

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *In Vitro* DAN *In Vivo* EKSTRAK DAUN
SALAM (*Eugenia polyantha*) DENGAN PARAMETER HISTOLOGI
PARU-PARU MENCIT JANTAN *Mus musculus*
YANG TERPAPAR ASAP ROKOK**



Oleh :

Andi Setiawan

23175107A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *In Vitro* DAN *In Vivo* EKSTRAK DAUN
SALAM (*Eugenia polyantha*) DENGAN PARAMETER HISTOLOGI
PARU-PARU MENCIT JANTAN *Mus musculus*
YANG TERPAPAR ASAP ROKOK**



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S. Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

Andi Setiawan

23175107A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2021**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *In Vitro* DAN *In Vivo* EKSTRAK DAUN
SALAM (*Eugenia polyantha*) DENGAN PARAMETERHISTOLOGI
PARU-PARU MENCIT JANTAN *Mus musculus*
YANG TERPAPAR ASAP ROKOK**

Oleh :

Andi Setiawan

23175107A

Dipertahankan dihadapan Panitia Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 18 Januari 2021


Dekan,

Prof. Dr. apt. R. A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc.

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Pembimbing Utama



Dr. apt. Gunawan Pamudji W., M.Si.

Pembimbing Pendamping



apt. Ismi Puspitasari, M.Farm.

Penguji :

1. Dr. apt. Wiwin Herdwiani, S.F., M.Sc
2. apt. Yane Dila Keswara, M.Sc
3. apt. Avianti Eka Dewi AP, S.Farm., M.Sc
4. Dr. apt. Gunawan Pamudji W., M.Si.


.....
.....
.....
.....

HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji syukur Alhamdulillah atas kehadiran Allah S.W.T yang telah memberikan berkat rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulis diberikan kekuatan hati dan fikiran untuk menyelesaikan tugas akhir ini.

“ Allah SWT akan meninggikan orang-orang di antara kamu, Dan orang-orang yang memberikan ilmu pengetahuan tentang derajat”

(Q.S Al Mujadalah : 11)

“Intelligence plus character that’s is the goal of true education”

Martin Luther King Jr

Skripsi ini ku persembahkan kepada:

- **Bapak, Ibu dan Keluargaku tercinta.**

Bapak, almh. Mamak, dan Mamak, adikku, serta keluarga besarku. Terima kasih atas dukungan dan do’a baik moral maupun materil dalam keadaan suka maupun duka. Bapak dan mamak, karya ini tidak ada apa-apanya dibanding dengan apa yang sudah kalian berikan selama ini. Aku mencintaimu sepenuh hatiku, terima kasih.

- **Dosen pembimbing tugas akhir.**

Dr. apt. Gunawan Pamudji W., M.Si., dan apt. Ismi Puspitasari, M.Farm., selaku dosen pembimbing tugas akhir Saya. Terimakasih atas bantuan dan bimbingannya serta kesabarannya dalam membimbing saya selama ini.

- **Kawan seperjuangan angkatan 2017.**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 16 Januari 2021

Tanda Tangan



Andi Setiawan

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah S.W.T yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *In Vitro* DAN *In Vivo* EKSTRAK DAUN SALAM (*Eugenia polyantha*) DENGAN PARAMETER HISTOLOGI PARU-PARU MENCIT JANTAN *Mus musculus* YANG TERPAPAR ASAP ROKOK”**. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh derajat sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. apt. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. apt. Gunawan Pamudji W., M.Si., selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. apt. Ismi Puspitasari, M.Farm. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Ayah, Ibu, adik dan semua keluarga terima kasih untuk doa, dukungan dan semangat yang diberikan
7. Serta kawan dari semester 1-7 ini menemani saya dalam susah maupun senang terima kasih banyak atas bantuan dan supportnya selama ini supaya skripsi ini selesai.
8. Segenap dosen, staf, laboran, dan asisten laboratorium, perpustakaan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.

9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari pihak terkait maka skripsi ini tidak selesai dengan baik. Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat berharap kritik dan saran. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.

Surakarta, 16 Januari 2021

DAFTAR ISI

	Halaman
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Kegunaan Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Paru-paru	6
1. Anatomi Paru-paru	6
1.1 Bronkus	7
1.2 Bronkiolus	7
1.3 Bronkiolus terminalis	7
1.4 Bronkiolus respiratorius	8
1.5 Alveolus.	8
2. Histopatologi paru-paru.....	9
B. Radikal Bebas	10
C. Antioksidan.....	11
1. Definisi Antioksidan.....	11
2. Mekanisme kerja antioksidan	12
3. Metode DPPH.....	13
D. Rokok	14

1.	Definisi rokok.....	14
2.	Definisi rokok elektrik.....	15
3.	Cara kerja rokok elektrik.....	15
4.	Kandungan <i>e-liquid</i> rokok elektrik.....	16
5.	Dampak rokok bagi kesehatan	16
E.	Daun Salam.....	18
1.	Morfologi.....	18
2.	Sistematika tumbuhan	19
3.	Nama asing	19
5.	Manfaat.....	20
6.	Kandungan kimia.....	20
6.1.	Flavonoid.	20
6.2.	Alkaloid.....	21
6.3.	Tanin.	22
6.4.	Triterpenoid dan steroid	22
6.5.	Saponin.....	22
F.	Simplisia	23
1.	Definisi simplisia.....	23
2.	Pengumpulan simplisia.....	23
3.	Pencucian dan pengeringan simplisia.....	24
G.	Ekstrak	24
1.	Definisi ekstrak.....	24
2.	Metode ekstraksi.....	24
2.1.	Maserasi.	24
2.2.	Perkolasi.....	25
2.3.	<i>Soxhletasi</i>	25
2.4.	Refluks	25
2.5.	Infundasi.....	26
H.	Mencit (<i>Mus musculus</i>)	26
I.	<i>Smoking Box</i>	28
J.	Landasan Teori	28
K.	Hipotesis	30

BAB III METODE PENELITIAN..... 31

A.	Populasi dan Sampel.....	31
B.	Variabel Penelitian	31
1.	Identifikasi variabel utama	31
2.	Klasifikasi variabel utama	31
3.	Definisi operasional variabel utama	32
C.	Alat, Bahan dan Hewan Uji.....	33
1.	Alat	33
2.	Bahan.....	33
2.1.	Bahan.....	33
2.2.	Bahan kimia	33

3.	Hewan uji.....	34
D.	Jalannya Penelitian	34
1.	Determinasi tanaman salam.....	34
2.	Pengambilan dan pengeringan daun salam.....	34
3.	Pembuatan serbuk daun salam.....	34
4.	Penetapan kelembaban serbuk simplisia	34
5.	Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk simplisia	35
5.1.	Alkaloid.....	36
5.2.	Saponin.....	35
5.3.	Tanin	35
5.4.	Flavonoid	35
5.5.	Steroid dan Triterpenoidoid	36
6.	Pembuatan ekstrak etanol daun salam.....	36
7.	Penetapan kadar air ekstrak etanol daun salam	36
8.	Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun alam.....	37
8.1.	Alkaloid.....	37
8.2.	Saponin.....	37
8.3.	Tanin	37
8.4.	Flavonoid	37
8.5.	Steroid dan Triterpenoidoid	38
9.	Pengujian antioksidan <i>in vitro</i>	38
9.1.	Pembuatan larutan stok DPPH.....	38
9.2.	Pembuatan larutan Vipro G.....	38
9.3.	Pembuatan larutan stok ekstrak etanol daun salam.....	38
9.4.	Penentuan panjang gelombang maksimum	38
9.5.	Penentuan <i>operating time</i> (OT).....	39
9.6.	Uji aktivitas penangkap radikal bebas.....	39
10.	Penetapan <i>inhibitory concentration</i> (IC ₅₀).....	39
11.	Penentuan dosis	40
11.1.	Dosis Vipro G	40
11.2.	Dosis ekstrak etanol daun salam	40
12.	Pembuatan larutan uji	40
12.1.	CMC Na 0,5%	40
12.2.	Vipro G.....	40
12.3.	Sediaan uji.....	40
13.	Pengelompokan dan perlakuan hewan uji	40
14.	Pengambilan organ paru	41
15.	Penyiapan preparat histologi	41
16.	Persentase derajat kerusakan jaringan alveolus paru-paru mencit	43
E.	Analisis Data.....	44
F.	Alur Penelitian	45
BAB IV_HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		47
A.	Hasil Penelitian.....	47

1.	Hasil determinasi daun salam (<i>Eugenia polyantha</i>).....	47
2.	Hasil pengeringan simplisia	47
3.	Hasil pembuatan serbuk dan ekstrak daun salam.....	47
4.	Hasil identifikasi dan kontrol kualitas serbuk daun salam	47
	4.1. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk.....	47
	4.2. Hasil pemeriksaan kadar lembab	48
	4.3. Hasil skrining fitokimia serbuk daun salam.....	48
5.	Pembuatan ekstrak etanol daun salam.....	49
	5.1. Hasil identifikasi ekstrak daun salam.....	49
	5.2. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun salam	50
	5.3. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun salam	50
B.	Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Salam ...	51
	1. Hasil Penentuan panjang gelombang maksimum.....	51
	2. Penentuan <i>operating time</i> (OT)	52
	3. Uji aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH.....	52
C.	Hasil Pemeriksaan Histologi Alveolus Paru Mencit	58
BAB V_KESIMPULAN DAN SARAN.....		66
A.	Kesimpulan.....	66
B.	Saran	66
DAFTAR PUSTAKA		67
LAMPIRAN.....		77

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kriteria Mencit <i>Mus musculus</i>	27
Tabel 2. Persentase derajat kerusakan histologi paru mencit.....	44
Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk daun salam.....	48
Tabel 4. Hasil pemeriksaan kadar lembab	48
Tabel 5. Hasil pemeriksaan identifikasi kandungan kimia serbuk daun salam.....	49
Tabel 6. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak daun salam.....	50
Tabel 7. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun salam	50
Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun salam	51
Tabel 9. Nilai IC ₅₀ ekstrak etanol daun salam dan Vipro G.....	55
Tabel 10. Klasifikasi kerusakan alveolus paru.....	59

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Anatomi paru.....	7
Gambar 2. Bronkiolus <i>Terminalis</i> (bagian melintang). Pewarnaan: <i>hematoxylin</i> dan <i>eosin</i>	8
Gambar 3. Dinding alveolus dan sel alveolus.....	9
Gambar 4. Histopatologi paru normal mencit.....	10
Gambar 5. Metode reaksi DPPH.....	13
Gambar 6. Cara kerja rokok elektrik.....	15
Gambar 7. Daun salam.....	18
Gambar 8. Mencit <i>Mus musculus</i>	27
Gambar 9. Alur penelitian.....	45
Gambar 10. Pengujian aktivitas antioksidan.....	46
Gambar 11. Alur pemeriksaan histologi.....	46
Gambar 12. OT ekstrak daun salam dan Vipro G.....	52
Gambar 13. Nilai absorbansi dan persen penghambatan ekstrak etanol daun salam.....	54
Gambar 14. Nilai absorbansi dan persen penghambatan Vipro G.....	55
Gambar 15. Skoring kerusakan alveolus paru.....	59
Gambar 17. Persentase kerusakan alveolus paru	60
Gambar 18. Hasil pengamatan mikroskopis histologi jaringan alveolus paru.....	62

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Determinasi daun salam	78
Lampiran 2. <i>Ethical clearance</i>	80
Lampiran 3. Tanaman salam	82
Lampiran 4. Foto ekstrak etanol daun salam	82
Lampiran 5. Foto hasil uji kadar lembab serbuk daun salam.....	83
Lampiran 6. Hasil uji identifikasi senyawa kimia serbuk daun salam.....	83
Lampiran 7. Hasil uji kadar air ekstrak daun salam.....	86
Lampiran 8. Hasil uji identifikasi senyawa kimia ekstrak daun salam	88
Lampiran 9. Lamda maksimum DPPH	90
Lampiran 10. Hasil <i>Operating time</i>	91
Lampiran 11. Grafik persamaan regresi linier larutan uji	92
Lampiran 12. Perhitungan rendemen simplisia kering terhadap daun salam.....	94
Lampiran 13. Perhitungan rendemen serbuk terhadap daun kering.....	94
Lampiran 14. Pemeriksaan kadar lembab serbuk daun salam	94
Lampiran 15. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun salam.....	95
Lampiran 16. Perhitungan kadar air <i>sterling bidwell</i>	95
Lampiran 17. Penimbangan DPPH dan pembuatan larutan stok	95
Lampiran 18. Pembuatan larutan stok Vipro G	96
Lampiran 19. Pembuatan stok ekstrak etanol daun salam	97
Lampiran 20. Perhitungan IC ₅₀ Vipro G dan ekstrak etanol daun salam	98
Lampiran 21. Penentuan dosis larutan uji	104
Lampiran 22. Skoring histologi paru	108
Lampiran 23. Histologi paru	109
Lampiran 24. Skoring dan klasifikasi kerusakan alveolus paru.....	111
Lampiran 25. Alat dan bahan proses penelitian	113
Lampiran 26. Hasil uji statistik IC ₅₀	118
Lampiran 27. Hasil uji statistik histologi alveolus paru.....	119

INTISARI

SETIAWAN, A., 2021, UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SECARA *In Vitro* DAN *In Vivo* EKSTRAK DAUN SALAM (*Eugenia polyantha*) DENGAN PARAMETER HISTOLOGI PARU-PARU MENCIT JANTAN *Mus musculus* YANG TERPAPAR ASAP ROKOK, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Asap rokok elektrik mengandung bahan kimia berbahaya, antara lain karbon monoksida, formaldehid, nikel, arsen, nikotin dan fenol menjadi sumber polutan dan radikal bebas. Untuk menangkalnya diperlukan antioksidan salah satunya daun salam sebagai antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan secara *in vitro* dan *in vivo* dengan parameter nilai IC_{50} , perbaikan jaringan alveolus paru, serta dosis efektif dari ekstrak daun salam sebagai antioksidan terhadap mencit jantan yang terpapar asap rokok elektrik.

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah preparasi ekstrak daun salam menggunakan uji *in vitro* DPPH untuk mengetahui potensi antioksidan yang dilanjutkan dengan uji *in vivo* pada hewan uji kelompok 1 kelompok normal tanpa perlakuan, kelompok 2 kelompok kontrol negatif diberikan CMC 0,5%, kelompok 3 kontrol positif diberikan Vipro G (0,52 g/ Kg BB mencit), kelompok 4 kelompok dosis I (3,5 g/ Kg BB mencit), kelompok 5 kelompok dosis II (7 g/ Kg BB mencit), dan kelompok 6 kelompok dosis III (14 g/ Kg BB mencit) yang terpapar asap rokok elektrik. Data yang diperoleh kemudian diuji menggunakan *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

Hasil pengujian antioksidan didapatkan nilai IC_{50} ekstrak daun salam sebesar 33,491 ppm yang digolongkan dalam aktivitas antioksidan sangat kuat. Gambaran histologi menunjukkan perbaikan jaringan alveolus paru yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok dosis I dan dosis III ($p < 0,05$). Kelompok dosis II menunjukkan perbaikan jaringan alveolus yang lebih signifikan dibanding kelompok kontrol positif ($p < 0,05$) sehingga dosis II (7 g/Kg BB) merupakan dosis efektif dalam penelitian.

Kata Kunci: Daun salam, antioksidan, IC_{50} , histologi paru-paru, radikal bebas, rokok elektrik

ABSTRACT

SETIAWAN, A., 2021, In Vitro AND In Vivo ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST FROM BAY LEAF EXTRACT (*Eugenia polyantha*) USING HISTOLOGICAL PARAMETERS LUNG OF MALE *Mus musculus* MICE EXPOSED TO CIGARETTE SMOKE, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY SURAKARTA.

E-cigarette smoke contain harmful chemicals, including carbon monoxide, nitrogen oxides, formaldehyde, nickel, arsenic, nicotine and phenols which are a source of pollutants and free radicals. To counteract this we need antioxidants, one of which is bay leaves as a natural antioxidant. This study aims to determine the antioxidant activity in vitro and in vivo with the parameter IC₅₀ value, repair of lung alveolar tissue, and the effective dose of bay leaf extract as an antioxidant against male mice exposed to electric cigarette smoke.

The stages of the research carried out were the preparation of bay leaf extract using the in vitro DPPH test to determine the potential for antioxidants followed by in vivo tests on the test animals in group 1 normal group without treatment, group 2 negative control group was given CMC 0.5%, group 3 positive control was given Vipro G (0.52 g / Kg BW of mice), group 4 dose group I (3.5 g / Kg BW mice), group 5 dose group II (7 g / Kg BW of mice), and group 6 dose group III (14 g / Kg BW of mice) exposed to e-cigarette smoke. The data obtained were then tested using *Kruskal Wallis* and continued with *Mann Whitney*.

The results showed that the IC₅₀ value of bay leaf extract was 33.491 ppm, which is classified as very strong antioxidant activity. The histology shows a significant repair of lung alveolar tissue between the negative control group and the dose I and dose III groups (p <0.05). The second dose group showed a more significant improvement in alveolar tissue than the positive control group (p <0.05) so that the second dose (7 g / Kg BW of mice) was the effective dose in the study.

Keywords: Bay leaves, antioxidants, IC₅₀, lung histology, free radicals, e-cigarettes

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Merokok merupakan hal biasa yang dilakukan oleh masyarakat baik laki-laki maupun perempuan. Bahaya merokok bagi kesehatan tubuh memang sangat besar, potensi kerusakan organ yang terpapar asap rokok juga sangat tinggi. Asap rokok mengandung campuran yang kompleks dari berbagai macam bahan kimia yang berikatan menjadi partikel aerosol atau menjadi udara bebas pada fase gas. Rokok konvensional merupakan rokok yang paling banyak dikonsumsi di kalangan masyarakat. Asap rokok konvensional diketahui mengandung sejumlah kurang lebih 4000 jenis bahan kimia berbahaya, antara lain karbon monoksida, nitrogen oksida, nitrosamin, nitrosopyrrolidine, formaldehid, piridin, benzopiren, nikel, arsen, nikotin, fenol dan tar. Zat-zat tersebut diketahui merupakan substansi berbahaya yang dapat mencederai jaringan paru (Putra *et al.* 2019). Perokok berpeluang besar terkena kanker paru-paru, dan penyakit kardiovaskuler (Barnoya & Glantz 2005).

Seiring berkembangnya zaman telah ditemukan dan tengah menjadi fenomena baru yaitu rokok elektrik atau *vaporizer* sebagai alternatif lain penggunaan rokok konvensional. Pengguna rokok elektrik ini kebanyakan adalah generasi milenial ataupun muda-mudi karena dinilai dapat membantu mengurangi ketergantungan dan sebagai alat berhenti merokok dari rokok konvensional di kalangan masyarakat Indonesia. Rokok elektrik atau *vaporizer* mengandung nikotin, *propylene glycol*, *glycerin*, dan *essence* (perasa) yang terkandung dalam cairan rokok elektrik (Kosmider *et al.* 2014). Cairan yang digunakan dalam rokok elektrik (*e-liquid*) memiliki tingkatan kadar nikotin mulai 0 – 9 mg mengikuti pasar (Aini *et al.* 2018).

WHO memperkirakan jumlah perokok dunia sebanyak 2,5 milyar dengan dua pertiga dari jumlah perokok tersebut berada di negara berkembang. Prevalensi jumlah perokok di negara dengan pendapatan perkapita yang rendah lebih tinggi dan kelompok penduduk dewasa muda merupakan kelompok terbanyak sebagai

perokok dengan 27% pada pria dan 21% pada wanita. Data dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia pada Riset Kesehatan Dasar, didapati jumlah perokok di Indonesia meningkat dari 28,2% pada tahun 2007 menjadi 34,7% pada tahun 2010. Indonesia merupakan negara ketiga yang memiliki jumlah perokok aktif terbanyak di dunia yaitu 61,4 juta perokok setelah Cina dan India. Perilaku merokok penduduk Indonesia cenderung meningkat dari 34,2% pada tahun 2007 menjadi 36,3% pada tahun 2013 (WHO 2013). Merokok dalam jangka waktu yang panjang mempunyai resiko terhadap beberapa penyakit seperti aterosklerosis dan penyakit paru obstruksi kronik (PPOK) dengan dampak sistemik yang signifikan (Kemenkes RI. 2013). Selain itu asap rokok yang mengandung karbon monoksida yang mengakibatkan hipoksia jaringan karena memiliki afinitas yang tinggi dengan hemoglobin dan diduga merupakan penyebab utama penyakit kardiovaskular (Tursinawati *et al.* 2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Triana *et al.* (2013) mengenai gambaran histologi *pulmo* mencit jantan setelah dipapar asap rokok elektrik menggunakan jenis rokok elektrik dengan kandungan rasa *strawberry* dan gudang garam secara *kontinyu* selama dua minggu, diperoleh hasil terjadi kerusakan pada struktur mikroanatomi paru-parunya. Akibat dari paparan rokok elektrik tersebut dapat meningkatkan radikal bebas yang semakin lama semakin reaktif sehingga mampu memicu stres oksidatif. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Putra *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa apabila terjadi proses ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas yang dihasilkan dari pembakaran rokok elektrik maupun rokok konvensional yang menyebabkan stres oksidatif serta teraktivasinya sel radang yang mengakibatkan inflamasi. Proses inflamasi ini terjadi karena teraktivasinya berbagai mediator inflamasi, salah satunya adalah prostaglandin. Prostaglandin ini disintesis dari asam arakidonat dengan bantuan enzim *cyclooxygenase* (COX1 dan COX2) yang kemudian menyebabkan inflamasi pada sel, nekrosis, perubahan bentuk pada septum alveolus dan edema.

Salah satu upaya yang bisa dilakukan untuk mencegah kerusakan pada tubuh akibat radikal bebas adalah dengan pemberian antioksidan. Antioksidan melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas. Vipro G merupakan produk

multivitamin yang baru-baru ini sedang beredar dan diklaim sebagai suplemen yang berfungsi sebagai antioksidan khususnya untuk para pengguna rokok. Menurut produsen PT. Lapi, Vipro G mengandung beberapa bahan aktif seperti *Epigallocatechin gallate* 25000 mcg, taurine 1000 mg, vitamin C 1000 mg, Zn picolinate 25 mg, dari ke empat bahan tersebut terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Dengan keunggulan bentuk sediaan tablet *effervescent* dengan rasa yang dapat diterima oleh banyak konsumennya. Dosis pemakaian Vipro G adalah 1 kali sehari 1 tablet, dengan cara melarutkannya ke dalam 150-200 mL air dingin. Maka pada penelitian ini, Vipro G digunakan sebagai kontrol positif.

Alternatif lain yang dapat digunakan adalah memanfaatkan tanaman sebagai sumber antioksidan. Beberapa tanaman mempunyai kemampuan sebagai antioksidan alami, salah satunya adalah daun salam. Daun salam sebagai obat asli Indonesia banyak digunakan oleh masyarakat untuk menurunkan kolesterol, kencing manis, hipertensi, gastritis, dan diare. Daun salam diketahui mengandung flavonoid, selenium, vitamin A, dan vitamin E yang diketahui memiliki efek antioksidan alami (Riansari 2008). Menurut Hasanah (2015) ekstrak daun salam memiliki kandungan alkaloid, saponin, kuinon, fenolik, triterpenoid, steroid dan flavonoid. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan dengan mekanisme kerja membentuk ikatan kompleks dengan ion logam, dan menghambat inisiasi metal untuk melakukan oksidasi (Winarsi 2005).

Pengujian DPPH digunakan untuk mengukur dan membandingkan aktivitas antioksidan senyawa fenolik, antioksidan akan bereaksi dengan DPPH yang menstabilkan radikal bebas dan mereduksi DPPH. Selanjutnya DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredam radikal bebas membentuk senyawa DPPH hidrasin yang bersifat lebih stabil. Beberapa kelebihan metode DPPH antara lain adalah mudah, sederhana, cepat, serta hanya memerlukan sedikit sampel. Pengujian DPPH menggunakan instrumen spektrofotometer *UV-Vis* dibaca pada panjang gelombang 517 nm (Ningsih 2019). Menurut penelitian Utami *et al.* (2008) daun dewandaru yang merupakan satu genus dengan daun salam memiliki aktivitas sebagai antioksidan secara *in vitro*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan aktivitas penangkap radikal bebas fraksi nonpolar ekstrak

etanol daun dewandaru semakin meningkat pada sifat fraksi yang semakin polar. Menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) didapatkan nilai IC_{50} sampel 0,005 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan vitamin E sebesar 0,0089 $\mu\text{g/mL}$ sebagai pembanding. Penelitian lain menyebutkan ekstrak etanol daun salam berumur tua memiliki nilai IC_{50} 11,001 ppm (Rahman *et al.* 2014).

Dalam penelitian *in vivo* yang telah dilakukan oleh Indrayana (2008) diperoleh hasil dosis efektif pemberian ekstrak etanol daun salam ke hewan uji sebesar 2,5 g/KgBB dan 5,0 g/KgBB pada pemberian dosis tunggal mempunyai efek antioksidan pada serum darah tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi karbon tetraklorida 11,2% (v/v). Diperkirakan efek tersebut merupakan aktivitas antioksidan dari senyawa flavonoid. Menurut Simanjuntak (2012) flavonoid dapat menambah fungsi kerja antioksidan endogen salah satunya SOD, kerja SOD akan semakin aktif dengan adanya senyawa polifenol.

Dari uraian di atas, maka akan dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) sebagai antioksidan menggunakan parameter kualitatif yang ditunjukkan dengan perbaikan jaringan alveolus, serta parameter kuantitatif ditunjukkan dengan nilai IC_{50} menggunakan metode DPPH.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

Pertama, apakah ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) memiliki aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC_{50} menggunakan metode DPPH?

Kedua, apakah ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) memiliki aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan perbaikan jaringan alveolus paru mencit jantan *Mus musculus* yang terpapar asap rokok elektrik?

Ketiga, berapakah dosis efektif ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) sebagai antioksidan terhadap paru-paru mencit jantan *Mus musculus* yang terpapar asap rokok elektrik?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah :

Pertama, untuk mengetahui ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) memiliki aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ menggunakan metode DPPH.

Kedua, untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) memiliki aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan perbaikan jaringan alveolus paru mencit jantan *Mus musculus* yang terpapar asap rokok elektrik?

Ketiga, untuk mengetahui dosis efektif ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) sebagai antioksidan terhadap paru-paru mencit jantan *Mus musculus* yang terpapar asap rokok elektrik.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bukti ilmiah pemberian ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) sebagai antioksidan paru-paru mencit jantan *Mus musculus* yang terpapar rokok elektrik serta dapat dijadikan acuan untuk penelitian di masa mendatang. Penelitian ini dapat diberikan sebagai informasi untuk ilmu pengetahuan di masyarakat bahwa pemberian ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) merupakan antioksidan alami yang dapat digunakan sebagai perlindungan dari kondisi stres oksidatif akibat paparan asap rokok yang berpotensi menyebabkan penyakit degeneratif.