

The Total of Leukocytes Mice (*Mus musculus*) Exposed To Secondhand Smoke Extract And Given Watermelon (*Citrullus vulgaris*)

Dewi Mauliza¹, Rusli², Roslizawaty², Rosmaidar³, Rinidar³, Dian Masyitha⁴

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: dewimauliza@gmail.com

ABSTRACT

This study aimed to determine the effect of the red watermelon extract can affect the number of leukocytes in mice exposed to cigarette smoke. This study was designed with a completely randomized design using a unidirectional pattern 20 male mice (Mus musculus) were divided into 4 groups. K1 negative controls were given 0.5 ml of distilled water, K2 positive control by exposure to cigarette smoke and 0.5 ml of distilled water, K3 by exposure to cigarette smoke and red watermelon extract were given a dose of 22 mg / mouse and K4 by exposure to cigarette smoke and were given extracts of red watermelon a dose of 44 mg / mouse. Exposure to cigarette smoke and red watermelon extract conducted for 30 days, making blood on day 31. Blood sampling performed at Plexus Retroorbitalis. Furthermore, counting the number of leukocytes. Data were analyzed using ANOVA completely randomized design with SPSS for Windows 16.0. The results of this study showed that the extract of watermelon for 30 days showed their real influence ($P < 0.05$) to the number of leukocytes in mice. It is concluded that free radicals contained in cigarette can cause a leukocytosis, an inflammatory, oxidative stress and red watermelon extract can minimize cell damage.

Key words: smoke, leukocytes, watermelon.

PENDAHULUAN

Rokok secara luas telah menjadi salah satu penyebab kematian terbesar di dunia. Diduga hingga menjelang tahun 2030 kematian akibat merokok akan mencapai 10 juta orang pertahunnya. Indonesia merupakan salah satu negara berkembang yang memiliki tingkat konsumsi rokok dan produksi rokok yang tinggi. Variasi produk dan harga rokok di Indonesia telah menyebabkan Indonesia menjadi salah satu produsen sekaligus konsumen rokok terbesar di dunia. Menurut Bank Dunia, konsumsi rokok Indonesia sekitar 6,6% dari seluruh konsumsi dunia (Depkes, 2005).

Asap rokok mengandung kurang lebih dari 4.800 jenis bahan kimia, salah satunya seperti nikotin, karbonmoksida, dan tar. Asap rokok dapat dibedakan menjadi dua,

yaitu asap utama (*mainstream smoke*) atau asap yang dihisap oleh si perokok dan asap samping (*sidestream smoke*) yang merupakan asap yang terus menerus keluar dari ujung rokok (Batubara dkk., 2013). Asap samping mengandung 4-6 kali lebih banyak nikotin dibanding dari asap utama, karena asap samping terus menerus dihasilkan selama rokok menyala walaupun tidak sedang dihisap (Susana dkk., 2003). Kandungan yang terdapat dalam asap rokok membentuk radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel (Sari, 2014).

Radikal bebas merupakan produk sampingan dari pembentukan energi selama proses metabolisme tubuh. Selain dihasilkan oleh proses metabolisme dalam tubuh, radikal bebas juga dapat terbentuk melalui aktivitas pembakaran bahan bakar kendaraan

bermotor, merokok, dan paparan sinar ultraviolet juga mampu merubah elektron dalam atom menjadi bersifat radikal (Muthmainnah dkk., 2014). Terdapat sekitar 10 molekul oksidan per batang. Kandungan yang paling berbahaya dari rokok adalah nikotin. Nikotin merupakan salah satu zat beracun yang bekerja sangat cepat. Ketika asap rokok masuk kedalam tubuh maka terjadi respon inflamasi ditunjukkan dengan naiknya produksi mediator pro inflamasi yang nantinya akan menaikkan jumlah total leukosit dalam darah (Permatasari, 2005).

Leukosit adalah sel darah yang berperan khusus dalam sistem pertahanan tubuh. Seseorang yang mendapatkan paparan asap rokok dalam jangka waktu yang lama secara terus menerus memiliki jumlah leukosit 20 – 25% lebih tinggi dibandingkan orang yang tidak merokok (Terashima dkk., 1997). Terdapat hubungan positif yang kuat antara merokok dengan jumlah total leukosit pada perokok. Mekanisme kenaikan leukosit pada perokok masih belum diketahui secara jelas. Namun diketahui nikotin dapat menyebabkan leukositosis dengan bersirkulasinya katekolamin karena kenaikan hormon seperti epinephrine dan kortisol (Haider dan Rauf, 2010).

Semangka termasuk salah satu buah yang sering dikonsumsi masyarakat dan merupakan salah satu sumber likopen yang berperan sebagai antioksidan (Bijak, 2010). Likopen merupakan senyawa karotenoid yang memiliki kemampuan untuk mengendalikan radikal bebas 100 kali lebih efisien dibandingkan dengan vitamin E dan 12.500 kali lebih efisien dibandingkan glutathion (Maulida dan Zulkaenaen, 2010). Semangka mengandung likopen relatif lebih tinggi dibandingkan dengan tomat. Semangka mengandung likopen yaitu 23-72 mikrogram/gram berat kering, sedangkan tomat mengandung likopen 8,8-42 mikrogram/gram berat kering (Novita dkk., 2010).

MATERI DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari hingga Februari 2016. Pembuatan ekstrak semangka merah dilakukan di Laboratorium Farmakologi, selanjutnya penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan Coba dan pemeriksaan leukosit di Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan 20 ekor mencit (*Mus musculus*), berjenis kelamin jantan, umur 12-16 minggu dengan berat badan 20-30 g.

Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang mencit beralaskan sekam, spuit 1 ml, *smoking chamber*, sonde lambung, timbangan digital, blender, sarung tangan, kertas saring, *vacutainer tube*, pipet mikrohematokrit, *rotary evaporator*, *hematology analyzer*, kamera dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*), ekstrak semangka merah (*Citrullus vulgaris*), rokok, pakan, air minum mencit dan EDTA (*Ethylen Diamine Tetraacetic Acid*).

Metode Penelitian

Penelitian adalah penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola satu arah. Mencit dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dengan 5 ulangan. Pembagian kelompok adalah sebagai berikut: Kelompok I (K1) sebagai kontrol negatif yaitu kelompok yang diberi aquadest sebanyak 0,5 ml per ekor.

Kelompok II (K2) sebagai kontrol positif yaitu kelompok yang diberi paparan asap rokok dan aquadest 0,5 ml per ekor. Kelompok III (K3) yang diberi paparan asap rokok dan diberi ekstrak semangka dengan dosis 22 mg per ekor. Kelompok IV (K4) yang diberi paparan asap rokok dan diberi ekstrak buah semangka dengan dosis 44 mg per ekor (Yugo, 2011).

Prosedur Penelitian

Ekstraksi Buah Semangka (*Citrullus vulgaris*)

Proses ekstraksi dilakukan pada buah segar, buah semangka diperoleh dari pasar Lamnyong Darussalam, Banda Aceh. Semangka yang digunakan adalah semangka merah berbentuk lonjong dan berbiji. Semangka dicuci bersih dan dilap menggunakan tisu bersih. Selanjutnya dikupas kulitnya kemudian ditimbang seberat 5 kg. Lalu dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan blender. Selanjutnya direndam dalam pelarut etanol 96% sebanyak 1 liter selama 2x24 jam, kemudian disaring dengan kertas saring dan diambil filtratnya. Setelah itu dirotasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan kecepatan 200 rpm hingga dihasilkan ekstrak kental 100%. Tahap akhir ekstrak semangka dikemas dalam botol.

Persiapan Hewan Coba

Mencit dipelihara dalam kandang individual, dibersihkan setiap hari, memiliki sirkulasi udara serta tersedia cahaya yang cukup. Mencit-mencit tersebut diadaptasi selama 7 hari dengan pemberian pakan lele t79-4p dan air minum *ad libitum*.

Pemaparan Asap Rokok dan Pemberian Ekstrak Semangka

Pemaparan asap rokok dan pemberian ekstrak semangka dilakukan selama 15 hari. Asap rokok diberikan pada pagi hari dengan membakar 1 batang rokok yang

mengandung nikotin 1 mg dan 14 mg tar. Pemaparan asap rokok dilakukan didalam *smoking chamber* yaitu kandang kaca tertutup berukuran 50x40x40 cm yang mempunyai lubang sebagai sirkulasi udara dan didasar kandang dibuat lubang untuk meletakkan rokok yang telah dibakar. Pemberian ekstrak semangka merah dilakukan pada sore hari menggunakan sonde lambung. Pada hari ke 31 dilakukan pengambilan darah mencit.

Proses pengambilan darah mencit

Sampel darah diambil dari setiap ekor mencit dari masing-masing kelompok perlakuan. Jadwal pengambilan sampel darah adalah hari ke 31 setelah di beri paparan asap rokok dan ekstrak semangka. Pengambilan darah dilakukan di *plexus retroorbitalis*. Kemudian dimasukkan kedalam tabung hampa udara (*vacuum tube*) yang telah berisi antikoagulan EDTA.

Pemeriksaan hematologi mencit

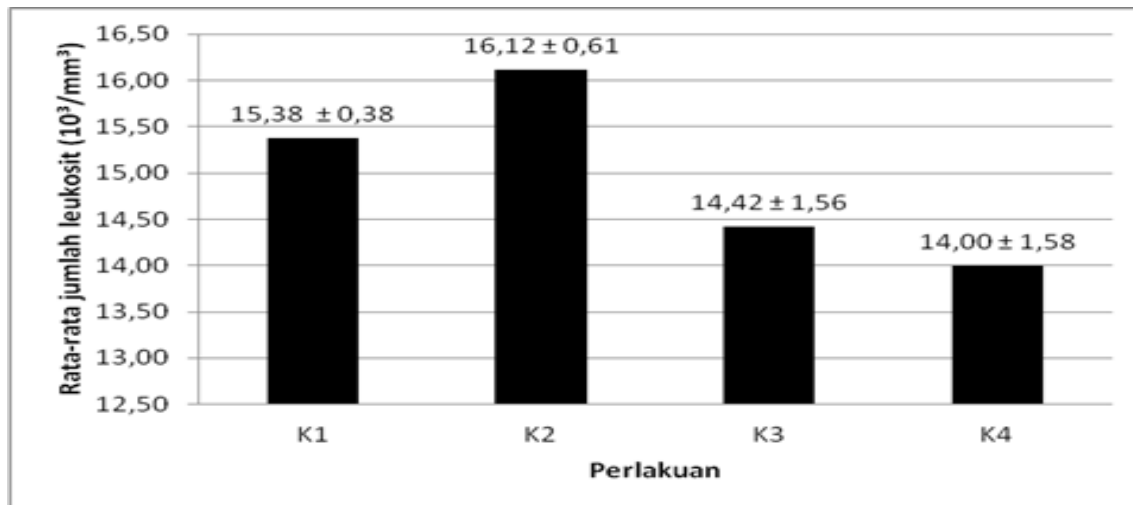
Pemeriksaan jumlah leukosit dilakukan dengan menggunakan *hematology analyzer*. Darah mencit sebanyak 2 ml dimasukkan dalam tabung penghisap. Hasil pada setiap pemeriksaan dengan alat mengeluarkan kertas berupa data jumlah leukosit.

Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan analisis varian satu arah dengan *confidence interval* 95% ($\alpha = 0,05$). Jika hasil menunjukkan ada pengaruh yang nyata maka analisis dilanjutkan menggunakan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian mengenai jumlah leukosit mencit (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok dan diberi ekstrak semangka (*Citrullus vulgaris*) didapatkan hasil pengamatan masing-masing kelompok perlakuan sebagai berikut.



Gambar 1. Rata-rata (\pm SD) jumlah leukosit mencit yang diberi paparan asap rokok dan ekstrak semangka selama 30 hari. K1 = Aquades 0,5 ml (kontrol); K2 = Paparan asap rokok dan aquades 0,5 ml; K3 = Paparan asap rokok dan ekstrak semangka 22 mg; K4 = Paparan asap rokok dan ekstrak semangka 44 mg.

Gambar 1. Menunjukkan hasil pemeriksaan mencit percobaan dengan kelompok perlakuan K1 yang diberikan aquades 0,5 ml, K2 yang dipapar asap rokok dan aquades 0,5 ml, K3 yang dipapar asap rokok dan ekstrak semangka 22 mg/mencit, dan K4 yang dipapar asap rokok dan ekstrak semangka 44 mg/mencit yang berpengaruh terhadap jumlah leukosit. Rata-rata nilai leukosit pada kelompok K1 $15,38 \times 10^3/\text{mm}^3$, K2 $16,12 \times 10^3/\text{mm}^3$, K3 $14,42 \times 10^3/\text{mm}^3$, dan K4 $14,00 \times 10^3/\text{mm}^3$. Dari data tersebut terlihat bahwa rata-rata jumlah leukosit terendah terdapat pada kelompok K4, sedangkan yang tertinggi pada kelompok K2. Menurut Kusumawati (2004), jumlah leukosit normal pada mencit $12,1 - 15,9 \times 10^3/\text{mm}^3$.

Berdasarkan uji statistik *one way* ANOVA menunjukkan bahwa paparan asap rokok dan pemberian ekstrak semangka merah terhadap jumlah leukosit berpengaruh nyata ($P < 0,05$) kemudian dilanjutkan dengan uji duncan yang dapat dilihat pada lampiran. Jumlah leukosit pada kelompok K2 menunjukkan paparan asap rokok berpengaruh terhadap jumlah leukosit. Pada

kelompok K3 dan K4 dapat dilihat pada efek ekstrak semangka merah dapat menurunkan jumlah leukosit. Dengan demikian efek terbaik terhadap penurunan jumlah leukosit dapat dilihat pada kelompok K3 yaitu kelompok yang diberi ekstrak semangka dengan dosis 22 mg/mencit.

Dari hasil penelitian didapat bahwa kelompok perlakuan K2 yaitu perlakuan yang diberi paparan asap rokok dan aquades 0,5 ml menunjukkan jumlah leukosit diatas nilai normal hal ini sesuai dengan pendapat (Terashima dkk., 1997) yang menyatakan leukosit atau sel darah putih adalah sel darah yang berperan khusus sebagai sistim imunitas. Seseorang yang mendapatkan paparan asap rokok dalam jangka waktu yang lama secara terus menerus memiliki jumlah leukosit 20 – 25% lebih tinggi dibandingkan orang yang tidak merokok.

Perokok aktif mendapatkan paparan langsung dari sebatang rokok, dan asapnya disebut dengan *minstream smoke*. Sedangkan perokok pasif terpapar oleh asap dari ujung rokok yang terbakar atau *sidestream smoke*. *Mainstream cigarette smoke* terdiri dari 8% fase tar dan 92% fase

gas. Asap rokok di ruangan sekitar perokok terdiri dari 85 % sidestream smoke, 15% mainstream smoke yang dihembuskan oleh perokok. Sidestream smoke relatif mengandung konsentrasi komponen gas beracun yang lebih tinggi dari pada mainstream cigarette smoke (Ambrose dan Berua., 2004). Asap rokok dapat mengakibatkan stress oksidatif dan nikotin yang terkandung didalam asap rokok jika terpapar terus menerus secara langsung akan membuat inflamasi yang serius ditandai dengan peningkatan jumlah leukosit (Alfisati, 2009).

Data hasil analisis di dapat bahwa kelompok K3 dan K4 dapat menurunkan jumlah leukosit. Hal ini dikarenakan buah semangka merah mengandung likopen berfungsi sebagai antioksidan yang mampu meredam *reactive oxygen species* (ROS) sehingga mengurangi stress oksidatif. Likopen bereaksi dengan radikal bebas peroksi atau hidroksil yang terbentuk dari hiperoksida yang berasal dari lipid, sehingga tidak lagi berbahaya untuk tubuh. Dengan demikian kandungan radikal bebas dapat dikurangi (Novita dkk., 2010). Biji semangka mengandung flavanoid yang berperan sebagai zat antiinflamasi yang dapat menstabilkan *reactive oxygen species* (ROS) sehingga radikal bebas menjadi inaktif dan menurunkan reaksi inflamasi (Hidayati dkk., 2005).

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak semangka merah dengan dosis 22 mg/kg bb mencit dapat menetralkan jumlah leukosit mencit setelah diberikan pemaparan asap rokok selama 30 hari.

DAFTAR PUSTAKA

Ambrose, J.A. and R.S. Barua. 2004. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease.

Journal of the American College of Cardiology. 43(10):137-173.

- Alfisati. 2009. **Strategi Rahasia Berhenti Merokok.** Datamedia, Yogyakarta
- Batubara, I .V. D, Wantouw. dan L, Tendean. 2013. Pengaruh paparan asap rokok kretek terhadap kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus*). **Jurnal e-Biomedik.** I(1):2-3
- Bijak, R.P.N.S.P. 2010. Pengaruh Jus Buah Semangka Merah (*Citrullus vulgaris*) Terhadap Kerusakan Sel Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Parasetamol. **Skripsi.** Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Depkes. 2005. **Merokok dan Promosi Kesehatan.** <http://www.promosikesehatan.com/artikel.html>. 27 November 2015
- Hidayati, N. S. Listyawati, dan A. Setyawan. 2005. Kandungan kimia dan uji antiinflamasi ekstrak etanol *Lantana camara* L . pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan. **Jurnal Bioteknologi** : 5(1), 10-17.
- Haider, M. and A, Rauf. 2010. Smoking habit and their association with total leukosit count among Healthy men in Karachi, Pakistan. **World appl. Sci. J.** 11(6):669-673.
- Kusumawati, D. 2004. **Bersahabat dengan Hewan Coba.** Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Muthmainnah, S. U, Syarifah. Dan A, Mulyono. 2014. Analisis Fisis Membran Biofilter Asap Rokok Berbahan Biji Kurma Untuk Menangkap Radikal Bebas. **Jurnal Neutrino.** 7(1):42-43.
- Maulida, D, dan N, Zulkarnaen. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran, n-Heksana, Aseton dan Etanol. **Skripsi.** Universitas Diponegoro, Semarang.
- Novita, M. J, Mangimbulude. Dan F, S. Rondonuwu. 2010. Karakteristik likopen sebagai antioksidan. **Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains, Universitas Kristen Satya Wacana.** Jakarta:24-26.
- Permatasari. N. D. 2015. Pengaruh pemberian sari batang nanas (*Ananas conusus*) terhadap total leukosit tikus wistar yang diberi paparan asap rokok. **Artikel Penelitian.** Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Sari, P. D. 2014. Effect Of Cigarette Smoke In Quality And Quantity Spermatozoa. **J Majority.** 7(3): 1-2
- Susana, D. B, Hartono. dan H, Fauzan. 2003. Penentuan kadar nikotin dalam asap rokok. **Jurnal Kesehatan.** 7(2):3.
- Terashima. B, Wings. D, English. J, Hogg. and S, Van Eeden. 1997. The effect of cigarette smoking on the bone marrow. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.** 155(3):3-5.
- Yugo, H. P. 2011. Efek Hepatoprotektor Jus Semangka Merah (*Citrullus vulgaris*) Terhadap Kerusakan Sel Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Akibat Paparan Parasetamol. **Skripsi.** Universitas Sebelas Maret. Surakarta.