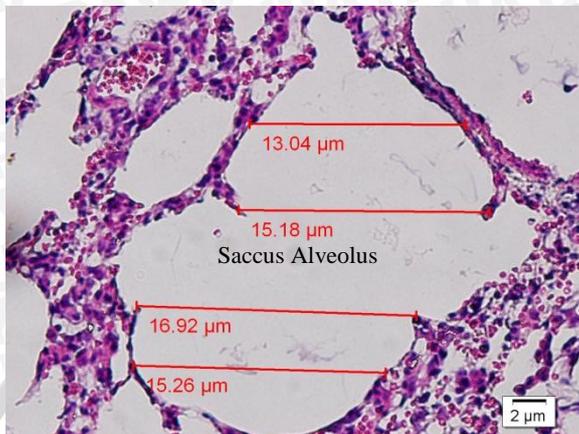
Pada hasil pengamatan sediaan paru tikus putih kelompok kontrol yang telah diberikan pewarnaan HE menunjukkan jaringan parunya masih dalam keadaan bagus, dindingnya masih intak dengan rata – rata diameter alveoli sekitar 7 μm . Sedangkan pada kelompok yang dipapar dengan asap mesin berbahan bakar bensin terlihat adanya kerusakan pada jaringan paru, dinding alveoli banyak yang rusak dan diameter alveoli paru semakin melebar. Gambaran pada kelompok tikus yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin dan diberi genistein 2 ml/ekor/hari menunjukkan hasil yang mendekati kelompok kontrol. Berikut macam – macam gambaran histopatologis alveoli paru tikus.

Gambar 5.1 : Gambaran alveoli paru tikus kelompok kontrol (Kelompok 0) dengan pengecatan HE dan perbesaran 400x



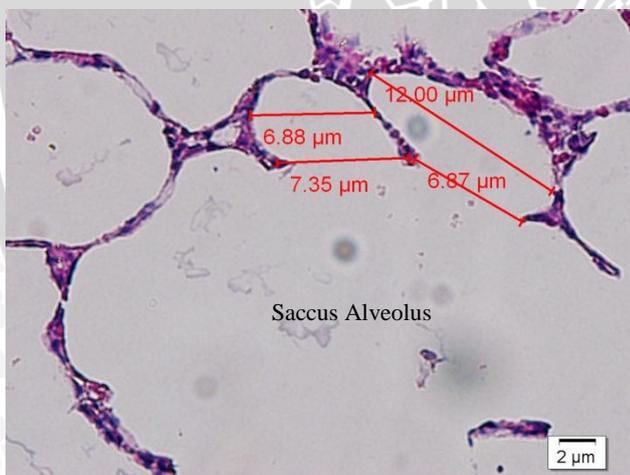
Terlihat alveoli paru dengan ukuran yang homogen, dengan diameter paru kecil dan dinding alveoli paru yang masih utuh. Rata – rata diameter paru tikus adalah $7,184 \pm 0,118$

Gambar 5.2 : Gambaran alveoli paru tikus kelompok yang diberi paparan asap 2 menit tanpa pemberian genistein (Kelompok 1) dengan pengecatan HE dan perbesaran 400x



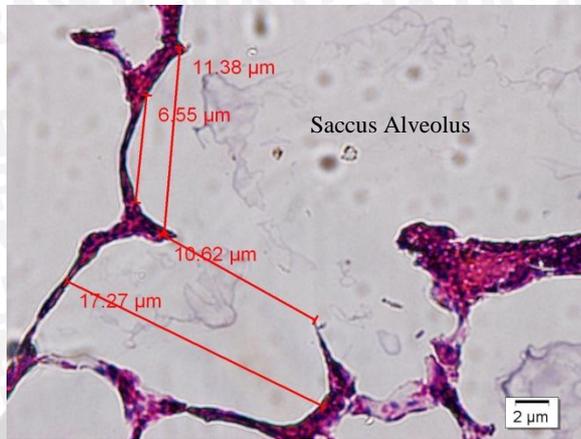
Terlihat alveoli paru dengan ukuran yang heterogen, dengan diameter paru yang tampak lebih besar dan dinding alveoli paru yang rusak. Rata – rata diameter paru tikus adalah $18,541 \pm 0,474$

Gambar 5.3 : Gambaran alveoli paru tikus kelompok yang diberi paparan asap dengan pemberian genistein 2 ml/ekor/hari (Kelompok 2) dengan pengecatan HE dan perbesaran 400x



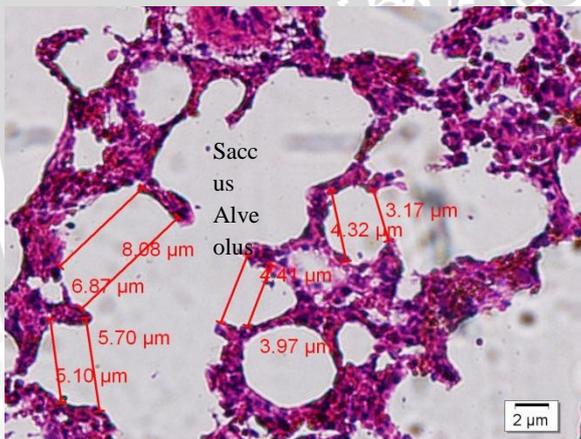
Terlihat ukuran alveoli paru yang semakin mengecil mendekati ukuran normal. Rata – rata diameter paru tikus adalah $11,663 \pm 0,269$

Gambar 5.4 : Gambaran alveoli paru tikus kelompok yang dipapar asap 4 menit tanpa pemberian genistein (Kelompok 3) dengan pengecatan HE dan perbesaran 400x



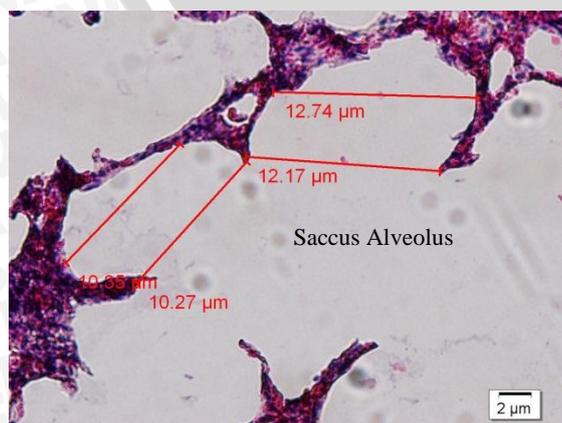
Terlihat alveoli paru dengan ukuran yang heterogen, dengan diameter alveoli paru yang besar, lebih besar dari kelompok 1 dan dinding alveoli paru banyak yang rusak. Rata – rata diameter paru tikus adalah $19,111 \pm 0,623$

Gambar 5.5 : Gambaran alveoli paru tikus kelompok yang dipapar asap 4 menit dengan pemberian genistein (Kelompok 4) dengan pengecatan HE dan perbesaran 400x



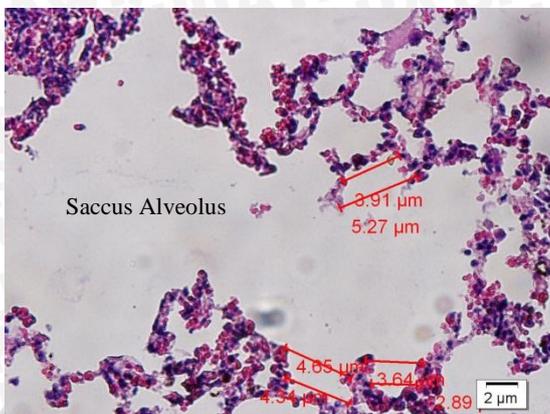
Terlihat ukuran diameter alveoli paru yang lebih kecil daripada kelompok tanpa genistein. Rata – rata diameter paru tikus adalah $11,900 \pm 0,742$

Gambar 5.6 : Gambaran alveoli paru tikus kelompok yang dipapar asap 3 menit tanpa pemberian genistein (Kelompok 5) dengan pengecatan HE dan perbesaran 400x



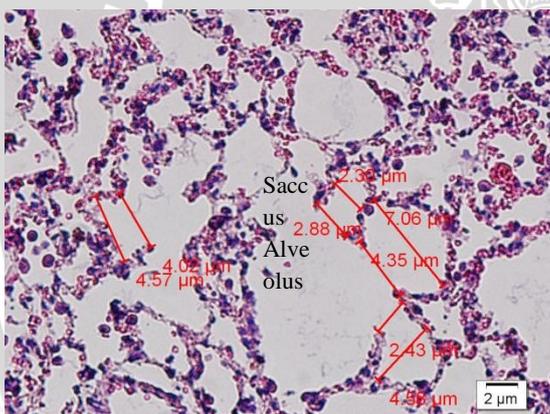
Terlihat ukuran diameter alveoli paru yang membesar, dinding alveolinya banyak yang rusak. Rata – rata diameter paru tikus adalah $19,640 \pm 0,395$

Gambar 5.7 : Gambaran alveoli paru tikus kelompok yang dipapar asap 3 menit dengan pemberian genistein (Kelompok 6) dengan pengecatan HE dan perbesaran 400x



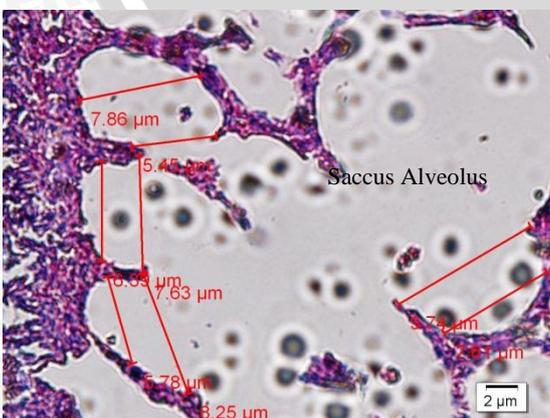
Terlihat jaringan alveoli paru yang membaik, ukuran diameter alveolinya lebih kecil daripada kelompok tanpa genistein. Rata – rata diameter paru tikus adalah $11,800 \pm 0,545$

Gambar 5.8 : Gambaran alveoli paru tikus kelompok yang hanya diberi genistein (Kelompok 7) dengan pengecatan HE dan perbesaran 400x



Terlihat jaringan alveoli paru yang mendekati ukuran normal. Rata – rata diameter paru tikus adalah $7,905 \pm 0,345$

Gambar 5.9 : Gambaran alveoli paru tikus kelompok yang hanya dipapar oksigen murni 4 menit (Kelompok 8) dengan pengecatan HE dan perbesaran 400x



Terlihat jaringan alveoli paru yang mendekati ukura normal. Rata – rata diameter paru tikus adalah $7,100 \pm 0,721$

Gambar diatas merupakan

gambaran histologi dari alveoli tikus dengan pengecatan HE, diukur dengan menggunakan mikroskop olympus bx 53 dengan pembesaran 400x dan menggunakan program cell sense.

Keterangan :

- Gambar 5.1 : Kelompok 0 (Kontrol negatif)
- Gambar 5.2 : Kelompok 1 (AMBB (+) 2 menit, Genistein (-)
- Gambar 5.3 : Kelompok 2 (AMBB (+) 2 menit, Genistein (+)
- Gambar 5.4 : Kelompok 3 (AMBB (+) 4 menit, Genistein (-)
- Gambar 5.5 : Kelompok 4 (AMBB (+) 4 menit, Genistein (+)
- Gambar 5.6 : Kelompok 5 (AMBB (+) 3 menit, Genistein (-)
- Gambar 5.7 : Kelompok 6 (AMBB (+) 3 menit, Genistein (+)
- Gambar 5.8 : Kelompok 7 (AMBB (-), Genistein (+)
- Gambar 5.9 : Kelompok 8 (AMBB (-), O₂ (+)

5.2 Hasil Penghitungan Diameter Alveoli Paru Tikus

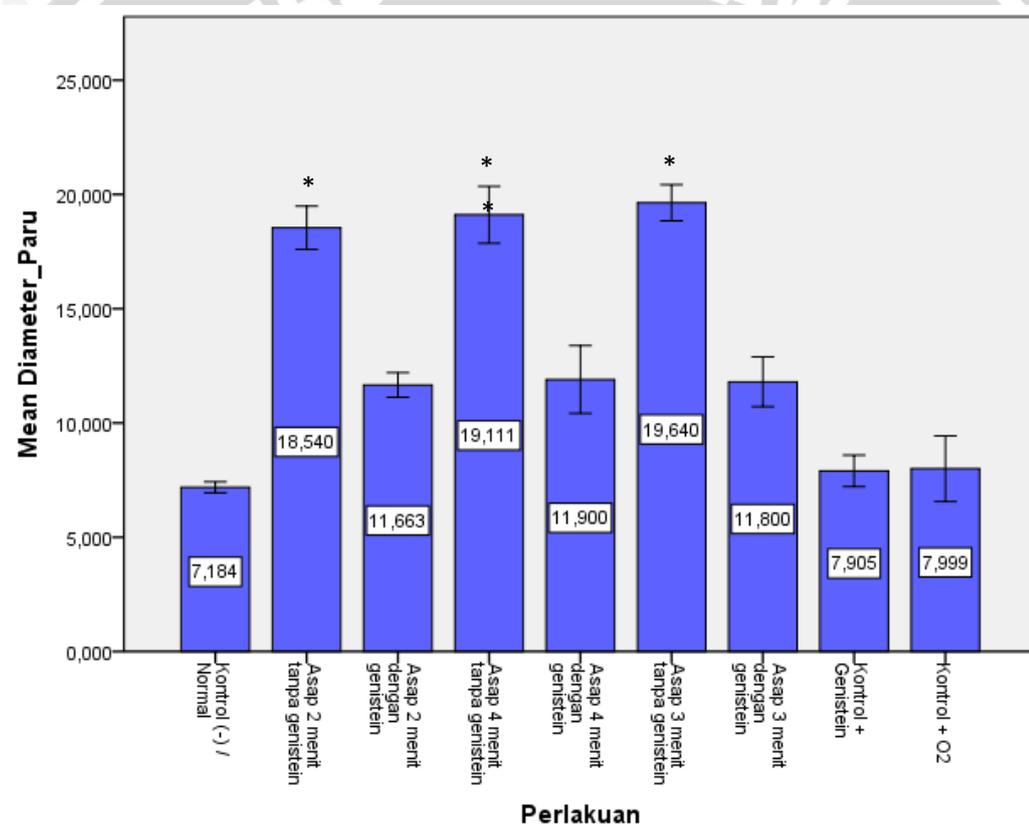
Berikut akan ditampilkan hasil dari perhitungan diameter alveoli paru tikus (lihat tabel 5.1)

Tabel 5.1 penghitungan diameter alveoli paru tikus semua kelompok

Kelompok	Diameter alveoli ± SD
0	7,184 ± 0,118
1	18,541 ± 0,474
2	11,663 ± 0,269
3	19,111 ± 0,622
4	11,900 ± 0,742
5	19,640 ± 0,395
6	11,800 ± 0,545
7	7,905 ± 0,345
8	7,100 ± 0,721

- Keterangan :
- Kelompok 0 : Kontrol negatif
 - Kelompok 1 : AMBB (+) 2 menit, Genistein (-)
 - Kelompok 2 : AMBB (+) 2 menit, Genistein (+)
 - Kelompok 3 : AMBB (+) 4 menit, Genistein (-)
 - Kelompok 4 : AMBB (+) 4 menit, Genistein (+)
 - Kelompok 5 : AMBB (+) 3 menit, Genistein (-)
 - Kelompok 6 : AMBB (+) 3 menit, Genistein (+)
 - Kelompok 7 : AMBB (-), Genistein (+)
 - Kelompok 8 : AMBB (-), O₂ (+)

Diagram 5.1 Diagram diameter alveolus paru tikus pada semua kelompok perlakuan



- Keterangan :
- *= Signifikan dengan kelompok 0 (Kontrol)

Pada penghitungan diameter alveoli paru tikus didapatkan data bahwa pada kelompok tikus 1, 3, 5 mengalami peningkatan ukuran diameter alveoli paru tikus. Sedangkan pada kelompok 7 dan 8, mengalami penurunan ukuran

diameter alveoli paru mendekati ukuran normal. Pada kelompok 2,4,6 mengalami penurunan ukuran diameter alveoli paru mendekati nilai normal, dikarenakan efek dari genistein yang menghambat radikal bebas dalam merusak jaringan paru.

5.3 Analisa Data Penelitian

Hasil penelitian di analisis dengan menggunakan program spss versi 19. Sebelum menganalisa dengan Oneway ANOVA terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitas dari data yang ada. Dalam menentukan normalitas data dengan menggunakan uji *Kolmogorov-smirnov* (lihat lembar Lampiran), dimana suatu data dikatakan memiliki sebaran yang normal jika $p > 0,05$ (Sarwono, 2011). Berdasarkan pengujian normalitas data dengan menggunakan uji *Kolmogorov-smirnov* didapatkan bahwa data untuk semua kelompok memiliki sebaran normal (uji *Kolmogorov-smirnov* $p = 0,250$) sehingga p diterima dan dapat disimpulkan bahwa data variabel tersebut menyebar mengikuti sebaran normal. Dengan demikian syarat pengujian ANOVA yang pertama telah terpenuhi.

5.3.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas adalah bentuk pengujian tentang kenormalan distribusi data. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah data yang diambil adalah data yang terdistribusi normal. Maksud dari data terdistribusi normal adalah dimana data mengikuti bentuk distribusi normal dimana datanya memusat pada nilai rata – rata mediannya. Pengujian normalitas menggunakan NPar Tes atau One-sample Kolmogorov – Smirnov Test. Hasilnya menunjukkan hasil yang normal yaitu 0,142 , dimana nilai normal $p > 0,05$.

5.3.2. Uji Homogenitas Varians

Tahap yang kedua diuji homogenitasnya, uji homogenitas tujuannya untuk menguji apakah sebaran data tersebut homogen atau tidak, yaitu dengan membandingkan kedua variansnya. Hal ini ditujukan untuk memenuhi persyaratan uji Oneway ANOVA. Hipotesis nol (H_0) pada uji homogenitas ini adalah varian populasi yang identik. Analisis ini signifikan jika $p > 0,05$ maka H_1 akan diterima. Pada tes homogenitas ini didapatkan hasil 0,214 dapat disimpulkan bahwa varian data homogen, dan analisa dapat dilanjutkan ke analisa Oneway ANOVA.

5.3.3. Uji Oneway ANOVA

Setelah uji normalitas dan uji homogenitas memenuhi syarat, maka uji selanjutnya adalah analisa Oneway ANOVA. Tujuannya adalah untuk menganalisis apakah ada perbedaan secara bermakna rata – rata pelebaran diameter alveoli paru tikus antar kelompok perlakuan. Dikatakan Oneway ANOVA variabel bebasnya adalah VCO. H_0 diterima bila didapatkan nilai $p > 0,05$ (signifikansi $< 0,05$) yang menyatakan tidak terdapat perbedaan secara nyata pada rata – rata diameter alveoli paru tikus antar kelompok perlakuan. Hasil analisa ini didapatkan hasil signifikansi $p = 0,000$ (signifikansi $< 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata – rata diameter alveoli paru tikus yang bermakna pada kedua kelompok atau lebih.

5.3.4. Uji Post-Hoc Multiple Comparison

Selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna tersebut dilakukan analisa Post Hoc Tukey (lihat di lampiran). Pada analisa ini, jika nilai signifikansinya $< 0,05$, maka terdapat perbedaan secara nyata pada rata – rata diameter alveoli paru tikus antara dua kelompok perlakuan

yang dianalisa. Sedangkan nilai signifikansi $>0,05$ tidak terdapat perbedaan secara nyata pada rata – rata diameter alveoli paru tikus antara dua kelompok.

Hasil analisa Post Hoc Tukey adalah:

- Kelompok normal (kelompok 0) pada uji *Post Hoc Tukey* tidak memiliki rata – rata diameter alveoli paru yang berbeda secara nyata dengan kelompok Genistein (7) dan Kelompok O_2 (8) ($p=0,556$; $p=0,398$) nilai signifikansi pada uji Post Hoc Tukey adalah $p < 0,05$
- Pada kelompok 2 dengan AMBB (+) 2 menit Genistein (+) terdapat perbaikan ukuran diameter alveoli paru secara signifikan dibandingkan dengan kelompok 1 dengan AMBB (+) 2 menit Genistein (-) ($p=0,000$).
- Kelompok 4 dengan perlakuan AMBB (+) 4 menit Genistein (+) terdapat perbaikan ukuran diameter alveoli paru secara signifikan dibandingkan dengan kelompok 3 dengan AMBB (+) 4 menit Genistein (-) ($p=0,000$).
- Kelompok 6 dengan perlakuan AMBB (+) 3 menit Genistein (+) terdapat perbaikan ukuran diameter alveoli paru secara signifikan dibandingkan dengan kelompok 5 dengan AMBB (+) 3 menit Genistein (-) ($p=0,000$).
- Kelompok perlakuan pada uji *homogenous subset* terletak 1 kolom adalah kelompok 2,4,6 sebab diantara kelompok tidak memiliki nilai yang signifikan ($p>0,05$), sedangkan terletak beda kolom dengan kelompok 1,3,5 sebab memiliki nilai yang signifikan ($p<0,05$).

5.3.5. Uji Korelasi

Pada uji korelasi pearson memiliki signifikansi $p<0,05$, dimana terdapat perbedaan antara pemberian genistein dengan diameter alveoli paru tikus. Sedangkan jika nilai $p>0,05$ maka tidak terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian genistein dengan diameter alveoli paru tikus. Dari hasil analisa,

didapatkan hasil $p = 0,004$ ($\text{Sig} < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa ada hubungan yang bermakna antara pemberian genistein dengan diameter alveoli paru tikus. Nilai korelasi pearson $-0,252$ yang berarti hubungan antara pemberian genistein dan diameter alveoli adalah kuat (koefisien korelasi $> 0,05$). Tanda negatif ($-0,252$) pada nilai pearson tersebut menunjukkan semakin tinggi konsentrasi genistein, semakin membaik ukuran diameter alveoli paru – parunya.

5.3.6. Uji Regresi

Selanjutnya untuk mengetahui besarnya kontribusi pemberian genistein terhadap diameter alveoli paru tikus, diperlukan nilai koefisien korelasi atau nilai koefisien determinasi $> 50\%$. Dari hasil uji diatas dapat dilihat bahwa nilai koefisien korelasi menunjukkan angka $0,638$, artinya pemberian genistein memberikan kontribusi sebesar $63,8\%$ dalam menghambat diameter alveoli paru tikus yang dipapar asap mesin pembakar bensin (AMBB). Sedangkan $36,2\%$ disebabkan oleh variabel lainnya.

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Diameter Alveolus Paru Tikus pada Kelompok Kontrol Negatif

Pada penelitian ini telah diutarakan di atas bahwa ukuran diameter alveoli paru pada kelompok kontrol negatif (normal) adalah 8,011 μm . Pada penelitian yang dilakukan oleh Wahab (2005) dan Afandri (2009) dikemukakan jika ukuran diameter alveoli paru normal 13,03 μm dan 23,73 μm . Perbedaan ini dikarenakan dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya faktor kesehatan tikus dan faktor lingkungan selama tikus dalam masa penelitian. Proses pemeliharaan tikus selama penelitian juga mempengaruhi kesehatannya. Begitu juga dengan faktor usia tikus penelitian juga berpengaruh terhadap struktur sistem pernapasan. Menurut penelitian yang dilakukan Afandri, Faktor lingkungan juga berpengaruh terhadap kesehatan paru – paru tikus. Pada penelitiannya tikus ditempatkan dalam kandang yang diberi sekam sisa penggilingan padi. Sisa penggilingan padi tersebut berfungsi untuk menghangatkan tubuh tikus dan agar kotoran tikus dapat dengan mudah dibersihkan. Disamping itu, sekam sisa penggilingan padi tersebut berpotensi mengandung debu yang bisa membahayakan kesehatan paru tikus. Apalagi debu tersebut mengandung mikroorganisme yang bisa masuk melalui proses respirasi. Paparan debu tersebut mampu menyebabkan respon inflamasi dari saluran pernafasan bawah. Jika debu tersebut mengandung mikroorganisme tersebut mampu menginaktivasi *α 1-protease inhibitor*. Ketidakseimbangan protease dan antiprotease dapat menyebabkan kerusakan terhadap matriks alveolus (Afandri,2009)

6.2 Pengaruh Lama Paparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin terhadap

Pelebaran Diameter Alveoli Paru Tikus

Hasil dari penelitian ini tampak bahwa terjadi pelebaran diameter paru tikus pada kelompok 1 dibandingkan dengan kelompok 2. Pada hasil penghitungan rata – rata diameter alveoli didapatkan kelompok 1 berdiameter alveoli 25,083 μm , sedangkan pada kelompok 2 berdiameter alveoli rata – rata 10,538 μm . Dari uji statistik juga didapatkan perbedaan secara bermakna antara rata – rata diameter alveoli kelompok 1 dengan kelompok 2 yang nilai signifikansinya 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini menandakan terdapat kerusakan dari epitel dinding alveoli paru – paru akibat senyawa NO_2 , O_3 , SO_2 , dan partikulat matter yang terkandung di dalam asap mesin berbahan bakar bensin. NO_2 berpengaruh besar terhadap hilangnya Pneumosit, khususnya pneumosit tipe 1 dan sebagian kecil pneumosit tipe 2 (Langloss et al, 1977). Pneumosit tipe 1 (*membranous pneumocytes*) melapisi 95 % dinding alveoli paru dan menjalankan fungsi utama paru – paru sebagai tempat pertukaran udara. Sedangkan pneumosit tipe 2 terdapat pada epitel alveoli merupakan penghasil surfaktan. Surfaktan berfungsi untuk mengurangi tekanan permukaan cairan yang menyelimuti alveoli, menurunkan tekanan yang diperlukan oleh alveoli – alveoli sehingga mencegah kerobekan alveoli – alveoli kecil menjadi alveoli besar (Marchelinda, 2011). Kandungan sulfur dioksida dan partikulat matter yang ada pada mesin berbahan bakar bensin 4 tak, apabila masuk ke saluran pernafasan dapat menyebabkan penebalan dan remodeling dari dinding bronkiolus terminalis. Partikulat matter juga menyebabkan mutagenesis oleh kerusakan DNA dalam sel alveolar tipe II (Correa, 2006). Sedangkan ozon dan photochemical oksidan yang lain O_3 meningkatkan napas permeabilitas dan

pembersihan partikel, menyebabkan peradangan saluran napas dan penurunan kapasitas bakterisida, serta struktural perubahan dalam paru-paru (Langloss et al, 1977). Pada kelompok 3 juga terjadi peningkatan ukuran diameter yang signifikan dibandingkan dengan kelompok 4. Tampak pada kelompok 3 dengan ukuran rata – rata diameter alveoli paru – paru sekitar 19,111 μm . Hal ini sangat berbeda jauh dengan kelompok 4 dimana ukuran rata – rata diameter alveoli paru – parunya sebesar 11,900 μm . Begitu juga dengan kelompok 5 dan kelompok 6. Didapatkan nilai yang signifikan diantara kedua kelompok. Pada kelompok 5 didapatkan nilai rata – rata diameter alveoli paru – parunya sebesar 19,640 μm . Sedangkan pada kelompok 6 didapatkan nilai rata-rata diameter alveoli paru – parunya sebesar 11,800 μm . Hal ini menunjukkan jika pada senyawa – senyawa yang terkandung dalam asap mesin berbahan bakar bensin dapat menyebabkan terjadinya proses inflamasi dari jaringan alveolus. Terjadi peningkatan sel neutrofil dan makrofag pada sirkulasi alveolus. Sel neutrofil maupun makrofag mempunyai sifat elastolisis begitu juga enzim proteolitik yang dihasilkan oleh keduanya seperti protease dan antiprotease, Efeknya terjadi degradasi elastin dan kolagen, sehingga menyebabkan kerusakan yang berkelanjutan dari jaringan alveolus (Macnee,2005). Sedangkan apabila kita bandingkan antar kelompok 1 ($\text{A}_2\text{O}_2(-)\text{G}$), kelompok 3 ($\text{A}_4\text{O}_4(-)\text{G}$), dan kelompok 5 ($\text{A}_3\text{O}_3(-)\text{G}$), terjadi perbedaan rata – rata ukuran diameter alveoli paru tikus yang dikarenakan perbedaan lama waktu paparan asap mesinnya. Pada nilai rata – rata diameter alveolus ketiga kelompok ini didapatkan nilai yang tidak signifikan, yaitu pada kelompok 1 ($\text{A}_2\text{O}_2(-)\text{G}$) sekitar 18,541 μm , pada kelompok 3 ($\text{A}_4\text{O}_4(-)\text{G}$) sekitar 19,111 μm , pada kelompok 5 ($\text{A}_3\text{O}_3(-)\text{G}$) sekitar 19,640 μm . Pada uji homogenous subsets ketiga kelompok ini teretak pada 1 kolom. Artinya

ketiga kelompok ini terdapat perbedaan, tetapi tidak signifikan dikarenakan rentan waktu yang dipakai hanya selang 1 menit.

6.3 Pengaruh Pemberian Genistein dalam Ekstrak Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) dalam Menghambat Pelebaran Diameter Alvelus Paru Tikus (*Rattus novergicus*) Galur Wistar yang Dipapar Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin

Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok yang diberi genistein sebanyak 2 ml/ekor/hari yaitu pada kelompok 2 ($A_2O_2(+)$ G), 4 ($A_4O_4(+)$ G), 6 ($A_3O_3(+)$ G) menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok tanpa pemberian genistein yaitu kelompok 1 ($A_2O_2(-)$ G), 3 ($A_4O_4(-)$ G), 5 ($A_3O_3(-)$ G). Pada kelompok 2 ($A_2O_2(+)$ G), tampak rata – rata diameter alveolusnya mendekati nilai normal dibandingkan dengan kelompok 1 dimana pada kelompok 1 ($A_2O_2(-)$ G) rata – rata diameter alveoli paru – parunya $\pm 25,083 \mu\text{m}$, sedangkan pada kelompok 2 ($A_2O_2(+)$ G) diameter alveoli paru – parunya mengecil yaitu $\pm 10,538 \mu\text{m}$. Pada uji *Post Hoc Tukey* juga terdapat perbedaan yang bermakna diantara kedua kelompok tersebut, yaitu $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan terjadi mekanisme penangkapan radikal bebas, yaitu dengan mengubah O_2^- (ion superoksida yang merupakan metabolit tereduksi) yang dikatalisa reaksi dismutasi oleh genistein dalam ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) (Challem, 2005). Begitu juga dengan kelompok 4 ($A_4O_4(+)$ G), terjadi perbaikan dari nilai diameter alveolusnya, yaitu rata – rata sekitar $11,900 \mu\text{m}$ dibandingkan dengan kelompok 3 yaitu sekitar $19,111 \mu\text{m}$. Pada kelompok 6 ($A_3O_3(+)$ G), juga terjadi perbaikan dari ukuran diameter alveolusnya, yaitu sekitar $11,800 \mu\text{m}$. Ruang alveolus paru - paru dapat menyerap tambahan antioksidan yaitu genistein yang berada di ELF (Epitel Lining Fluid). Kerja genistein

bersamaan dengan enzim tahap 2 di paru – paru yaitu glutathion (GSH). GSH adalah pelindung sel sangat penting. Ini secara langsung memadamkan radikal bebas hidroksil reaktif, oksigen lainnya berpusat radikal bebas, dan pusat-pusat radikal pada DNA dan biomolekul lainnya (Suzy, et al, 2002). Sedangkan perbandingan pada kelompok dengan genistein, kelompok 2 ((A₂O₂(+)G), kelompok 4 (A₄O₄(+)G), dan kelompok 6 (A₃O₃(+)G), menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna. Artinya antar kelompok dengan genistein menunjukkan hasil yang hampir sama. Tampak pada diagram 5.1, dimana pada kelompok 2 (A₂O₂(+)G) menunjukkan rata – rata 10,538, pada kelompok 4 (A₄O₄(-)G) menunjukkan rata – rata 12,150, dan kelompok 6 (A₃O₃(+)G) menunjukkan rata – rata 11,800 µm. Perbedaan nilai rata – rata diameter alveoli ini menunjukkan jika lama waktu paparan asap mesin berbahan bakar bensin berpengaruh pada nilai pelebaran diameter alveoli paru tikus. Tapi nilai rata – rata pada kelompok dengan genistein masih lebih kecil dibandingkan dengan kelompok tanpa pemberian genistein. Hal ini menunjukkan jika peranan genistein sebagai antioksidant dalam menangkal radikal bebas dalam asap mesin berbahan bakar bensin sangat berpengaruh terhadap perubahan diameter alveoli paru – paru tikus. Genistein memiliki efek preventif dalam menangkal serangan radikal bebas. Sebab pemberian genistein dilakukan 30 menit sebelum dilakukan paparan asap mesin berbahan bakar bensin.

BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

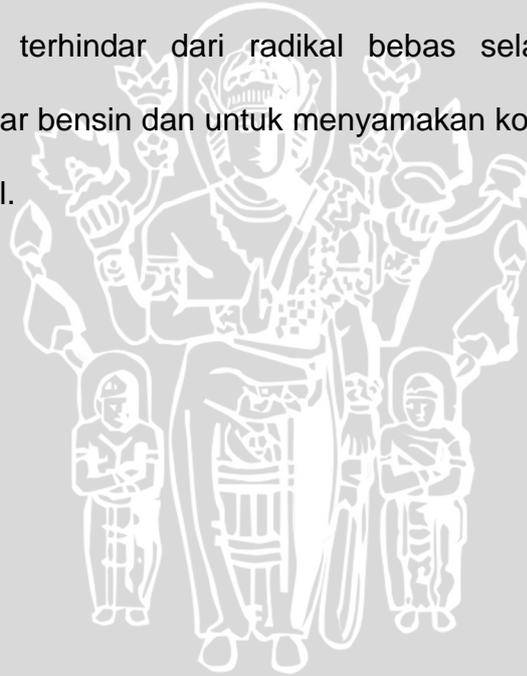
Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Alveolus paru tikus *Rattus novergicus* strain Wistar mengalami pelebaran diameter sebagai hasil dari paparan asap mesin berbahan bakar bensin. .
2. Genistein dalam ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) mampu menghambat pelebaran diameter alveolus paru tikus *Rattus novergicus* strain Wistar dengan dosis 0,5 ml/kgBB
3. Terdapat korelasi negatif antara pemberian Genistein dalam ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dosis 0,5 ml/kgBB dan lama waktu paparan asap mesin berbahan bakar bensin 2 menit, 3 menit, dan 4 menit dengan diameter alveoli paru tikus *Rattus novergicus* strain Wistar.
4. Nilai perbaikan diameter alveoli optimal terdapat pada kelompok paparan asap mesin berbahan bakar bensin selama 2 menit.

7.2 Saran

1. Diperlukan penelitian berikutnya, dimana dosis genistein ditingkatkan untuk mengetahui dosis yang efektif dalam menghambat kerusakan dinding alveoli paru dari radikal bebas.

2. Diperlukan penelitian berikutnya, dimana lama paparan asap mesin berbahan bakar bensin ditingkatkan, agar mengetahui batas ambang waktu maksimal paru dalam menerima radikal bebas dari asap mesin berbahan bakar bensin.
3. Diperlukan penelitian dengan jumlah sampai yang lebih banyak agar simpangan deviasi data yang diperoleh tidak terlalu besar sehingga hasil penelitian dapat lebih valid.
4. Diperlukan sampel penelitian yang lebih terkontrol lingkungannya, agar sampel terhindar dari radikal bebas selain asap mesin berbahan bakar bensin dan untuk menyamakan kondisi alveoli paru – paru sampel.



DAFTAR PUSTAKA

Arief, Syamsul. 2007. Radikal Babas Ilmu Kesehatan Anak FK UNAIR, Surabaya.

www.pediatrik.com/buletin/06224113752-x0zu6l.pdf

Aswan, Farid. 2009. Pengaruh Frekuensi Penyiraman Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Kacang Tunggak (*Vigna Ungiculata*). (diterbitkan), Fakultas Pertanian Universitas Nusa Cendana, Kupang.

Afandri, Furqan. 2009. Efek Antoksidan Virgin Coconut Oil (VCO) Terhadap Diameter Alveolus Tikus Putih (*Rattus novergicus* strain Winstar) yang Dipapar Asap Rokok Subkronis, (tidak diterbitkan), Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

Akmal. 2012. Emfisema Paru – Paru (online) (<http://akmalyanuar.blogspot.com>, diakses pada tanggal 6 Juni 2012)

Administrator, 2011. Dunia Industri, (Online), (<http://duniaindustri.com>, diakses tanggal 21 Maret 2012)

Bioaktiva. 2012. Antioksidan, Apakah Itu? , (Online), (<http://jualbioaktiva.blogspot.com/2012/04/antioksidan-apakah-itu.html>, diakses pada tanggal 11 Juli 2012)

Borras C, Gambini J, Gomez M.C. 2006. Genistein, a Soy Isoflavone, Up-Regulates Expression of Antioxidant Genes : Involvement of Estrogen Receptors, ERK 1/2, and NFkB, (online), (<http://www.fasebj.org/content/20/12/2136.full#sec-26>, diakses pada tanggal 10 Agustus 2012)

Barlow J, Johnson J.A.P, Scofield L. 2007. Breast Cancer and The Environment Research Centers, Early Life Exposure to the Phytoestrogen Genistein and Breast Cancer Risk in Later Years.

Badan Pusat Statistik RI.2009,Perkembangan Jumlah Kendaraan

Bermotor Menurut Jenis tahun 1987-2009, Kantor Kepolisian Republik Indonesia, Jakarta

Borras C, Gambini J, Gomez M.C. 2006. Genistein, a Soy Isoflavone, Up-Regulates Expression of Antioxidant Genes : Involvement of Estrogen Receptors, ERK 1/2, and NFkB, (online), (<http://www.fasebj.org/content/20/12/2136.full#sec-26>, diakses pada tanggal 10 Agustus 2012)

Barlow J, Johnson J.A.P, Scofield L. 2007.Breast Cancer and The Environment Research Centers, Early Life Exposure to the Phytoestrogen Genistein and Breast Cancer Risk in Later Years.

Buttner, G.R. 2009.What are Free Radicals ?. The UNiversity of Iowa;College of Medicine, Iowa City

Connie C.W. et al, 2003. Mechanisms and Limits of Induced Postnatal. Makalah disajikan dalam Workshop, diadakan pada 18 Mai 2001, di San Francisco, California,disponsori oleh the Respiratory Structure and Function Assembly and the Respiratory Cell and Molecular Biology Assembly. Lung Growth

Correa, P.M. 2006. Health effects of air pollution. (<ftp://ftp.atmos.washington.edu>)

Fatokun, C. A. 2002. Challenges and Oppotunities for Enhancing Sustainable

Cowpea Production, International Institute of Tropical Agriculture, Nigeria

Fang YZ, Yang S, Wu G. 2002.Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition.

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing, China; the Division of Animal Nutrition,

Department of Animal Science, China Agricultural University, Beijing, China; and the Department of Animal Science and Faculty of Nutrition, Texas A&M University, College Station, Texas, USA, 18:872– 879.

George H, and Arevelo M . 2012. What is Genistein? (online), (<http://www.wisegeek.com/what-is-genistein.htm>, diakses pada tanggal 10 Agustus 2012)

Grommes, Jochen and Soehnlein, Oliver. 2010. Contribution of Neutrophils to Acute Lung Injury. Department of Vascular Surgery, University Hospital, RWTH Aachen, Germany; 2Institute of Molecular Cardiovascular Research (IMCAR), University Hospital, RWTH Aachen, Germany; and 3current affiliation: Institute for Cardiovascular Prevention, Ludwig Maximilian University of Munich (LMU), Munich, Germany Haluzan, Ned. 2007. Air pollution – (online) (<http://pollutionarticles.blogspot.com>, diakses pada tanggal 10 Agustus 2012)

Hariyatmi. 2004. Kemampuan Vitamin Sebagai Antioksidan terhadap Radikal Bebas pada Lanjut Usia. Jurusan Pendidikan Biologi FKIP UMS, MIPA Vol. 14, No. 1 : 52 - 60

Icha, 2009. Ada Seribu Racun di Asap Kendaraan in mbonk (Ed), Kompas, Jakarta, (Online) (<http://sains.kompas.com>, diakses pada tanggal 12 Agustus 2012)

Kahadi, Cik. 2010. Pengaruh Genistein sebagai nAntioksidan terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Serum Tikus (*Rattus norvergicus*) Jantan Galur Wistar dengan Diabetes Mellitus. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Kerksick C, Willoughby . 2005. The Antioxidant Role of Glutathione and N-Acetyl-

Cysteine Supplements and Exercise-Induced Oxidative Stress. Journal of the International Society of Sports Nutrition. 2(2): 38-44. Exercise and Sport Nutrition Laboratory and the Exercise and Biochemical Nutrition Laboratory, Baylor University, Waco.

Kholis, Muhammad Nur dkk. 2010. Optimasi Pemanfaatan Kacang Tunggak.

(*Vigna unguiculata*) dalam Pembuatan Tempe.

Kurniawati, Sari. 2006. Pengaruh Pemberian Bubuk Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) terhadap Jumlah Folikel Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar. Tugas Akhir, Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

Langloss, J.M. , Hoover, E.A. , Kahn, D.E. , 1977, Diffuse Alveolar Damage in Cats Induced by Nitrogen Dioxide or Feline Calicivirus, Am J Pathol, 89(3) : 637-648

Lamson, D.W. and Brignall, M.S..2000. Antioxidants and Cancer III: Quercetin. Alternative Medicine Review, 5(3):196-208

Marchelinda, C. , 2011. Avian Influenza. Institut Pertanian Bogor MacNee, William. 2005. Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. The Proceedings of the American Thoracic Society 2:258-266

Mozer, David. 2012. Environment, Health, and transportation : Motor Vehicles and Air Pollution (Online) (<http://www.ibike.org> , diakses pada tanggal 22 Maret 2012)

Marsy, Rad. 2007. Dampak Polusi Asap Kendaraan bagi Kesehatan. (Online) (<http://radmarsy.wordpress.com>, diakses pada tanggal 22 Maret 2012)

Machlin LJ, and Bendich A. 1987. Free radical tissue damage: protective role of

antioxidant nutrient. Clinical Nutrition, Hoffman-La Roche Inc., Nutley, New Jersey, USA.

Mudita, Wayan. 2012. Kacang Tunggak, (Online), (<http://tanamankampung.blogspot.com/2012/03/kacang-tunggak.html>, diakses pada tanggal 7 Agustus 2012)

Ningsih, Widia. 2007. Evaluasi Senyawa Fenolik (Asam Ferulat dan Asam p-Kumarat) pada Biji, Kecambah dan Tempe Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*). (diterbitkan), Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

Pawiroharsono, Suyanto. 2007. Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan. Direktorat Teknologi Bioindustri, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi

Pamela, Ruri. 2008. Stress Oksidatif Memicu Penuaan Dini, (Online), (<http://www.ruripamela.com/2008/11/penuaan-merupakan-proses-yang-kompleks.html>, diakses pada tanggal 11 Juli 2012)

Patel, R. P. et al. 2001. Antioxidant Mechanisms of Isoflavones in Lipid Systems: Paradoxical Effects of Peroxyl Radical Scavenging Department of Pathology, Molecular and Cellular Division, †Center for Free Radical Biology, ‡Purdue-UAB Botanical Center, and Department of Pharmacology, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL, USA; Biophysics Research Institute, Medical College of Wisconsin, Milwaukee, WI, USA; and Department of Anesthesiology, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL, USA. Free Radical Biology & Medicine, Vol. 31, No. 12, pp. 1570–1581

Priambodo A, Harnadiemas, Iqbal M, Imamul R. 2009. Analisis Antioksidan.

(staff.ui.ac.id/internal/.../Kel-03-ANALISISANTIOKSIDAN.ppt)

Pahlevi RR, Andayani T, Rahmi A. 2009. Pencemaran Udara, Banda Aceh.

<http://finoq3a.blogspot.com>

Putra. 2009. Pencemaran Udara, Dampak dan Solusinya !!. <http://putracenter.net>

Rachmawati,Hidajah. 2010. Antioksidan.

(rarafarmasi.staff.umm.ac.id/files/2010/01/ANTIOKSIDAN.ppt)

Rachmariska. 2009.makalah polusi udara. <http://rachmariska.wordpress.com>

Richards,B.J.. 2012.Quercetin Helps Veins Function Better.

http://www.wellnessresources.com/health/articles/quercetin_helps_veins_function_better/

Rambadi, 2011. Anatomi dan Fisiologi Pernafasan Bagian Atas. Artikel online.

<http://nursekita.blogspot.com>

Santana, Helena et al., 2001. Relation between body composition, fat distribution, and lung function in elderly men. American Society for Clinical Nutrition. vol 73. 4 : 827-831

Schwela, D. , Zali, O. and Schwela, P. ,1997.Motor Vehicle Air Pollution Public Health Impact and Control Measures, WHO/EOS/97.08, Division of Operational Health, p. 1-339

Setiawan B, Suhartono E. 2005. Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus, Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan, 55 (2): 1-33

Sumampouw, A.G.O. 2003. Radikal Bebas dan Antioksidan, (Online),

(<http://www.medikaholistik.com>, diakses pada tanggal 11 Juli 2012)

Suzy A. A. and Serpil C. E. 2002. Antioxidant responses to oxidant-mediated

lung diseases. Departments of Pulmonary and Critical Care Medicine and Cancer Biology, Lerner Research Institute, Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, Ohio 44195

Septianingrum ER, Faradilla RHF, Ekafitri R, Murtini S, dan Perwatasari, DD.

2009. Kadar Fenol dan Aktivitas Antioksidan pada Teh Hijau dan Teh Hitam Komersial. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor

Sofia, Dinna. 2005. Antioksidan dan Radikal Bebas, (Online), (http://www.chemistry.org/artikel_kimia/berita/antioksidan_dan_radikal_bebas/, diakses pada tanggal 11 Juli 2012)

Suryohudoyo P, 2010. Oksidan, Antioksidan, dan Radikal Bebas. Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unair, (Online), (mhanafi123.files.wordpress.com/2010/.../radical-bebas-purnomo-s.d..., diakses pada tanggal 11 Juli 2012)

Tadeus, 2009. Sistem Respirasi, (Online). (<http://histologidrgtadeus.blogspot.com>, diakses pada tanggal 10 Juli 2012)

Tugaswati. A. T. 2000. Emisi Gas Buang Kendaraan Bermotor dan Dampaknya terhadap Kesehatan.

Tencer, Daniel. 2011. The Huffington Post, (Online) (<http://www.huffingtonpost.ca>, diakses pada tanggal 21 Maret 2012)

Wang, H.L. 1984. Tofu and Tempeh Potential Protein Source In The Western Diet. *Journal of American Oil Chemist's Society*. 61:528-534.

World Carfree Network. 2011, The Car and Pollution, (Online) (<http://www.worldcarfree.net>, diakses tanggal 22 Maret 2012)

Yamin. 2011. Pencemaran Udara. <http://lingkunganhidup-yamin.blogspot.com>

Yusad, Yusniwati. 2003. Polusi Udara Di Kota –Kota Besar Dunia.

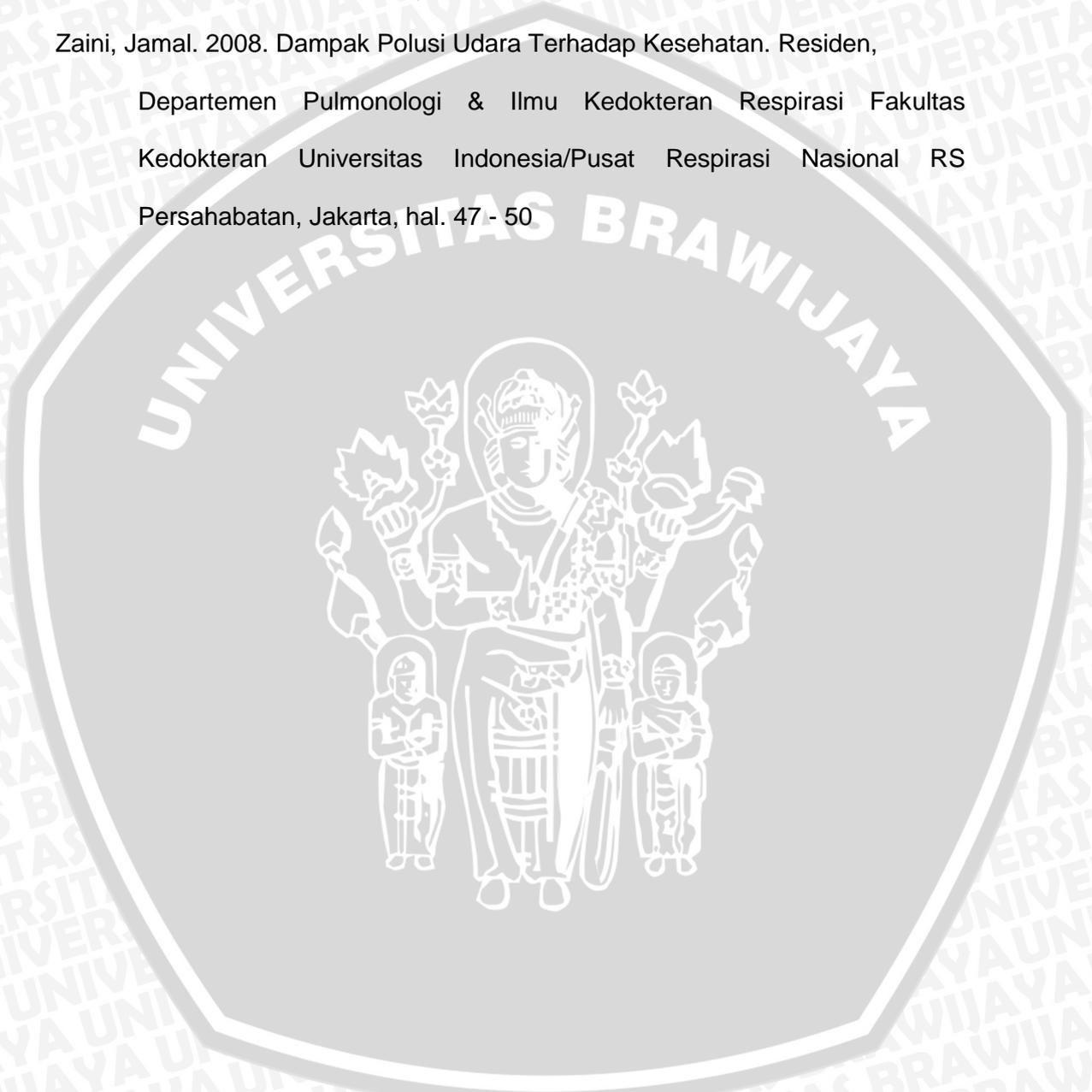
Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatra Utara, hal. 2-4.

Zaini, Jamal. 2008. Dampak Polusi Udara Terhadap Kesehatan. Residen,

Departemen Pulmonologi & Ilmu Kedokteran Respirasi Fakultas

Kedokteran Universitas Indonesia/Pusat Respirasi Nasional RS

Persahabatan, Jakarta, hal. 47 - 50



Lampiran 1

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dhany Pristiano Indirwan

NIM : 0910711024

Program Studi : Program Studi Kedokteran Umum

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa tugas akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.



Malang, Februari 2013

Dhany Pristiano Indirwan

NIM 09107111024

LAMPIRAN 2

Dokumentasi Proses Praktikum



Gambar 1. Pemeliharaan Tikus



Gambar 2. Penyondean Tikus



Gambar 3. Pemaparan asap mesin berbahan bakar bensin



Gambar 4. Pemaparan Tikus di dalam box kaca



Gambar 5. Proses mematikan tikus



Gambar 6. Alat Pemaparan Asap





Gambar 7. Pengambilan organ paru - paru



Gambar 8. Organ paru yang di awetkan dengan formalin



Gambar 9. Hasil ekstraksi kacang tunggak



Gambar 10. Ekstraksi kacang tunggak



Gambar 11. Mikroskop Olympus PhotoSlide BX53 dengan Kamera DP71 12 Megapixel

Lampiran 3

Hasil Analisa Statistik

Tabel 1 Hasil Uji Normalitas Data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter_Paru
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	12,86028
	Std. Deviation	4,815945
Most Extreme Differences	Absolute	,192
	Positive	,186
	Negative	-,192
Kolmogorov-Smirnov Z		1,151
Asymp. Sig. (2-tailed)		,142

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Tabel 2 Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Diameter_Paru

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,470	8	27	,214

Tabel 3 Hasil Uji One Way ANOVA

ANOVA

Diameter_Paru

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	804,744	8	100,593	386,751	,000
Within Groups	7,023	27	,260		
Total	811,767	35			



Tabel 3 Hasil Uji Post Hoc Tukey

	0	1	2	3	4	5	6	7	8
0	-	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
1	0,000	-	0,000	0,806	0,000	0,099	0,000	0,000	0,000
2	0,000	0,000	-	0,000	0,999	0,000	1,000	0,000	0,000
3	0,000	0,806	0,000	-	0,000	0,862	0,000	0,000	0,000
4	0,000	0,000	0,999	0,000	-	0,000	1,000	0,000	0,000
5	0,000	0,099	0,000	0,862	0,000	-	0,000	0,000	0,000
6	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	-	0,000	0,000
7	0,556	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-	1,000
8	0,398	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	-

Homogeneous Subsets

Diameter_Paru

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol (-) / Normal	4	7,18375		
Kontrol + Genistein	4	7,90500		
Kontrol + O2	4	7,99900		
Asap 2 menit dengan genistein	4		11,66300	
Asap 3 menit dengan genistein	4		11,80025	
Asap 4 menit dengan genistein	4		11,90025	
Asap 2 menit tanpa genistein	4			18,54050
Asap 4 menit tanpa genistein	4			19,11125
Asap 3 menit tanpa genistein	4			19,63950
Sig.		,398	,999	,099

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Diameter_Paru

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol (-) / Normal	4	7,18375		
Kontrol + Genistein	4	7,90500		
Kontrol + O2	4	7,99900		
Asap 2 menit dengan genistein	4		11,66300	
Asap 3 menit dengan genistein	4		11,80025	
Asap 4 menit dengan genistein	4		11,90025	
Asap 2 menit tanpa genistein	4			18,54050
Asap 4 menit tanpa genistein	4			19,11125
Asap 3 menit tanpa genistein	4			19,63950
Sig.		,398	,999	,099

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Tabel 4 Hasil Uji Korelasi

		Correlations	
		Diameter_Paru	Perlakuan
Diameter_Paru	Pearson Correlation	1	-,252
	Sig. (2-tailed)		,004
	N	36	36
Perlakuan	Pearson Correlation	-,252	1
	Sig. (2-tailed)	,004	
	N	36	36



Tabel 4 Hasil Uji Regresi

Model Summary									
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Change Statistics				
					R Square Change	F Change	df1	df2	Sig. F Change
1	,638 ^a	,407	,387	3,629853	,407	20,602	1	30	,000

a. Predictors: (Constant), Perlakuan



Lembar Form Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")
No. 368 / EC / KEPK - S1 / 11 / 2012

Setelah Tim Etik Penelitian Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan :

- Judul : Efek Ekstrak Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) Terhadap Diameter Alveoli Paru Tikus Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) Pada Berbagai Waktu Paparan Asap Kendaraan Bermotor
- Peneliti : Dhany Pristiano Indirwan
- NIM : 0910711024
- Unit / Lembaga : Jurusan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang
- Tempat Penelitian : Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Malang, 30 NOV 2012



Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc, SpParK
NIP. 19520410 198002 1 001



Lampiran 5

PROSES Pengerjaan Preparat Histo Patologi

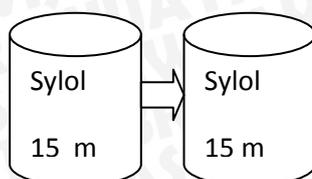
I. PROSES PEMOTONGAN Jaringan Berupa Makros

1. Gross hasil bedah dimasukkan ke larutan formalin 10 (fiksasi) semalam
2. Jaringan di pilih yang terbaik sesuai dengan yang akan di teliti
3. Jaringan di potong kurang lebih ketebalan 2-3 mili meter
4. Di masukan kekaset dan di beri kode sesuai dengan kode gross peneliti
5. Dimasukan ke larutan formalin 10 % sebelum di proses/ dimasukan ke alat Tissue Tex Prosesor
6. Di proses menggunakan alat/mesin Tissue Tex Prosesor selama 90 Menit
7. Alarm bunyi tanda selesai.

II. PROSES PENGEBLOKAN & PEMOTONGAN Jaringan

1. Jaringan di angkat dari mesin Tissue Tex Prosesor
2. Jaringan di blok dengan paraffin sesuai kode jaringan
3. Jaringan di potong dengan alat microtome ketebalan 3-5 mikron

III. PROSES DEPARAFINISASI



Setelah di sayat atau di potong dengan ketebalan 3-5 mikron , di taruh dalam oven selama 30 Menit dengan suhu panas 70-80 drajat , kemudian di

masuk ke dalam 2 tabung larutan sylol masing-masing 20 menit, setelah itu di masuk ke 4 tabung alkohol masing-masing tempat 3 menit (Hidrasi), dan yang terakhir dimasukan air mengalir selama 15 menit

IV. PROSES PEWARNAAN (HE)

- | | |
|---|-------------|
| 1. Cat utama Harris Hematoksilin selama | 10-15 Menit |
| 2. Cuci dengan air mengalir selama | 15 Menit |
| 3. Alkohol asam 1 % | 2-5 Celup |
| 4. Amonia air | 3-5 Celup |
| 5. Cat pembanding : | |
| - Eosin 1% selama | 10-15 Menit |

V. Dehidrasi ;

- Alkohol 70% 3 menit
- Alkohol 80% 3 menit
- Alkohol 96% 3 menit
- Alkohol Absolud 3 menit

VI. Penjernihan (Clearring) :

- Xylol 60 menit
- Xylol 60 menit

VII. Mounting dengan entelan dan deckglass.

- Biarkan slide kering pada suhu ruangan
- Seteah slide kring siap untuk diamati

