

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

DISERTASI

**PENGARUH DAN MEKANISME SELENOMETHIONINE PER-ORAL
TERHADAP PERUBAHAN JARINGAN PARU AKIBAT ASAP ROKOK
ELEKTRIK**



**RIVAN VIRLANDO SURYADINATA
NIM. 101717087301**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT
PROGRAM DOKTOR
PROGRAM STUDI KESEHATAN MASYARAKAT
SURABAYA
2020**

**PENGARUH DAN MEKANISME SELENOMETHIONINE PER-ORAL
TERHADAP PERUBAHAN JARINGAN PARU AKIBAT ASAP ROKOK
ELEKTRIK**

DISERTASI

**Untuk memperoleh Gelar Doktor
Dalam Program Studi Kesehatan Masyarakat
Pada Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga
Telah dipertahankan di hadapan
Panitia Ujian Doktor Terbuka
Pada hari : Rabu
Tanggal : 19 Februari 2020
Pukul :10.00 – 12.00 WIB**

Oleh :

**RIVAN VIRLANDO SURYADINATA
NIM. 101717087301**

PENGESAHAN

Dipertahankan di depan Tim Penguji Ujian Disertasi
Program Studi Kesehatan Masyarakat
Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga
dan Diterima untuk Memenuhi Persyaratan guna Memperoleh Gelar Doktor (Dr.)
Tanggal 19 Februari 2020

Mengesahkan

Universitas Airlangga
Fakultas Kesehatan Masyarakat

Dekan,



Prof. Dr. Tri Martiana, dr., M.S.
NIP. 195603031987012001

PERSETUJUAN

**DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 26 FEBRUARI 2020**

Oleh:

Promotor


Prof. Bambang Wirjatmadi, dr., MS., MCN., PhD., Sp GK.
NIP. 194903201977031002

Ko-Promotor I



Prof. Dr. Merryana Adriani, S.KM., M.Kes.
NIP. 195905171994032001

Ko-Promotor II



Prof. Dr. Sri Sumarmi, S.KM., M.Sc.
NIP. 196806251992032002

Mengetahui
KPS S3 Kesehatan Masyarakat



Dr. Nyoman Anita Damayanti, drg., MS.
NIP. 196202281989112001

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini saya :

Nama : Rivan Virlando Suryadinata, dr., M.Kes

Nim : 101717087301

Program Studi S3 : Doktor Kesehatan Masyarakat

Alamat Rumah : Simo Katrungan Kidul I/20

No.Telpon / Hp : 08155019291

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Disertasi saya ini adalah asli dan benar-benar hasil karya sendiri, dan bukan hasil karya orang lain dengan mengatas namakan saya, serta bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (*Plagiarism*) dari hasil karya orang lain. Disertasi ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik baik di Universitas Airlangga, maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Di dalam disertasi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar kepustakaan.
3. Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar saya yang telah di peroleh karena karya tulis Disertasi ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Surabaya, 17 Februari 2020

Yang membuat pernyataan,



Rivan Virlando Suryadinata, dr., M.Kes

Nim : 101717087301

PANITIA PENGUJI DISERTASI

Telah diuji pada Ujian Doktor Tahap I (Tertutup)
Tanggal 10 Januari 2020

Ketua : Prof. Kuntoro, dr., M.PH., Dr.PH
Anggota : 1. Prof. Bambang Wirjatmadi, dr., MS., MCN., PhD., Sp.GK.
2. Prof. Dr. Merryana Adriani, S.KM., M. Kes
3. Prof. Dr. Sri Sumarmi, S.KM., M.Sc.
4. Prof. Dr. Ketut Sudiana, Drs., M.Si.
5. Dr. dr. Santi Martini, M.Kes.
6. Dr. Laksmi Wulandari, dr., Sp.P. (K)
7. Risma Ikawaty, dr., Ph.D.

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kesehatan Masyarakat
Universitas Airlangga
Nomor : 11/UN3.1.10/2020
Tanggal : 10 Januari 2020

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga disertasi yang berjudul “Pengaruh dan Mekanisme Selenomethionine Per-Oral Terhadap Perubahan Jaringan Paru Akibat Asap Rokok Elektrik” sebagai salah satu persyaratan akademik dalam rangka menyelesaikan Program Doktor Kesehatan Masyarakat di Fakultas Kesehatan Masyarakat Univeritas Airlangga dapat diselesaikan.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Prof. Bambang Wirjatmadi, dr., MS., MCN., PhD., Sp.GK., selaku Promotor yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Prof. Dr. Merryana Adriani, S.KM., M. Kes. dan Prof. Dr. Sri Sumarmi, S.KM., M.Si., selaku Ko-Promotor I dan Ko-Promotor II yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Moh Nasih, SE., M.T., Ak., CMA., CA, selaku Rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menuntut ilmu di Program Doktor Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Tri Martiana, dr., M.S. selaku Dekan, Dr. Santi Martini, dr., M.Kes. selaku Wakil Dekan I, Dr. Thinni Nurul Rochmah, Dra. Ec., M.Kes. selaku Wakil Dekan II, Ira Nurmala, S.KM., MPH. Ph.D. selaku Wakil

Dekan III Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga yang telah memberikan ijin dan fasilitas dalam menyelesaikan Disertasi.

3. Dr. Nyoman Anita Damayanti, drg., M.S. selaku Koordinator Program Studi Doktor, Kesehatan Masyarakat yang telah memberikan fasilitas dan saran dalam penyusunan Disertasi.
4. Prof. Dr. Ketut Sudiana, Drs., M.Si. dan Prof. Dr. Yoes Prijatna Dachlan, dr., M.Sc., Sp. ParK (K) yang telah memberikan pemahaman dan pengajaran terkait penelitian saya melalui Mata Kuliah Penunjang Disertasi.
5. Prof. Kuntoro, dr., M.PH., Dr.PH.; Prof. Dr. Ketut Sudiana, Drs., M.Si.; Dr. Santi Martini, dr., M.Kes.; Dr. Laksmi Wulandari, dr., Sp.P. (K) dan Risma Ikawaty, dr., PhD. selaku Tim penguji atas kesediaan waktunya untuk menguji, membimbing serta memberikan masukan pada saya untuk mencapai penyusunan Disertasi yang lebih baik.
6. Semua dosen pengajar S3 Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga yang telah memberikan bekal ilmu sehingga penulis dapat menyelesaikan Disertasi ini.
7. Semua jajaran pimpinan di Universitas Surabaya khususnya Fakultas Kedokteran, Universitas Surabaya yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh jenjang pendidikan S3 di Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga.
8. Kepala dan staf / karyawan Program Doktor Kesehatan Masyarakat yang telah membantu kelancaran administrasi dan sarana prasarana selama menempuh pendidikan.

9. Kedua orang tua dan saudara yang selalu mendoakan, mendukung, dan membantu selama menuntut ilmu.
10. Teman-teman mahasiswa S3 Kesehatan Masyarakat, selaku teman seperjuangan yang selalu membantu dan memberikan dukungan.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu selama menempuh pendidikan dan penyusunan disertasi ini.

Saya menyadari bahwa penyusunan Disertasi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis akan menerima dengan hati terbuka semua kritik dan saran yang membangun dari semua pihak agar Disertasi ini menjadi lebih baik.

Akhir kata penulis juga berharap semoga Disertasi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surabaya, Februari 2020

Penulis

RINGKASAN

PENGARUH DAN MEKANISME SELENOMETHIONINE PER-ORAL TERHADAP PERUBAHAN JARINGAN PARU AKIBAT ASAP ROKOK ELEKTRIK

Rokok elektrik telah menjadi salah satu produk alternatif sebagai pengganti rokok tembakau. Rokok elektrik oleh sebagian besar masyarakat diklaim lebih aman dibandingkan dengan rokok tembakau. Promosi yang cukup gencar semakin mempercepat peningkatan penggunaan rokok elektrik di masyarakat. Pada tahun 2016, penggunaan rokok elektrik di Amerika telah mencapai 4,3% pada anak SMP dan 11,3% pada anak SMA. Selain itu, sepertiga remaja di Amerika menganggap rokok elektrik tidak berbahaya dari pada rokok tembakau. Prevalensi penggunaan rokok elektrik pada beberapa negara di Asia lebih kecil seperti China (3,1%), Taiwan (3%), dan Hongkong (2,3%). Hal tersebut dikarenakan promosi rokok elektrik yang tidak terlalu gencar seperti pada negara barat.

Berbagai penelitian telah memperlihatkan bahaya yang ditimbulkan akibat paparan asap rokok. Kandungan rokok elektrik mengandung komponen berbahaya seperti pada rokok tembakau. Paparan asap rokok elektrik yang masuk ke dalam saluran napas dapat berbahaya bagi jaringan paru. Asap rokok yang masuk ke dalam saluran napas akan memicu peningkatan radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas tersebut berikatan dengan oksigen dan membentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS). Salah satu jenis *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berbahaya bagi tubuh adalah radikal superoksida (O_2^{\bullet}). Radikal bebas tersebut dapat dinetralkan melalui antioksidan enzimatis yaitu Superoksida Dismutase dan Glutathion Peroksidase. Antioksidan juga dapat sebagai antiinflamasi dan mencegah perubahan sel pra kanker. Peningkatan radikal bebas dalam tubuh yang berlebihan akan menyebabkan gangguan keseimbangan antara jumlah antioksidan dalam tubuh, sehingga dapat mengakibatkan terjadinya stress oksidatif. Reaksi tersebut akan menimbulkan peroksidasi lipid, sehingga terjadi kerusakan sel. Salah satu dampak negatif dari proses peradangan saluran napas adalah fibrosis paru yang diakibatkan kerusakan kolagen tipe II.

Penggunaan bahan aktif selenomethionine diharapkan menjadi salah satu solusi dalam mencegah proses peradangan dan efek samping yang ditimbulkan oleh paparan asap rokok elektrik. Sebagai tahap awal penelitian untuk mengetahui manfaat pemberian selenomethionine aktif per oral terhadap pencegahan kerusakan sel akibat radikal bebas yang ditimbulkan oleh paparan asap rokok elektrik maka dilakukan terhadap hewan coba tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus novergicus*).

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan post test control group design. Penelitian dilakukan selama 5 minggu dengan menggunakan tikus wistar jantan (*Rattus novergicus*). Penelitian dibagi menjadi 6 kelompok dengan perlakuan yang berbeda pada setiap kelompok. Kelompok pertama merupakan kelompok kontrol negatif, dimana hewan coba tidak dilakukan intervensi selama 4 minggu. Kelompok kedua merupakan kelompok

kontrol rokok, dimana hewan coba diberikan intervensi paparan asap rokok elektrik selama 4 minggu. Kelompok ketiga merupakan kelompok kontrol selenium, dimana hewan coba diberikan intervensi asupan selenium per oral selama 4 minggu. Kelompok keempat merupakan kelompok perlakuan I, dimana hewan coba diberikan paparan asap rokok elektrik pada minggu pertama, selanjutnya pada minggu kedua hingga kelima diberikan paparan asap rokok elektrik dan selenium per oral. Kelompok kelima merupakan kelompok perlakuan II, dimana hewan coba diberikan paparan asap rokok elektrik dan selenium per oral selama 4 minggu. Kelompok keenam merupakan kelompok perlakuan III, dimana hewan coba diberikan selenium per oral pada minggu pertama, selanjutnya pada minggu kedua hingga kelima diberikan paparan asap rokok elektrik dan selenium per oral.

Hasil penelitian memperlihatkan selenomethionine dapat meningkatkan antioksidan superoksida dismutase (SOD) dan glutathion peroksidase (GSH-Px) serta menurunkan kadar malondialdehid ($p < 0,05$). Selain itu, selenomethionine juga dapat meningkatkan interleukin-10, namun belum mampu menurunkan interleukin-8 dan matrik metalloprotein-8 ($p > 0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini selenomethionine belum mampu mencegah kerusakan jaringan paru akibat paparan asap rokok elektrik selama 4 minggu, namun dapat meningkatkan antioksidan dan penurunan malondialdehid. Selain itu, pemberian selenomethionine yang dilakukan lebih awal dari paparan asap rokok elektrik akan memberikan peningkatan antioksidan yang lebih baik.

Temuan ilmiah baru adalah Mekanisme pemberian selenomethionine terhadap kerusakan jaringan paru adalah melalui peningkatan antioksidan yaitu Superoksida Dismutase (SOD) dan Glutathion Peroksidase (GSH-Px) serta secara langsung menghambat pembentukan kolagen (fibrosis) dan meregulasi inflamasi.

SUMMARY

THE INFLUENCE AND MECHANISM OF SELENOMETHIONINE PER-ORAL ON CHANGES IN LUNG TISSUE DUE TO ELECTRIC CIGARETTE EXPOSURE

Electronic cigarettes have become one of the alternative products as a substitute for tobacco cigarettes. Electronic cigarettes are claimed by most people to be safer than the tobacco cigarettes. Furthermore, intense promotion has increasingly accelerated the use of electronic cigarettes in public. In 2016, the use of electronic cigarettes in America had reached 4.3% among middle school children and 11.3% among high school children. Besides, one third of teenagers in America consider electronic cigarettes to be less dangerous than the tobacco cigarettes. The usage prevalence of electronic cigarettes in several countries in Asia is smaller, such as in China (3.1%), in Taiwan (3%), and in Hong Kong (2.3%). This is due to the less aggressive promotion of electronic cigarettes compared to the one in the Western countries.

Various studies have shown the dangers posed by the exposure to cigarette smoke. The electronic cigarettes contain harmful substances just as the ones in the tobacco cigarettes. The exposure to electronic cigarette smoke entering the airways can be dangerous for lung tissues. It will trigger an increase of free radicals in the body. These free radicals bind to oxygen and form Reactive Oxygen Species (ROS). One type of Reactive Oxygen Species (ROS) that is harmful to the body is superoxide radical (O_2^{\bullet}). The free radical can be neutralized through an enzymatic antioxidant, namely Superoxide Dismutase dan Glutathione Peroxidase. Moreover, antioxidant can also serve as anti-inflammatory and prevent pre-cancerous cell changes. Unfortunately, an increase in excessive free radicals in the body will cause a disruption of the balance between the amount of antioxidants in the body, so that it can lead to oxidative stress. This reaction will cause lipid peroxidation, resulting in cell damage. One of the negative effects of the airway inflammation process is the occurrence of pulmonary fibrosis caused by damage to collagen type II.

The use of selenomethionine active ingredients is expected to be one solution in preventing the inflammatory process and the side effects caused by exposure to e-cigarette smoke. As a preliminary stage of the study to determine the benefits of active selenomethionine administration on prevention of cell damage due to free radicals caused by exposure to e-cigarette smoke, it was conducted on experimental animals, male white rats, Wistar strain (*Rattus norvegicus*).

This research is an experimental study using post test control group design. The study was conducted for 5 weeks using male Wistar rats (*Rattus norvegicus*). The study was divided into 6 groups with different treatments in each group. The first group is a negative control group, where the experimental animals were not intervened for 4 weeks. The second group is a control group of cigarettes, where the experimental animals were given the intervention of exposure to electric cigarette smoke for 4 weeks. The third group is the selenium

control group, where experimental animals are given oral selenium intake interventions for 4 weeks. The fourth group is the treatment group I, where experimental animals were given exposure to e-cigarette smoke in the first week, then in the second to fifth weeks were given exposure to e-cigarette smoke and selenium orally. The fifth group is treatment group II, where experimental animals were given exposure to electric cigarette smoke and selenium by mouth for 4 weeks. The sixth group is the treatment group III, where experimental animals were given selenium orally in the first week, then in the second to fifth week were given exposure to electric cigarette smoke and selenium by mouth.

The results showed that selenomethionine can increase the antioxidant superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) and reduce levels of malondialdehyde ($p < 0.05$). In addition, selenomethionine can also increase interleukin-10, but has not been able to reduce interleukin-8 and metalloprotein-8 matrix ($p > 0.05$). The conclusion from this study selenomethionine has not been able to prevent lung tissue damage due to exposure to electric cigarette smoke for 4 weeks, but can increase antioxidants and reduce malondialdehyde. In addition, administration of selenomethionine that is done earlier than exposure to electric cigarette smoke will provide increased antioxidants.

The Novelty in this research are the mechanism of giving selenomethionine to lung tissue damage is through increased antioxidants namely Superoxide Dismutase (SOD) and Glutathione Peroxidase (GSH-Px) and directly inhibit collagen formation (fibrosis) and regulate inflammation.

ABSTRAK

Paparan asap rokok elektrik menyebabkan peningkatan radikal bebas. Secara fisiologis, tubuh menghasilkan antioksidan superoxide untuk menetralkan radikal bebas. Namun, peningkatan jumlah radikal bebas yang berlebih akan mengakibatkan ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan. Radikal bebas dalam tubuh dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid, sehingga akan menimbulkan stress oksidatif yang menyebabkan kerusakan sel. Pemberian selenomethionine aktif per oral dapat meningkatkan antioksidan dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mekanisme selenomethionine aktif per oral dalam mencegah kerusakan jaringan paru akibat paparan asap rokok elektrik. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan hewan coba tikus wistar jantan. Pemberian selenomethionine dan paparan asap rokok elektrik dilakukan dengan waktu yang berbeda. Penilaian hasil penelitian dilakukan dengan menganalisis perbedaan Jumlah sel positif pada jaringan paru menggunakan pewarnaan Imunohistokimia (IHC). Hasil penelitian memperlihatkan peranan selenomethionine dalam menurunkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) akibat paparan asap rokok elektrik dengan cara menginduksi Superoksida Dismutase (SOD) dan Glutation Peroksidase (GSH-Px). ($P=0,000$) Selain itu, selenomethionine berperan sebagai anti inflamasi, namun tidak mampu mencegah perubahan jaringan paru melalui peningkatan alveolar makrofag, MMP-8, dan kolagen tipe 2 ($p>0,05$). Kesimpulan pada penelitian ini adalah bahwa Pemberian Selenomethionine aktif per oral tidak mampu meregulasi kolagen tipe 2 pada hewan coba yang terpapar asap rokok elektrik, namun hanya dapat meningkatkan Superoksida Dismutase (SOD) dan Glutation Peroksidase (GSH-Px) pada jaringan paru.

Kata kunci : Selenomethionine, Rokok Elektrik, Radikal Bebas, Antioksidan, Imunohistokimia

ABSTRACT

Exposure to electronic cigarette smoke causes an increase of free radicals. Physiologically, the body produces antioxidant superoxide dismutase to neutralize the free radicals. However, an excessive increase of the free radicals will result in an imbalance between the amount of free radicals and antioxidants. The free radicals in the body can trigger lipid peroxidation, so that it will result in oxidative stress causing cell damage. Selenomethionine active per oral can increase antioxidants in the body. This study aims to determine the mechanism of active selenomethionine per oral in preventing lung tissue damage due to exposure to e-cigarette smoke. This study was an experimental study using animal experiments male wistar rats. The administration of selenomethionine and exposure to electric cigarette smoke were carried out at different times. Assessment of the results of the study was carried out by analyzing the differences in positive cell count in lung tissue using Immunohistochemical staining (IHC). The results showed the role of selenomethionine in reducing Reactive Oxygen Species (ROS) due to exposure to electric cigarette smoke by inducing Superoxide Dismutase (SOD) and Glutathione Peroxidase (GSH-Px) ($p=0,000$). In addition, selenomethionine acts as an anti-inflammatory, but is unable to prevent changes in lung tissue through an increase in alveolar macrophages, MMP-8, and collagen type 2 ($p>0.05$). The conclusion of this study is that administration of active Selenomethionine orally is not able to regulate type 2 collagen in animals exposed to electric cigarette smoke, but can only increase Superoxide Dismutase (SOD) and Glutathione Peroxidase (GSH-Px) in lung tissue.

Keyword : Selenomethionine; E-Cigarette; Free Radical; Antioxidant; Immunohistochemistry

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PRASYARAT GELAR DOKTOR	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
SURAT PERNYATAAN TENTANG ORISINALITAS	v
HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
RINGKASAN	x
SUMMARY	xii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
DAFTAR ISI	xvi
DAFTAR TABEL	xxi
DAFTAR GAMBAR	xxii
DAFTAR LAMPIRAN	xxiv
DAFTAR ARTI LAMBANG, SINGKATAN DAN ISTILAH	xxvi
BAB 1	
PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Kajian Masalah	4
1.3 Rumusan Masalah	5
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.4.1 Tujuan Umum	6
1.4.2 Tujuan Khusus	6
1.5 Manfaat Penelitian	8
1.5.1 Manfaat Teoritis	8
1.5.2 Manfaat Praktis	8
BAB 2	
TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Rokok Elektrik	9
2.1.1 Definisi	9
2.1.2 Prevalensi	9
2.1.3 Kandungan Rokok	12
2.1.3.1 Tar	12
2.1.3.2 Nikotin	12
2.1.3.3 Karbon Monoksida	15
2.1.3.4 <i>Polynuclear Aromatic Hydrocarbons</i> (PAH)	16
2.1.3.5 <i>Tobacco-Specific Nitrosamine</i> (TSNA)	17
2.1.4 Penyakit Akibat Rokok	19

2.1.4.1	Kanker Paru	19
2.1.4.2	Penyakit Paru Obstruksi Kronis (PPOK)	20
2.1.4.3	Asma Bronkial	22
2.1.4.4	Tuberculosis (TBC)	23
2.1.4.5	Pneumonia	24
2.1.5	Perkembangan Rokok Elektrik	24
2.1.6	Pengendalian Rokok	27
2.1.6.1	<i>Environment</i> (Kebijakan)	27
2.1.6.2	<i>Agent</i>	29
2.1.6.3	<i>Host</i>	30
	2.1.6.3.1 Suplemen Antioksidan	30
	2.1.6.3.2 Herbal	32
2.2	Radikal Bebas	34
2.2.1	Pengertian	34
2.2.2	Karakteristik Radikal Bebas	34
2.2.3	Superoxide (O ₂ ^{•-})	36
2.2.4	Stress Oksidatif	38
	2.2.4.1 Stress Oksidatif Mempengaruhi Kekebalan Tubuh	40
	2.2.4.2 Stress Oksidatif Mempengaruhi Peradangan	43
2.2.5	Proses Oksidasi	44
	2.2.5.1 Oksidasi Lipid	46
	2.2.5.2 Oksidasi Protein	51
	2.2.5.3 Oksidasi DNA	53
2.2.6	Sumber Radikal Bebas	55
	2.2.6.1 Asap Rokok	55
	2.2.6.2 Paparan Ozone	55
	2.2.6.3 Hyperoxia	56
	2.2.6.4 Radiasi	56
	2.2.6.5 Logam Berat	56
2.3	Anti Oksidan	57
2.3.1	Pengertian	57
2.3.2	Karakteristik Antioksidan	58
2.3.3	Gluthation Peroksidase	62
2.3.4	Superoksida Dismutase	64
2.4	Selenium	65
2.4.1	Sifat Fisikokimia dari Selenium	66
2.4.2	Bentuk Fisik dan Kimia Selenium	67
2.4.3	Metabolisme Selenium	68
	2.4.3.1 Penyerapan	68
	2.4.3.2 Bioavailabilitas	72
	2.4.3.3 Metabolisme	72
	2.4.3.4 Ekskresi	73
2.4.4	Selenium di Dalam Tubuh	74
	2.4.4.1 Glutation Peroksidase (GPx)	74
	2.4.4.2 <i>Deiodinases</i>	76
	2.4.4.3 Selenoprotein-P (SeP)	76

2.4.4.4	Thioredoxin Reductase	77
2.4.4.5	Selenoprotein lainnya	77
2.4.5	Peran Selenium	78
2.4.5.1	Selenium dan Respon Imun	78
2.4.5.2	Selenium dan Peradangan	79
2.4.5.3	Selenium Sebagai Antioksidan	80
2.4.5.4	Peran Selenoprotein Pada Redoks Seluler	81
2.4.5.5	Selenium dan Penyakit Lain	82
2.4.6	Penilaian Status Selenium	85
2.4.6.1	Penanda Biokimia Asupan Selenium	86
2.4.6.2	Penanda Fungsional	87
2.4.6.3	Faktor Pengaruh Status Selenium	88
2.5	Inflamasi	88
2.5.1	Pengertian	88
2.5.2	Mediator Inflamasi	89
2.6	Peran Sel Terhadap Reaksi Inflamasi	90
2.6.1	Makrofag	90
2.6.1.1	Makrofag Sebagai Fagositik	92
2.6.1.2	Makrofag Sebagai <i>Adaptive Immunity</i>	94
2.6.2	Neutrofil	95
2.6.2.1	Mekanisme Eliminasi Patogen Intraseluler	95
2.6.2.2	Mekanisme Eliminasi Patogen Ekstraseluler	96
2.7	Malodialdehid (MDA)	97
2.8	Interleukin-8	100
2.9	Interleukin-10	101
2.9.1	Pengaruh Selenium pada Interleukin-10	103
2.10	Transforming Growth Factor Beta (TGF- β)	105
2.11	Matriks Metalloproteinases-8 (MMP-8)	107
2.11.1	Peran MMP-8 Terhadap Fibrosis Paru	110
2.12	Kolagen	111
2.13	Alveolar Makrofag	113
2.14	Tikus wistar (<i>Rattus norvegicus</i>)	116
2.15	Landasan Teori	117

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1	Kerangka Konseptual	122
3.2	Penjelasan Kerangka Konseptual	123
3.2	Hipotesis	125

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1	Metode Penelitian	127
4.1.1	Jenis Penelitian	127
4.2.2	Rancang bangun Penelitian	127

4.2	Lokasi dan Waktu Penelitian	128
4.3	Populasi, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	128
4.3.1	Populasi dan Sampel	128
4.3.2	Besar Sampel Replikasi	129
4.3.3	Teknik Pengambilan Sampel	130
4.4	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	131
4.4.1	Variabel Penelitian	131
4.4.2	Definisi Operasional	132
4.5	Bahan dan Persiapan Penelitian	134
4.5.1	Selenium per Oral	134
4.5.2	Persiapan dan Perlakuan Hewan Coba	134
4.6	Prosedur Pelaksanaan Eksperimen	135
4.7	Prosedur Pengambilan Sampel	138
4.7.1	Darah	138
4.7.1.1	Kadar Selenoprotein Darah	138
4.7.2	Jaringan	139
4.7.2.1	Jumlah Sel Positif SOD Intrasel	139
4.7.2.2	Jumlah Sel Positif <i>Gluthation Peroksidase</i> Intrasel	139
4.7.2.3	Jumlah Sel Positif Malondialdehid (MDA) Intrasel	140
4.7.2.4	Jumlah Sel Positif <i>Interleukin-8</i> (IL-8) Intrasel	140
4.7.2.5	Jumlah Sel Positif <i>Interleukin-10</i> (IL-10) Intrasel	140
4.7.2.6	Jumlah Sel Positif <i>TGF-β</i> Intrasel	141
4.7.2.7	Jumlah Sel Positif MMP-8 Intrasel	141
4.7.2.8	Jumlah Sel Positif Kolagen Tipe 2	141
4.7.3	Histologi Paru	142
4.7.3.1	Cara Pengamatan Alveolar Makrofag	142
4.8	Kerangka Operasional	143
4.9	Analisis Data	144

BAB 5

HASIL DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1	Kadar Selenoprotein	145
5.2	Jumlah Sel Positif Superoksida Dismutase	146
5.3	Jumlah Sel Positif Glutathion Peroksidase	151
5.4	Jumlah Sel Positif Malondialdehid	156
5.5	Alveolar Makrofag	161
5.6	Jumlah Sel Positif Interleukin-8	164
5.7	Jumlah Sel Positif Interleukin-10	169
5.8	Jumlah Sel Positif <i>Transforming Growth Factor β</i>	174
5.9	Jumlah Sel Positif Matrik Metalloprotein-8	179
5.10	Jumlah Sel Positif Kolagen Tipe 2	184
5.11	Penyajian Hasil Perhitungan <i>Partial Least Square</i> (PLS)	

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1	Kadar Selenoprotein	190
6.2	Jumlah Sel Positif Superoksida Dismutase di Jaringan Paru	191
6.3	Jumlah Sel Positif Glutation Peroksidase di Jaringan Paru	194
6.4	Jumlah Sel Positif Malondialdehid di Jaringan Paru	197
6.5	Alveolar Makrofag	199
6.6	Jumlah Sel Positif Interleukin-8 di Jaringan Paru	201
6.7	Jumlah Sel Positif Interleukin-10 di Jaringan Paru	203
6.8	Jumlah Sel Positif <i>Transforming Growth Factor β</i> di Jaringan Paru	206
6.9	Jumlah Sel Positif Matrik Metalloprotein-8 di Jaringan Paru	208
6.10	Jumlah Sel Positif Kolagen Tipe 2 di Jaringan Paru	210
6.11	Mekanisme selenomethionine	212
6.12	Temuan Ilmiah Baru	222
6.13	Keterbatasan Penelitian	223

BAB 7

PENUTUP

7.1	Kesimpulan	224
7.2	Saran	224

DAFTAR PUSTAKA

225

LAMPIRAN

247

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
Tabel 2.1	Jenis radikal bebas ROS dan RNS	35
Tabel 2.2	Jenis non radikal ROS dan RNS	36
Tabel 2.3	Berbagai bentuk selenium pada makanan	71
Tabel 2.4	Beberapa selenoprotein manusia dan fungsinya	77
Tabel 2.5	Penelitian Terdahulu sebagai landasan penelitian	118
Tabel 4.1	Definisi Operasional Variabel Bebas	132
Tabel 4.2	Definisi Operasional Variabel Antara	132
Tabel 4.3	Definisi Operasional Variabel Tergantung	133
Tabel 4.4	Definisi Operasional Variabel Terkendali	133
Tabel 5.1	Kadar Selenoprotein	145
Tabel 5.2	Nilai Jumlah Sel Positif Superoksida Dismutase	147
Tabel 5.3	Perbandingan Jumlah Sel Positif Superoksida Dismutase	150
Tabel 5.4	Nilai Jumlah Sel Positif Glutation Peroksidase	155
Tabel 5.5	Perbandingan Jumlah Sel Positif Glutation Peroksidase	155
Tabel 5.6	Nilai Jumlah Sel Positif Malondialdehid	160
Tabel 5.7	Perbandingan Jumlah Sel Positif Malondialdehid	160
Tabel 5.8	Nilai Alveolar Makrofag	162
Tabel 5.9	Perbandingan Nilai Alveolar Makrofag	163
Tabel 5.10	Nilai Jumlah Sel Positif Interleukin-8	167
Tabel 5.11	Perbandingan Jumlah Sel Positif Interleukin-8	168
Tabel 5.12	Nilai Jumlah Sel Positif Interleukin-10	169
Tabel 5.13	Perbandingan Jumlah Sel Positif Interleukin-10	173
Tabel 5.14	Nilai Jumlah Sel Positif TGF- β	174
Tabel 5.15	Perbandingan Jumlah Sel Positif TGF- β	178
Tabel 5.16	Nilai Jumlah Sel Positif MMP-8	179
Tabel 5.17	Perbandingan Jumlah Sel Positif MMP-8	183
Tabel 5.18	Nilai Jumlah Sel Positif Kolagen Tipe 2	184
Tabel 5.19	Perbandingan Jumlah Sel Positif Kolagen Tipe 2	188

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
Gambar 2.1	Susunan kimia senyawa nikotin	13
Gambar 2.2	Senyawa karbon monoksida	15
Gambar 2.3	Reaksi pembentukan karboxyhemoglobin (COHb)	16
Gambar 2.4	Jenis <i>Polycyclic aromatic hydrocarbons</i> (PAH)	17
Gambar 2.5	Struktur <i>Tobacco-Spesific Nitrosamine</i> (TSNA)	18
Gambar 2.6	Patofisiologi COPD	22
Gambar 2.7	Reaksi <i>Haber-Weiss</i> dan Feton	37
Gambar 2.8	Pengaruh ROS terhadap peradangan	43
Gambar 2.9	Mekanisme <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS)	44
Gambar 2.10	Tahapan Pembentukan Radikal Bebas	45
Gambar 2.11	Siklus redoks dari logam transisi	50
Gambar 2.12	Reaksi logam berat dengan ROS	57
Gambar 2.13	Mekanisme Antioksidan	63
Gambar 2.14	Selenomethionine dan selonocysteine	68
Gambar 2.15	Metabolisme Selenium dari Berbagai Makanan	81
Gambar 2.16	Metabolisme Selenium dalam Tubuh	83
Gambar 2.17	Mekanisme Antioksidan GPx dan TrxR	104
Gambar 2.18	<i>Rattus Novergicus</i> Strain Wistar	116
Gambar 3.1	Kerangka Konseptual	122
Gambar 4.1	Rancang Bangun Penelitian	127
Gambar 4.2	Bagan Pengambilan Sampel	130
Gambar 4.3	Alur Penelitian	143
Gambar 5.1	Jumlah Sel Positif SOD pada Kelompok I	147
Gambar 5.2	Jumlah Sel Positif SOD pada Kelompok II	148
Gambar 5.3	Jumlah Sel Positif SOD pada Kelompok III	148
Gambar 5.4	Jumlah Sel Positif SOD pada Kelompok IV	149
Gambar 5.5	Jumlah Sel Positif SOD pada Kelompok V	149
Gambar 5.6	Jumlah Sel Positif SOD pada Kelompok VI	150
Gambar 5.7	Jumlah Sel Positif GSH-Px pada Kelompok I	152
Gambar 5.8	Jumlah Sel Positif GSH-Px pada Kelompok II	152
Gambar 5.9	Jumlah Sel Positif GSH-Px pada Kelompok III	153
Gambar 5.10	Jumlah Sel Positif GSH-Px pada Kelompok IV	153
Gambar 5.11	Jumlah Sel Positif GSH-Px pada Kelompok V	154
Gambar 5.12	Jumlah Sel Positif GSH-Px pada Kelompok VI	154
Gambar 5.13	Jumlah Sel Positif Malondiadehid pada Kelompok I	157
Gambar 5.14	Jumlah Sel Positif Malondiadehid pada Kelompok II	157
Gambar 5.15	Jumlah Sel Positif Malondiadehid pada Kelompok III	158
Gambar 5.16	Jumlah Sel Positif Malondiadehid pada Kelompok IV	158
Gambar 5.17	Jumlah Sel Positif Malondiadehid pada Kelompok V	159
Gambar 5.18	Jumlah Sel Positif Malondiadehid pada Kelompok VI	159
Gambar 5.19	Alveolar Makrofag dengan pewarnaan HE	163

Nomor	Judul Gambar	Halaman
Gambar 5.20	Jumlah Sel Positif Interleukin-8 pada Kelompok I	164
Gambar 5.21	Jumlah Sel Positif Interleukin-8 pada Kelompok II	165
Gambar 5.22	Jumlah Sel Positif Interleukin-8 pada Kelompok III	165
Gambar 5.23	Jumlah Sel Positif Interleukin-8 pada Kelompok IV	166
Gambar 5.24	Jumlah Sel Positif Interleukin-8 pada Kelompok V	166
Gambar 5.25	Jumlah Sel Positif Interleukin-8 pada Kelompok VI	167
Gambar 5.26	Jumlah Sel Positif Interleukin-10 pada Kelompok I	170
Gambar 5.27	Jumlah Sel Positif Interleukin-10 pada Kelompok II	170
Gambar 5.28	Jumlah Sel Positif Interleukin-10 pada Kelompok III	171
Gambar 5.29	Jumlah Sel Positif Interleukin-10 pada Kelompok IV	171
Gambar 5.30	Jumlah Sel Positif Interleukin-10 pada Kelompok V	172
Gambar 5.31	Jumlah Sel Positif Interleukin-10 pada Kelompok VI	172
Gambar 5.32	Jumlah Sel Positif TGF- β pada Kelompok I	175
Gambar 5.33	Jumlah Sel Positif TGF- β pada Kelompok II	175
Gambar 5.34	Jumlah Sel Positif TGF- β pada Kelompok III	176
Gambar 5.35	Jumlah Sel Positif TGF- β pada Kelompok IV	176
Gambar 5.36	Jumlah Sel Positif TGF- β pada Kelompok V	177
Gambar 5.37	Jumlah Sel Positif TGF- β pada Kelompok VI	177
Gambar 5.38	Jumlah Sel Positif MMP-8 pada Kelompok I	179
Gambar 5.39	Jumlah Sel Positif MMP-8 pada Kelompok II	180
Gambar 5.40	Jumlah Sel Positif MMP-8 pada Kelompok III	180
Gambar 5.41	Jumlah Sel Positif MMP-8 pada Kelompok IV	181
Gambar 5.42	Jumlah Sel Positif MMP-8 pada Kelompok V	181
Gambar 5.43	Jumlah Sel Positif MMP-8 pada Kelompok VI	182
Gambar 5.44	Jumlah Sel Positif Kolagen Tipe 2 pada Kelompok I	185
Gambar 5.45	Jumlah Sel Positif Kolagen Tipe 2 pada Kelompok II	185
Gambar 5.46	Jumlah Sel Positif Kolagen Tipe 2 pada Kelompok III	186
Gambar 5.47	Jumlah Sel Positif Kolagen Tipe 2 pada Kelompok IV	186
Gambar 5.48	Jumlah Sel Positif Kolagen Tipe 2 pada Kelompok V	187
Gambar 5.49	Jumlah Sel Positif Kolagen Tipe 2 pada Kelompok VI	187
Gambar 5.50	Model Struktural PLS	189
Gambar 6.1	Peranan Matrik Metalloprotein Terhadap Kerusakan Sel	215
Gambar 6.2	Peranan Berbagai Faktor terhadap Alveolar Makrofag	219
Gambar 6.3	Mekanisme Logam Berat Terhadap Fibrosis Paru	220

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul Lampiran	Halaman
Lampiran I	Teknik Perlakuan Hewan Coba	247
Lampiran II	Teknik Pemberian Pakan dan Air Minum	250
Lampiran III	Komposisi Pakan Tikus Wistar	252
Lampiran IV	Cara Pemberian Asap Rokok Pada Hewan Coba	253
Lampiran V	Hasil Studi Pendahuluan	254
Lampiran VI	Kandungan Rokok Elektrik	258
Lampiran VII	Surat Kelayakan Hewan Coba	259
Lampiran VIII	Kandungan Material Logam Pada Rokok Elektrik	260
Lampiran IX	Teknik Pemberian Selenium Pada Hewan Coba	261
Lampiran X	Teknik Pengambilan dan Pembuatan Jaringan	262
Lampiran XI	Teknik Anastesi dan Eutanasia	265
Lampiran XII	Pemeriksaan selenoprotein dalam darah	266
Lampiran XIII	Pemeriksaan <i>Immunohistochemistry</i> SOD	267
Lampiran XIV	Pemeriksaan <i>Immunohistochemistry</i> GSH-Px	268
Lampiran XV	Pemeriksaan <i>Immunohistochemistry</i> Malondialdehid	269
Lampiran XVI	Pemeriksaan <i>Immunohistochemistry</i> Interleukin-8	270
Lampiran XVII	Pemeriksaan <i>Immunohistochemistry</i> Interleukin-10	271
Lampiran XVIII	Pemeriksaan <i>Immunohistochemistry</i> TGF- β	272
Lampiran XIX	Pemeriksaan <i>Immunohistochemistry</i> MMP-8	273
Lampiran XX	Pemeriksaan <i>Immunohistochemistry</i> Kolagen Tipe 2	274
Lampiran XXI	Teknik Pewarnaan <i>Hematoksillin Eosin</i> (HE)	275
Lampiran XXII	Pemeriksaan Histopatologi <i>Immunohistochemistry</i>	277
Lampiran XXIII	Surat Persetujuan Etik	278
Lampiran XXIV	Foto Kegiatan	279
Lampiran XXV	Kadar Selenoprotein	281
Lampiran XXVI	Pengambilan darah hewan coba	282
Lampiran XXVII	Analisis Data Selenoprotein	283
Lampiran XXVIII	Hasil Jumlah Sel Positif SOD	285
Lampiran XXIX	Analisis Data Jumlah Sel Positif SOD	286
Lampiran XXX	Hasil Jumlah Sel Positif GSH-Px	288
Lampiran XXXI	Analisis Data Jumlah Sel Positif GSH-Px	289
Lampiran XXXII	Hasil Jumlah Sel Positif Malondialdehid	291
Lampiran XXXIII	Analisis Data Jumlah Sel Positif Malondialdehid	292
Lampiran XXXIV	Hasil Alveolar Makrofag	294
Lampiran XXXV	Analisis Data Alveolar Makrofag	295
Lampiran XXXVI	Hasil Jumlah Sel Positif Interleukin-8	297
Lampiran XXXVII	Analisis Data Jumlah Sel Positif Interleukin-8	298
Lampiran XXXVIII	Hasil Jumlah Sel Positif Interleukin-10	301
Lampiran XXXIX	Analisis Data Jumlah Sel Positif Interleukin-10	302
Lampiran XL	Hasil Jumlah Sel Positif TGF- β	305
Lampiran XLI	Analisis Data Jumlah Sel Positif TGF- β	306
Lampiran XLII	Hasil Jumlah Sel Positif MMP-8	308
Lampiran XLIII	Analisis Data Jumlah Sel Positif MMP-8	309

Nomor	Judul Lampiran	Halaman
Lampiran XLIV	Hasil Jumlah Sel Positif Kolagen Tipe 2	311
Lampiran XLV	Analisis Data Jumlah Sel Positif Kolagen Tipe 2	312
Lampiran XLVI	Analisis Data <i>Partial Least Square</i> (PLS)	315

DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

•OH	=	<i>Hydroxyl Radikal</i>
¹ O ₂	=	<i>Singlet Oksigen</i>
AM	=	<i>Alveolar Makrofag</i>
APCs	=	<i>Antigen-Presenting Cells</i>
ATP	=	<i>Adenosine Triphosphate</i>
BaP	=	<i>Benzo [a] pyrene</i>
CAT	=	<i>Katalase</i>
CO	=	<i>Karbon Monoksida</i>
COHb	=	<i>Oxyhemoglobin</i>
COPD	=	<i>Chronic Obstructive Pulmonary Disease</i>
CRP	=	<i>C Reaktif Protein</i>
DAMPs	=	<i>Endogenous cell-derived damage-associated molecular patterns</i>
DIO	=	<i>Iodothyronine Deiodinases</i>
DNA	=	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
FEV-1	=	<i>Forced Expiratory Volume in one second</i>
FVC	=	<i>Forced Vital Capacity</i>
GPx	=	<i>Gluthation Peroksidase</i>
H ₂ O ₂	=	<i>Hidrogen Peroksida</i>
Hb	=	<i>Hemoglobin</i>
HDL	=	<i>High Density Lipoprotein</i>
HGF	=	<i>Hybridoma Growth Factor</i>
HMGB1	=	<i>High Mobility Group Box 1</i>
HO ₂ •	=	<i>Hydroperoxyl Radikal</i>
HOCl	=	<i>Hypochlorous Acid</i>
HPLC	=	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HSF	=	<i>Hepatocyte-Stimulating Factor</i>
IFN	=	<i>Interferon</i>
Ig E	=	<i>Immunoglobulin E</i>
IL-6	=	<i>Interleukin 6</i>
IL-8	=	<i>Interleukin 8</i>
LDL	=	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LO•	=	<i>Alkoxy radical</i>
LOO•	=	<i>Peroxy radical</i>
LOOH	=	<i>Hydroperoksida</i>
MDA	=	<i>Malondialdehyde</i>
MMP	=	<i>Matriks Metaloproteinases</i>
MMP	=	<i>Metalloproteinase</i>
MPO	=	<i>Myeloperoxidase</i>
NAB	=	<i>N'-nitroso anabasine</i>
NADPH	=	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NAT	=	<i>N-nitroso anatabine</i>
NNK	=	<i>(4-methylnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanone</i>
NNN	=	<i>N'-nitrosornicotine</i>
O ₂	=	<i>Oksigen</i>

$O_2^{\bullet-}$	=	<i>Superoxide Anion</i>
O_3	=	<i>Ozon</i>
OONO	=	<i>Peroxynitrit</i>
PAH	=	<i>Polycyclic Aromatic Hydrocarbons</i>
PAMPs	=	<i>Microorganism-derived pathogen-associated molecular patterns</i>
PRRs	=	<i>ReseptorPathogen-recognition Receptors</i>
PUFA	=	<i>Polyunsaturated fatty acid</i>
RNS	=	<i>Reactive Nitrogen Species</i>
RO^{\bullet}	=	<i>Alkoxyl radikal</i>
ROO^{\bullet}	=	<i>Peroxyl radicals</i>
ROOH	=	<i>Alkyl peroksida</i>
ROS	=	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SAA	=	<i>Serum Amyloid A</i>
SeP	=	<i>Selenoprotein</i>
SOD	=	<i>Super Oxide Dismutase</i>
TBA	=	<i>Asam thiobarbituric</i>
<i>TGF-β</i>	=	<i>Transforming growth factor beta</i>
Th2	=	<i>T-helper 2</i>
TNF- α	=	<i>Tumor Nekrosis Faktora</i>
TrxRs	=	<i>Reductase Thioredoxin</i>
TSNA	=	<i>Tobacco-Spesific Nitrosamine</i>