

Kajian Pemberian Ekstrak Etanol Rumput Kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) Terhadap Diferensiasi Leukosit Tikus *Rattus norvegicus* Terpapar Asap Rokok

The Study Of Administration Ethanol Extract Kebar's Grass (Biophytum petersianum Klotzsch) On Leukocyte Differentiation In Rats Rattus norvegicus That Exposed To Cigarette Smoke

Jeanette Silvia Mataheru¹⁾, Adrien Jems Akiles Unity^{2*)}

^{1, 2*)} Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pattimura, Ambon

^{2*)} Corresponding Author e-mail: adebiologi@yahoo.co.id

Abstrak

Rumput kebar merupakan tumbuhan obat tradisional yang mengandung senyawa aktif yang berperan sebagai imunomodulator, antiinflamasi yang diduga mampu memperbaiki fungsi sistem imun yang terganggu fungsinya akibat paparan asap rokok. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) terhadap diferensiasi leukosit tikus *Rattus norvegicus* terpapar asap rokok. Penelitian menggunakan metode eksperimental laboratorik dengan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari empat perlakuan yang masing-masing diulang tiga kali, yaitu (-): Kelompok kontrol negatif yaitu tikus yang tidak diberi perlakuan, (+): Kelompok kontrol positif yaitu tikus dipaparkan asap rokok selama 28 hari, (0.067): Kelompok tikus yang dipapar asap rokok selama 28 hari kemudian diberi ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.067mg/ekor/hari selama 28 hari, dan (0.135): Kelompok tikus yang dipapar asap rokok selama 28 hari kemudian diberi ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.135mg/ekor/hari selama 28 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol rumput kebar mampu meningkatkan presentase leukosit dan diferensiasi leukosit mendekati kisaran normal dimana dosis paling efektif adalah dosis 0.135 mg

Kata kunci: Asap rokok, diferensiasi leukosit, rumput kebar (*Biophytum petersianum* K.).

Received: 3 Agustus 2020

Accepted: 10 September 2020

© 2020 Program Studi Diluar Kampus Utama (PSDKU) Universitas Pattimura-MBD

A. PENDAHULUAN

Kebiasaan merokok merupakan kebudayaan manusia sejak ratusan tahun yang lalu dan penggemarnya pun semakin meningkat. Saat ini sekitar 30 persen penduduk Indonesia adalah perokok, sedangkan berdasarkan jenis kelamin sekitar 60 persen laki-laki dan 5 persen wanita Indonesia perokok (WHO Global Youth Tobacco Survey, 2000). Rokok mengandung berbagai bahan kimia berbahaya antara lain nikotin, karbonmonoksida, tar dan eugenol. Semuanya bersifat karsinogenik dan toksik bagi tubuh (Yanbaeva *et al.*, 2007). Asap rokok tidak hanya berdampak bagi perokok aktif melainkan juga bagi orang yang berada di sekitar lingkungan asap rokok yang disebut perokok pasif (Susanna *et al.*, 2003; Nair and Ghos, 2013).

Paparan asap rokok dapat menyebabkan aktivitas radikal bebas karena mengandung molekul oksidan dengan konsentrasi tinggi. Saat menghirup asap rokok molekul oksidan masuk dan mengalami oksidasi dengan cara mendonorkan elektronnya ke molekul oksigen tubuh. Molekul oksigen akan berubah menjadi superoksida dan molekul turunan lainnya yang bersifat reaktif, atau disebut juga ROS (*Reactive Oxygen Species*) (Faux, 2011). Produksi ROS yang berlebihan dan menimbulkan kerusakan di berbagai tempat di dalam tubuh (Lee *et al.*, 2012). Pada kasus terpapar asap rokok akan berdampak bagi kerusakan organ dan saluran pernapasan yang mengakibatkan peradangan atau inflamasi yang mengakibatkan terjadinya peningkatan jumlah leukosit (Prihandari and Muniroh, 2016).

Peningkatan ROS menyebabkan ketidakseimbangan oksigen dan antioksidan dalam tubuh yang menyebabkan kerusakan sel (Rahman and Adock, 2006). Stress oksidatif ditandai dengan meningkatnya radikal oksidan dan memicu terjadinya reaksi inflamasi sehingga terjadi peningkatan jumlah leukosit absolute tetapi juga peningkatan jumlah neutrofil, limfosit dan monosit dibandingkan dengan yang tidak merokok (Lavi *et al.*, 2007). Untuk mengurangi dampak negatif yang disebabkan oleh asap rokok dibutuhkan zat yang dapat berperan sebagai antioksidan sekaligus antiinflamasi (Prakasa, 2015), salah satunya yaitu rumput kebar. Rumput kebar memiliki kandungan senyawa antioksidan berupa flavonoid (Sembiring and Darwati, 2014), juga Vitamin A dan E (Sadsoetoeiboen, 2005).

Pada kasus terpaparnya asap rokok, flavonoid berperan sebagai antioksidan di duga berinteraksi langsung dengan oksidan atau radikal bebas (Sizer and Whitney, 2000). Flavonoid menstabilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan bereaksi dengan senyawa reaktif dari radikal sehingga radikal menjadi inaktif (Hidayati *et al.*, 2005). Hal ini dapat diartikan bahwa flavonoid dapat melindungi membran sel dari stress oksidatif oleh radikal bebas (Verstraeten *et al.*, 2004) dan secara tidak langsung juga mendukung efek antiinflamasi. Kandungan vitamin E yang terdapat dalam rumput kebar diharapkan dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat vitamin E radikal yang terbentuk pada proses pemutusan reaksi radikal bebas oleh vitamin E menjadi vitamin E bebas yang berfungsi kembali sebagai antioksidan (Pavlovic *et al.*, 2005). Peran antioksidan inilah yang diharapkan mampu menstabilkan leukosit, sehingga perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol rumput kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) terhadap diferensiasi leukosit tikus *Rattus norvegicus* terpapar asap rokok.

B. METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2017 hingga Januari 2018, di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Pattimura dan dilanjutkan di Laboratorium Kesehatan Provinsi Maluku untuk kadar hemoglobin dan nilai hematokrit, dengan menggunakan metode eksperimental laboratorik dengan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari empat perlakuan yang masing-masing diulang tiga kali. Adapun tahapan penelitiannya sebagai berikut:

Tahap Persiapan. Dua belas ekor tikus yang dibagi dalam empat kelompok perlakuan ditempatkan pada kandang kotak plastik yang ditutupi kawat ram dengan sekam sebagai alas dan diberi pakan berupa pellet dan air minum. Lingkungan kandang dibuat agar tidak lembab. Masing-masing tikus ditempatkan dalam kandang per kelompok perlakuan. Sebelum perlakuan hewandaptasikan pada suasana kandang selama 1 minggu.

Tahap Pemaparan Asap Rokok. Tikus yang telah ditempatkan dalam kandang hewan, dipindahkan ke dalam *smoking chamber* kemudian dipapar asap rokok. *Smoking chamber* merupakan kotak yang di dalamnya terdapat teruji pembatas untuk memisahkan hewan coba dengan ujung rokok yang terbakar, sehingga hewan coba dapat secara langsung terkena paparan asap rokok tersebut. Kotak perlakuan memiliki lubang yang berfungsi untuk memasukan selang berisi asap rokok yang terlebih dahulu ditampung dalam vakum.

Pemaparan asap rokok 10 batang per hari pada tikus betina dilakukan pada pukul 09.00 dan 15.00 WIT (Ahmadnia *et al.*, 2007; Unitly, 2013; Unitly *et al.*, 2014) selama 28 hari.

Tahap Pembuatan Ekstrak Etanol Rumput Kebar. Rumput Kebar diambil sebanyak 1 kg dan dikeringanginkan kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Setelah didapatkan serbuk rumput kebar kemudian dilanjutkan dengan proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Prosedur pembuatan sebagai berikut :

- 1) Ditimbang sebanyak 250g serbuk rumput kebar dan dimasukkan kedalam erlenmeyer.
- 2) Setelah itu, ditambahkan 1 liter etanol 70% dan didiamkan selama 24 jam.
- 3) Setelah 24 jam, disaring menggunakan kertas saring Whatman 0.2 sehingga diperoleh ekstrak cair rumput kebar. Residu ekstraksi diulang sebanyak 3x.
- 4) Ekstrak cair dari rumput kebar yang telah diperoleh, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*.
- 5) Hasil pemekatan tersebut, diperoleh ekstrak etanol pekat rumput kebar.

Tahap Pemberian Dosis Ekstrak Etanol Rumput Kebar. Pemberian ekstrak etanol rumput kebar dilakukan pada tikus yang telah terpapar asap rokok, untuk melihat perbedaan dosis ekstrak etanol rumput kebar yang diberikan pada tikus model sebagai berikut:

(-) : Kelompok kontrol negatif yaitu tikus yang tidak diberi perlakuan

(+) : Kelompok kontrol positif yaitu tikus dipaparkan asap rokok selama 28 hari

(0.067): Kelompok tikus yang dipapar asap rokok selama 28 hari kemudian diberi ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.067mg/ekor/hari selama 28 hari

(0.135): Kelompok tikus yang dipapar asap rokok selama 28 hari kemudian diberi ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.135mg/ekor/hari selama 28 hari

Tahap Preparasi Apusan Darah. Pembuatan apusan darah dilakukan dengan cara pengambilan darah secara intracardial, kemudian diteteskan pada kaca objek pertama dengan posisi mendatar. Gelas objek lain ditempatkan pada bagian darah tadi dengan posisi membentuk 45⁰ sehingga darah menyebar sepanjang garis kontak antar kedua gelas objek. Selanjutnya gelas objek di dorong ke arah depan dengan cepat hingga terbentuk apusan darah tipis di atas gelas objek. Setelah itu, ditetesi pewarna giemsa sampai menutupi permukaan apusan darah dan didiamkan selama 45 menit. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir pada posisi miring dan dianginkan hingga kering.

Tahap Pengamatan Diferensiasi Leukosit. Pengamatan diferensiasi leukosit pada preparat apusan darah dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x. Preparat tersebut ditetesi dengan minyak imersi untuk memperjelas pengamatan. Penghitungan jenis leukosit dilakukan dengan rumus :

$$\text{Jenis Leukosit} = \frac{\text{Jumlah Suatu Jenis Leukosit}}{100} \times \text{Jumlah Total Leukosit}$$

Jumlah leukosit yang dihitung adalah sebanyak 100 leukosit untuk setiap preparat. 100 leukosit tersebut dikelompokkan berdasarkan perbedaan ukuran, warna, jumlah, dan granulasi sitoplasma, bentuk kromatin dan inti ke dalam lima kelompok : neutrofil, eosinofil, basofil, monosit dan limfosit. Hasil penghitungan dinyatakan dalam persen (%) (Sadikin, 2006).

Tahap Analisis Data. Data kadar hemoglobin dan nilai hematokrit yang diperoleh di uji dengan analisis sidik ragam *Analysis of Variance* (ANOVA), selanjutnya dilakukan pengujian lebih lanjut menggunakan Uji Duncan dengan selang kepercayaan 95% ($\alpha = 0.05$) dengan menggunakan perangkat lunak SPSS.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil penelitian menunjukkan adanya perubahan leukosit dan diferensial leukosit tikus yang diberi ekstrak etanol rumput kebar akibat terpapar asap rokok. Rataan jumlah leukosit dan diferensial leukosit setelah pengamatan tersaji pada tabel 1.

Tabel 1. Rataan leukosit dan diferensiasi leukosit (limfosit, monosit dan granulosit) tikus yang dipapar asap rokok selama 28 hari kemudian diberi ekstrak etanol rumput kebar selama 28 hari.

Parameter	(-)	Perlakuan		
		(+)	0.067	0.135
Leukosit	4.63 ± 0.51 ^c	5.60 ± 0.17 ^d	2.30 ± 0.00 ^a	3.27 ± 0.05 ^b
Limfosit	89.40 ± 2.10 ^d	80.13 ± 2.80 ^c	57.13 ± 2.00 ^a	62.17 ± 0.77 ^b
Monosit	7.33 ± 0.70 ^a	10.03 ± 1.20 ^b	11.57 ± 1.87 ^b	6.63 ± 0.97 ^a
Granulosit	3.27 ± 1.40 ^a	9.83 ± 2.54 ^b	31.30 ± 0.45 ^c	31.20 ± 0.52 ^c

Keterangan: Superskrip dengan huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ($P > 0.05$) antar perlakuan. (-) = kontrol negatif, (+) = kontrol positif, 0.067 = kelompok perlakuan dengan dosis rumput kebar 0.067mg/ekor/hari, 0.135 = kelompok perlakuan dengan dosis rumput kebar 0.135 mg/ekor/hari.

1. Leukosit

Berdasarkan tabel 1, terlihat bahwa rata-ran presentase total leukosit pada kelompok kontrol negatif sebesar 4.63%, pada kelompok kontrol positif sebesar 5.60%, pada dosis 0.067mg sebesar 2.30%, dan dosis 0.135mg sebesar 3.27%. Hasil *analysis of varian* (ANOVA) *one way* dengan menggunakan program SPSS 20,0 menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0.05$. Hal ini berarti bahwa ekstrak etanol rumput kebar berpengaruh terhadap presentase total leukosit tikus terpapar asap rokok.

Hasil uji lanjut dengan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan setiap dosis ekstrak etanol rumput kebar terhadap presentase total leukosit tikus menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif dan semua kelompok yang diberi ekstrak etanol rumput kebar ($p < 0.05$). Dosis ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.067mg berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan dosis ekstrak etanol rumput kebar 0.135mg ($p < 0.05$). Kelompok dosis ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.135mg berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan dosis 0.067mg ($p < 0.05$).

2. Diferensial Leukosit

Berdasarkan tabel 1, terlihat bahwa rata-ran presentase limfosit pada kelompok kontrol negatif sebesar 89.40%, pada kelompok kontrol positif sebesar 80.13%, pada dosis ekstrak etanol rumput kebar 0.067mg sebesar 57.13%, dan dosis ekstrak etanol rumput kebar 0.135mg sebesar 62.17%. Hasil *analysis of varian* (ANOVA) *one way* dengan menggunakan program SPSS 20.0 menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0.05$. Hal ini berarti bahwa ekstrak etanol rumput kebar berpengaruh terhadap presentase limfosit tikus terpapar asap rokok.

Hasil uji lanjut dengan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan setiap dosis ekstrak etanol rumput kebar terhadap presentase limfosit tikus menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif berbeda nyata dengan kelompok

kontrol positif dan semua kelompok yang diberi ekstrak etanol rumput kebar ($p < 0.05$). Ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.067mg berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.135mg ($p < 0.05$). Dosis ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.135mg berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan dosis 0.067mg ($p < 0.05$).

Berdasarkan tabel, terlihat bahwa rata-rata presentase monosit pada kelompok kontrol negatif sebesar 7.33%, pada kelompok kontrol positif sebesar 10,03%, pada dosis 0.067mg sebesar 11.57%, dan dosis 0.135mg sebesar 6.63%. Hasil *analysis of varian* (ANOVA) *one way* dengan menggunakan program SPSS 20.0 menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$. Hal ini berarti bahwa ekstrak etanol rumput kebar berpengaruh terhadap presentase monosit tikus terpapar asap rokok

Hasil uji lanjut dengan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan setiap dosis ekstrak etanol rumput kebar terhadap presentase limfosit tikus menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif dan dosis 0.067mg namun tidak berbeda nyata dengan dosis 0.135mg ($p < 0.05$). Ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.067mg berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif dan dosis 0.135mg namun tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif ($p < 0.05$). Dosis 0.135mg berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif dan dosis 0.067mg namun tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif ($p < 0.05$).

Berdasarkan tabel 1, terlihat bahwa rata-rata presentase granulosit pada kelompok kontrol negatif sebesar 3.27%, pada kelompok kontrol positif sebesar 9.83%, pada dosis 0.067mg sebesar 31.30%, dan dosis 0.135mg sebesar 31.20%. Hasil *analysis of varian* (ANOVA) *one way* dengan menggunakan program SPSS 20.0 (Lampiran 1) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0.05$. Hal ini berarti bahwa ekstrak etanol rumput kebar berpengaruh terhadap presentase granulosit tikus terpapar asap rokok

Hasil uji lanjut dengan menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan setiap dosis ekstrak etanol rumput kebar terhadap presentase granulosit tikus menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif dan semua kelompok yang diberi ekstrak etanol ($p < 0.05$). Ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.067mg berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif namun tidak berbeda nyata dengan dosis 0.135mg ekstrak etanol rumput kebar. Ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.135mg berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif ekstrak etanol rumput kebar, namun tidak berbeda nyata dengan dosis 0.067mg ($p > 0.05$).

Pembahasan

1. Efek ekstrak etanol rumput kebar terhadap jumlah total leukosit

Tikus terpapar asap rokok mengalami peningkatan jumlah leukosit. Hal ini terlihat dengan tingginya nilai leukosit pada kelompok kontrol positif jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Peningkatan jumlah leukosit ini diduga terjadi karena respon inflamasi yang disebabkan oleh asap rokok. Kenaikan total leukosit merupakan respon alamiah tubuh karena masuknya zat asing. Dimana asap rokok menstimulasi sistem hematopoetik. Leukosit berperan dalam pertahanan seluler dan humoral terhadap zat-zat asing. Paparan asap rokok dapat mempengaruhi respon imun adaptif dan humoral, salah satu

kandungan asap rokok yang berbahaya yaitu nikotin. ketika masuk ke dalam tubuh akan menyebabkan bersirkulasinya *catecholamine* kemudian menaikkan hormon *ephinephrine* dan kortisol yang akan meningkatkan total leukosit (Muntari *et al*, 2012). Penelitian *in vitro* dan *in vivo* sebelumnya membuktikan bahwa paparan asap rokok menaikkan pelepasan sitokin pro inflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 serta penghambatan sitokin antiinflamasi seperti IL-10 (Lho *et al*, 2003). Naiknya berbagai sitokin pro inflamasi menaikkan interaksi antara sel endotel dengan leukosit yang juga akan meningkatkan pembentukan leukosit (Fajrunni'mah, 2011).

Pemberian ekstrak rumput kebar dosis 0.067mg ternyata menurunkan jumlah sel leukosit, namun sangat menurun dibawah jumlah normal. Fenomena ini terjadi diduga karena terjadi akumulasi radikal bebas yang merupakan toksik asap rokok yang masuk ke darah menyebabkan terjadinya kematian sel termasuk sel leukosit sehingga terjadi penurunan leukosit (Leukopenia). Ini berarti pemaparan asap rokok 10 batang per hari memiliki toksik yang sangat kuat merusak komponen darah (kematian sel leukosit) sehingga walaupun leukositnya meningkat tapi akhirnya akan mati. Sedangkan pada kelompok pemberian ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.135mg menunjukkan jumlah leukosit mengalami peningkatan mendekati kisaran normal. Peningkatan jumlah leukosit ini diduga karena kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam rumput berupa flavonoid, dan saponin yang dimiliki rumput kebar mampu merangsang sel imun dengan meningkatkan pembentukan antibodi sehingga dapat berperan sebagai immunostimulan. Hal ini juga terlihat pada penelitian Lukisyowati (2012) yang menyatakan flavonoid daun sambiloto dapat meningkatkan jumlah leukosit. Menurut Galina *et al*. (2009) flavonoid mempunyai aktivitas imunostimulator yang terjadi melalui stimulasi sitokin interleukin-2 (IL-2) sehingga dapat menstimulasi peningkatan jumlah leukosit.

2. Efek ekstrak etanol rumput kebar terhadap diferensial leukosit

Tikus terpapar asap rokok menyebabkan terjadinya penurunan presentase jumlah limfosit. Hal ini terlihat dengan menurunnya jumlah limfosit pada kelompok kontrol positif jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini diduga karena kandungan nikotin dalam asap rokok dapat mempengaruhi penurunan proliferasi limfosit. Menurut Barbour *et al*. (1997), merokok mempunyai efek immunosupresif terhadap limfosit, dimana sel limfosit yang terpapar asap rokok menunjukkan penurunan proliferasi yang seharusnya merangsang antigen spesifik dan non spesifik. Paparan asap rokok menghambat respon mitogenik dari sel limfosit, sehingga respon antibodi berkurang karena penurunan fungsi sel. Hal ini sejalan dengan penelitian Holt (1997) yang menyatakan tikus percobaan yang dipapar asap rokok dalam waktu lama dapat menurunkan respon antibodi dan reaktivitas limfosit T, juga menurunkan respon dan jumlah proliferasi limfosit T (Kalra *et al.*, 2000).

Pada ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.067mg jumlah limfosit kembali mengalami penurunan, Hal ini diduga karena dosis asap rokok yang tinggi menekan proliferasi limfosit. Menurut Khumaidi *et al.*, (2015) kadar flavonoid yang kecil masih belum mampu memberikan pengaruh yang positif terhadap peningkatan proliferasi limfosit dan memungkinkan adanya senyawa selain flavonoid yang lebih dominan yang bersifat immunosupresor. Dalam hal ini pemberian ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.067mg belum mampu meningkatkan jumlah limfosit.

Hal ini berbeda dengan kelompok ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.135mg yang mampu meningkatkan jumlah limfosit mendekati kisaran normal. Hal ini diduga akibat peran dari flavonoid, saponin dan tannin yang berfungsi sebagai imunomodulator yang memacu proliferasi limfosit, meningkatkan jumlah sel T dan akan meningkatkan aktivitas IL-2. Ini disebabkan karena senyawa flavonoid yang dimiliki oleh rumput kebar pada dosis yang lebih tinggi, dapat mempengaruhi aktivitas protein tirosin kinase, dimana protein kinase dapat mengkatalisis reaksi fosforilasi seluler yang kemudian akan menghasilkan sinyal proliferasi sel limfosit (Middleton *et al.*, 2000). Peningkatan jumlah limfosit oleh flavonoid pada penelitian ini juga didukung dengan penelitian Yunanda *et al.* (2015) dimana flavonoid ekstrak etanol *Stichopus hermanii* yang juga dimiliki oleh rumput kebar mampu meningkatkan proliferasi dari limfosit.

Tikus yang terpapar asap rokok menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah monosit. Hal ini terlihat dengan meningkatnya nilai monosit pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini diduga karena keterkaitannya dengan bahan kimia yang terkandung di dalam asap rokok. Bahan kimia tersebut dapat menyebabkan inflamasi paru paru, yang mempengaruhi pembentukan sitokin atau interleukin yang bersirkulasi misalnya IL-6, IL-1 β , GM-CSF. Menurut Ganong (1998) Sitokin bekerja seperti hormon dengan merangsang sel sel lain pada sistem imun untuk berproliferasi atau menjadi aktif pada masa infeksi atau peradangan. Sedangkan interleukin berfungsi sebagai faktor pertumbuhan untuk menyebabkan proliferasi berbagai sel terutama sel T penolong, penekan, dan sitotoksik. Dengan demikian pelepasan interleukin bekerja dengan cara umpan balik positif untuk merangsang proliferasi setiap sel yang melepaskannya. Interleukin juga mengaktifkan sistem imun humoral. Dengan peningkatan IL-6, IL-1 β , GM-CSF (*Granulosit macrophage colony stimulating factor*) dapat mempengaruhi pembentukan monosit. Dimana IL-6 merupakan sitokin pro inflamasi yang bertanggung jawab terhadap pengeluaran monosit karena adanya inflamasi paru-paru. Peningkatan jumlah monosit pada penelitian ini sesuai dengan penelitian Ruhimat (2014), dimana jumlah monosit perokok mengalami peningkatan.

Perlakuan yang diberi ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.067mg belum mampu menurunkan jumlah monosit. Hal ini diduga karena pemaparan asap rokok menyebabkan toksik terakumulasi didalam darah sehingga respon inflamasi masih terus berlanjut, sehingga pemberian ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.067mg belum mampu menurunkan jumlah monosit, bahkan terjadi peningkatan melewati batas normal. Hal ini di duga terjadi karena monosit memiliki respon fagositosis terhadap senyawa asing asap rokok sehingga terjadi peningkatan monosit darah. Selain asap rokok, penyebab peningkatan monosit juga dapat disebabkan karena kandungan senyawa seperti flavonoid, Vitamin A dan E yang terkandung dalam rumput kebar masih dalam jumlah rendah pada dosis 0.067mg, sehingga belum mampu menjadi agen antiinflamasi. Menurut Garci'a-Lafuente *et al.*, (2009) flavonoid memiliki kemampuan mempengaruhi kerja enzim dalam proses terjadinya inflamasi. Enzim tersebut berperan dalam sinyal transduksi dan mengaktifkan proses proliferasi dan memproduksi sitokin yang menstimulasi monosit.

Hal ini berbeda pada kelompok dosis 0.135mg dimana pemberian ekstrak rumput kebar mampu menurunkan jumlah monosit tikus yang terpapar asap rokok. Hal ini diduga karena adanya peran antioksidan antiinflamasi dalam rumput kebar yaitu flavonoid, Vitamin A dan E yang dapat melindungi sel dari mekanisme oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas.

Antikoksidan juga mampu melindungi sel dari mekanisme oksidasi, yang disebabkan oleh radikal bebas seperti peroksida, hidroperoksida, dan peroksida lipid (Defrigunawan, 2014). Selain perannya sebagai antioksidan, flavonoid juga berperan sebagai antiinflamasi dengan cara menstabilkan membran sel sehingga dapat mencegah keluarnya agen inflamasi (Middleton *et al.*, 2000). Hal ini sesuai dengan penelitian Asep *et al.*, (2014) dimana disebutkan semakin besar dosis flavonoid maka jumlah IL-2 semakin menurun, dimana jumlah atau peningkatan IL-2 sama dengan monosit.

Diferensial leukosit lainnya adalah granulosit yang merupakan kelompok leukosit dalam darah atau jaringan yang memiliki granul yang padat dalam sitoplasmanya. Granulosit disebut juga dengan sel polymorphonuclear (PMN) karena intinya tidak beraturan. Granulosit mencakup neutrophil, eosinofil dan basofil (Murphy, 2012). Granulosit sebagai parameter sistem imun juga merupakan parameter inflamasi terutama neutrofil. Menurut Weir, (1990) neutrofil lebih berperan pada imunitas non spesifik dibandingkan dengan respon imunitas spesifik. Eosinofil berperan pada reaksi alergi, dan basofil yang mengeluarkan histamine dan zat-zat perantara lain pada reaksi alergi.

Tikus yang terpapar asap rokok menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah granulosit. Hal ini terlihat dengan meningkatnya jumlah granulosit pada kelompok kontrol positif jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini diduga karena kandungan kimia berbahaya dalam asap rokok yang bersifat karsinogenik sehingga memicu terjadinya respon inflamasi. Bellanti, (1993) menjelaskan terjadinya peningkatan jumlah granulosit disebabkan oleh adanya rangsangan antigen dalam jumlah yang optimal. Pada kasus terpapar asap rokok dapat zat-zat kimia yang terdapat merupakan radikal bebas yang dapat menimbulkan infeksi saluran pernapasan dan akan menyebabkan terjadinya reaksi inflamasi. Van Eden *et al.* (2005) menjelaskan partikel asing dalam asap rokok mengakibatkan peningkatan jumlah sitokin yang bersirkulasi seperti interleukin IL-6, IL-1 β dan *granulocyte macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF) yang merupakan mediator terjadinya inflamasi sistemik. Dimana GM-CSF merupakan faktor pertumbuhan hematopoietik yang menstimulasi diferensiasi granulosit.

Pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol rumput kebar dosis 0.067mg dan dosis 0.135mg dapat meningkatkan jumlah granulosit. Hal ini diduga adanya kandungan flavonoid, saponin, dan tannin di dalam rumput kebar yang mempunyai efek imunomodulator, yang berperan mengoptimalkan sistem imun dalam pertahanan tubuh. Rumput kebar yang mengandung flavonoid diduga berperan sebagai immunomodulator dimana immunomodulasi berguna menjaga fungsi sistem imun agar tetap normal sesuai kebutuhan melalui proses imunostimulasi maupun immunosupresi. Hal ini menyebabkan terjadinya diferensiasi granulosit menuju kondisi normal.

D. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol rumput kebar menyebabkan presentase leukosit dan diferensiasi leukosit berubah mendekati kisaran normal dimana dosis yang paling efektif adalah dosis 0.135mg.

E. DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadnia H., Ghanbari M., Moradi M. R., Khaje-Dalouee M. 2007. Effect of Cigarette Smoke on Spermatogenesis in Rats. *Urology Journal*. 4(3):154-63.
- Asep E., Sukmayadi S. A., Sumiwi M., Barliana A. D., Aryanti. 2014. Aktivitas

- Immunomodulator Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sunchus arvensis* Linn). *IJPST*. 1(2)
- Barbour S. E., Nakashima K., Zhang J. B., Tangada S., Hahn C., Scheiken H. A., Tew J. E. 1997. Tobacco and Smoking: environmental Factor That Modify The Host Response (*Immune System*) and Have An Impacton Periodontal Health. 8(437):448-450
- Bellanti A. B. 1993. *Imunologi III*. Jogjakarta: Gadjah Mada University Press.
- Defrigunawan A. I. 2014. Viabilitas Neutrophil Yang Diinkubasi Dengan Ekstrak Kulit Buah Kopi dan Dipapar *Porphyromonas gingivalis*. Jember: Fakultas Kedokteran, Universitas Jember
- Fajrunni'mah Rizana. 2011. Pengaruh Pemberian Sari Noni Terhadap Selisih Jumlah Total Leukosit, Jumlah Neutrofil, dan Kadar Alkalifosfatase Pada Tikus Wistar Sebelum dan Sesudah Diberi Paparan Asap Rokok. *Diponegoro University Institutional Repository*
- Faux Sp., Tail T., Thorre D., Xu Y., Breheny D., Gaca M. 2009. The Role of Oxidative Stress In ThenBiological Response of Lung Epithelial Cell to Cigarette Smoke. *Biomarker Journal*. 14(1)
- Ganong W. F. 1998. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Editor Edisi Bahasa Indonesia. Dr. M Djauhari Widjajakusumah. Edisi 17. Jakarta: EGC
- Garcia'launte A., Villares A., Guillamo'n M. A., Marti'nez J. A. 2009. Flavonoid as Inflammatory Agent: Implication In Cancer And Cardiovascular Disease. *Inflamm Res*. 58(9):537-552
- Hidayati N., Listyawati S., Setyawan A. 2005. Kandungan Kimia dan Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol *Lantana camara* L. Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan. *Bioteknologi*. 5(1):10-17
- Holt PG, D Keast. 1997. Enviromental Induced Changes In Immunological Function: Acute And Chronic Effect oh Inhalation of og Tobacco Smoke And Other Atmospheric Contaminants In Man and Experimental Animals. *Bacteriol Rev*. 41(1):205-216.
- Kalra R., Singh S. P., Savage S. M., Finch G. L., Mohan L. 2000. Effect of Cigarette Smoke on Immune Response: Chronic Exposure to Cigarette Smoke Impairs Antigen-Mediated Signaling in T Cells and Depletes IP3- Sensitive CA⁺ Stores. Society for Experimental Biology and Medicine. *Journal Pharmaco Exp Ther*. 293(1):166-171.
- Khumaidi A., Hertiani T., Sasmito E. Analisis Korelasi Antara Efek Proliferasi Limfosit Dengan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Subfraksi Etil Asetat Myrmecodia Tuberosa (Non Jack) Bl. Secara In Vitro Pada Mencit Balb/C. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Inonesia*. 13(1):102-107.
- Lavi S., Prasad A., Yang E. H., Mathew V., Simari R. D., Rihal C. S. 2007. Smoking Isasociated With Epicardialcoronary Endothelial Dysfunctionand Elevated While Blod Celcount in Patients With Chest Painand Early Coronary Artery Disease. *AHA Journal*. 15(26):21-27.
- Lee D. Z., Chung J. M., Chung K., Kang M. G. 2012. Reactive Oxygen Species (ROS) Modulate AMPA Receptor Phosphorylation and Cell-Surface Localization in Concert With Pain-Related Behavior. *Pain Journal*. 153(9).
- Lho S., Tanaka Y., Takauji R., Kobayashi C., Muramatsu I., Iwasaki H. 2003. Nikotine Induces Human Neutrophils to Produce IL-8 Through The Generation of Peroxynitrite and Subsequent Activation of NF-Kappab. *J Leokoc Biol*. 74:942-951
- Lukisyowati I. 2012. Studi Efektivitas Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) Untuk Mencegah Penyakit Edward Sielosi Pada Ikan Patin (*Pangasius hypothalamus*). *Berkala Perikanan Terumbuk*. 56-74

- Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T. C. 2000. The Effect of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implication for Inflammation, Heart Disease and Cancer. *Pharmacol Rev.* 52(1):673-751
- Muntari B., Ismail N. A., Maizirwan M. M., Jami M. S., Saleh H. M., Amid A. 2012. Bromelain Production: Current Trends and Perspective. *Archives Des Science*, 65(11):369-399.
- Murphy K. M. 2012. Janeway's Immunobiology. 8th ed. New York: Garland Science.
- Nair S., Gosh K. 2013. The Myriad Effect of Cigarette Smoke. *Journal Thromb Haemost.* 11(387)
- Pavlovic V., Cekic S., Rankovic G., Stoiljkovic N. 2005. Antioxidant and Pro-oxidant Effect of Ascorbic Acid. *Acta Medica Medianae.* 44(1): 65-69.
- Prakasa A. B. 2015. Pengaruh Madu Terhadap Jumlah Leukosit Total Akibat Paparan Asap Rokok. *Majority Journal.* 4(7):8-11
- Prihandari R., Muniroh L. 2016. Jus Semangka Menurunkan Neutrofil Tikus Jantan Galur Wistar Yang Terpapar Asap Rokok. *Jurnal Media Gizi Indonesia.* 11(2)
- Rahman I., Adock I. M. 2006. Oxidative and Redox Regulation of Lung Inflammation. *ERS Journal.* 28(1):11-13
- Ruhimat U. 2014. Gambaran Diff Count Pada Perokok Di Kecamatan Cibeureum. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada.* 12(1):96-101
- Sadsoeitoeboen P. D. 2005. Manfaat Ekstrak Rumput Kebar (*Biophytum petersianum* Klotzsch) Terhadap Penampilan Reproduksi Mencit Putih Betina [Tesis]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Semiring B., Darwati I. 2013. Rumput Kebar (*Biophytum petersianum*) sebagai peningkat fertilitas. *Warta Puslitbangbun*, 19(2):15-18
- Sizer F., Whitney E. 2000. *Nutrition Concept and Controversies*. Thomson Learning Library of Congres Cataloging
- Susanna D., Hartono B., Fauzan H. 2003. Penentuan kadar nikotin dalam asap rokok. *Jurnal Ekologi Kesehatan.* 2(3):272-274.
- Unitly A. J. A. 2013. Potensi ekstrak rumput Kebar (*Biophytum Petersianum* Klotzsch) pada fungsi reproduksi tikus jantan yang terpapar asap rokok [Disertasi]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- Unitly A. J. A., Kusumorini N., Agungpriyono S., Satyaningtjas A. S., Boediono A. 2014. Perubahan Kualitas Spermatozoa dan Jumlah Sel-sel Spermatogenik Tikus Yang Terpapar Asap Rokok. ISSN: 1978-225X. *Jurnal Kedokteran Hewan.* 8(2):116-119.
- Van Eden S. F., Yeung A., Qunlam K., Hong J. C. 2005. Systemic Respon to Ambient Particulate Matter: Relevance to Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Proc Am Thorac.* 50(2):61-67
- Verstraeten S. V., Oteiza P. I., Fraga C. G. 2004. Membrane Effect of Cocoa Procyanidins in Liposome and Jurkat. *Bio Res.* 37(2):293-300
- WHO [World Healt Organization]. 2000. Global Youth Tobacco Survey. *Buletin.* 78:868-876.
- Weird D. M. 1990. Aids to Immunology. Jakarta: Binarupa Algara.
- Yanbaeva D. G., Dentener M. A., Creutzberg E. C., Wesseling G., Wouters E. F. 2007. Systemic Effect of Smooking. *Chest.* 131(5):1557-1566.
- Yunanda A., Syamsulina R., Isidora K. 2015. Efek Proteksi Ekstrak Etanol *Stichopus hermanii* Terhadap Jumlah limfosit Pada Tikus Yang Terpapar Asap Rokok dan Diinduksi *Candida albicans*. *Jurnal Kedokteran Gigi (denta).* 9(2):2-10