

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL LUAR .....	
HALAMAN SAMPUL DALAM .....	i
HALAMAN AWAL DISERTASI .....	ii
HALAMAN PRASYARAT GELAR .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI .....	v
HALAMAN UCAPAN TERIMA KASIH .....	vi
HALAMAN RINGKASAN .....	viii
HALAMAN SUMMARY .....	xii
HALAMAN ABSTRAK .....	xvi
HALAMAN ABSTRACT.....	xvii
DAFTAR ISI .....	xviii
DAFTAR TABEL .....	xxiii
DAFTAR GAMBAR .....	xxiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xxviii
DAFTAR ARTI LAMBANG, SINGKATAN DAN ISTILAH .....	xxix
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.3.1 Tujuan umum .....	6
1.3.2 Tujuan khusus .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	7

1.4.1 Manfaat teoritis .....	7
1.4.2 Manfaat praktis .....	7
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>8</b>
2.1 Struktur Saluran Nafas .....	8
2.1.1 Epitel saluran nafas .....	9
2.2 Metil Metakrilat (MMA).....	11
2.2.1 Bahaya MMA .....	12
2.3 <i>Reactive Oxygen Species</i> (ROS).....	14
2.4 Stres Oksidatif .....	16
2.4.1 <i>Superoxide dismutase</i> (SOD) dan <i>catalase</i> (CAT).....	17
2.4.2 Malondialdehid (MDA) .....	18
2.5 Nuclear Factor Kappa B (NF-κB) .....	19
2.6 Inflamasi .....	19
2.7 Sitokin .....	21
2.7.1 Interleukin 8 (IL-8) .....	22
2.7.2 Interleukin 10 (IL-10) .....	23
2.8 <i>Matrix Metalloproteinase</i> (MMP) .....	24
2.9 Antioksidan .....	26
2.10 <i>Eucalyptus</i> .....	27
2.10.1 1,8-sineol .....	28
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL .....</b>	<b>31</b>
3.1 Kerangka Konsep .....	31
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep .....	32
3.3 Hipotesis Penelitian .....	34
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>35</b>

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....	35
4.2 Unit Eksperimental, Replikasi dan Randomisasi .....	36
4.2.1 Unit eksperimental .....	36
4.2.2 Replikasi .....	37
4.2.3 Randomisassi .....	38
4.3 Variabel Penelitian .....	38
4.3.1 Variabel bebas .....	38
4.3.2 Variabel penghubung .....	38
4.3.3 Variabel tergantung .....	39
4.3.4 Variabel terkendali .....	39
4.3.5 Definisi operasional variabel .....	39
4.4 Alat dan Bahan Penelitian .....	41
4.4.1 Alat-alat penelitian .....	41
4.4.2 Bahan-bahan penelitian .....	41
4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	42
4.5.1 Lokasi Penelitian .....	42
4.5.2 Waktu Penelitian .....	42
4.6 Cara Kerja .....	43
4.6.1 Pemberian pajanan 150 ppm .....	43
4.6.2 Pemberian 1,8-sineol 5mg/ml, 10 mg/ml dan 15 mg/ml ..	43
4.6.3 Pengambilan jaringan saluran napas .....	44
4.6.4 Pembuatan preparat .....	44
4.6.5 Pengamatan ekspresi SOD, CAT, MDA, NF- $\kappa$ B, IL-8, dan IL-10 .....	44
4.6.6 Pengamatan inflamasi .....	47

4.7 Analisis data .....	48
4.8 Kerangka Operasional Penelitian .....	49
4.9 Penelitian <i>in silico</i> .....	50
4.9.1 Pembuatan struktur 2 dimensi dan 3 dimensi .....	50
4.9.2 Doking dan analisis asam amino .....	50
4.9.2.1 Interaksi 1,8-sineol dengan reseptor CoX-2 .....	50
4.9.2.2 Interaksi 1,8-sineol dengan reseptor TLR-2 .....	51
4.9.3 Alur penelitian aktivitas anti inflamasi 1,8-sineol secara <i>in silico</i> .....	51
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS .....</b>	<b>52</b>
5.1 Penelitian <i>in silico</i> .....	52
5.2 Penelitian <i>in vivo</i> .....	65
5.2.1 Deskripsi data hasil penelitian .....	65
5.2.2 Analisis dan hasil penelitian .....	67
5.2.2.1 Ekspresi SOD .....	68
5.2.2.2 Ekspresi CAT .....	69
5.2.2.3 Metabolit MDA .....	73
5.2.2.4 Ekspresi NF- $\kappa$ B .....	74
5.2.2.5 Ekspresi IL-8 .....	78
5.2.2.6 Ekspresi IL-10 .....	79
5.2.2.7 Jumlah neutrofil .....	83
5.2.3 Analisis hubungan kausalistik variabel yang diteliti .....	84
5.2.3.1 Efek MMA terhadap inflamasi saluran nafas .....	86
5.2.3.2 Efek 1,8-sineol terhadap inflamasi saluran nafas .....	87
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>89</b>

6.1 Penelitian <i>in silico</i> .....	89
6.2 Penelitian <i>in vivo</i> .....	91
6.2.1 Efek pemberian 1,8-sineol terhadap ekspresi SOD .....	93
6.2.2 Efek pemberian 1,8-sineol terhadap ekspresi CAT .....	95
6.2.3 Efek pemberian 1,8-sineol terhadap jumlah metabolit MDA .....	96
6.2.4 Efek pemberian 1,8-sineol terhadap ekspresi NF- $\kappa$ B .....	97
6.2.5 Efek pemberian 1,8-sineol terhadap ekspresi IL-8 .....	98
6.2.6 Efek pemberian 1,8-sineol terhadap ekspresi IL-10.....	99
6.2.7 Efek pemberian 1,8-sineol terhadap neutrofil .....	101
6.3 Analisis Jalur .....	102
6.3.1 Mekanisme efek pemberian MMA terhadap inflamasi saluran nafas.....	102
6.3.2 Mekanisme efek pemberian 1,8-sineol terhadap inflamasi saluran nafas .....	105
6.4 Keterbatasan Penelitian .....	108
6.5 Temuan Baru Penelitian .....	108
BAB 7 PENUTUP .....	109
7.1 Kesimpulan .....	109
7.2 Saran .....	110
DAFTAR PUSTAKA .....	111
LAMPIRAN .....	119

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Famili MMP ..... 25
Tabel 2.2	Kandungan dalam uap minyak <i>Eucalyptus globulus</i> ..... 28
Tabel 2.3	Sifat kimia dan fisika 1,8-sineol ..... 29
Tabel 5.1	Hasil docking antara 1,8-sineol, ligan (diklofenak) dengan reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) kode PDB: 1PXX menggunakan program <i>Molegro Virtual Docker 5.5</i> . ..... 65
Tabel 5.2	Hasil doking antara 1,8-sineol, ligan (CAS_673) <i>Toll Like Receptor-2</i> (TLR-2) kode PDB: 1FYW menggunakan program <i>Molegro Virtual Docker 5.5</i> . ..... 65
Tabel 5.3	Rerata dan standar deviasi ekspresi SOD, CAT, metabolit MDA, ekspresi NF-Kb, IL-8, IL-10, dan jumlah neutrofil .... 66
Tabel 5.4	Ekspresi SOD pada epitel saluran nafas mencit ..... 68
Tabel 5.5	Ekspresi CAT pada epitel saluran nafas mencit ..... 71
Tabel 5.6	Metabolit MDA pada epitel saluran nafas mencit ..... 73
Tabel 5.7	Ekspresi NF-κB pada makrofag saluran nafas mencit ..... 76
Tabel 5.8	Ekspresi IL-8 pada makrofag saluran nafas mencit ..... 78
Tabel 5.9	Ekspresi IL-10 pada makrofag saluran nafas mencit ..... 81
Tabel 5.10	Jumlah neutrofil pada saluran nafas mencit ..... 83

## DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 2.1	Epitel saluran nafas .....	10
Gambar 2.2	Struktur kimia monomer MMA .....	11
Gambar 2.3	Struktur elektron pada macam-macam ROS .....	14
Gambar 2.4	<i>Reactive oxygen intermediate</i> dalam metabolisme reduktif oksigen .....	15
Gambar 2.5	Rumus kimia malondialdehid .....	18
Gambar 2.6	<i>E globulus</i> .....	27
Gambar 2.7	Struktur kimia 1,8-sineol (C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O) .....	29
Gambar 2.8	Aksi mode potensial 1,8-sineol pada sel yang distimulasi LPS .....	30
Gambar 3.1	Kerangka konsep .....	31
Gambar 4.1	Rancangan penelitian .....	35
Gambar 4.2	Proses deparafinisasi .....	45
Gambar 4.3	Spesimen berwarna kecoklatan setelah ditetesi DAB .....	46
Gambar 4.4	Spesimen diberi Meyer Hematoxylin .....	46
Gambar 4.5	Spesimen dicelup air sampai warna merahnya hilang .....	46
Gambar 4.6	Selesai pengecatan .....	47
Gambar 4.7	Spesimen diberi entelan dan <i>cover glass</i> .....	47
Gambar 4.8	Alur penelitian eksperimental .....	49
Gambar 4.9	Alur penelitian <i>in silico</i> .....	51
Gambar 5.1	Struktur 1,8-sineol .....	52
Gambar 5.2	Struktur diklofenak .....	52
Gambar 5.3	Reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) kode PDB: 1PXX dengan 5 kavitas.....	53
Gambar 5.4	Kavitas 5 pada reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) kode PDB: 1PXX dengan ligan diklofenak .....	53
Gambar 5.5	Gambaran 2-dimensi interaksi 1,8-sineol dengan asam amino reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) kode PDB: 1PXX melalui ikatan Hidrogen (biru) (A) dan	

	melalui ikatan Hidrogen dan interaksi sterik (merah) (B).....	54
Gambar 5.6	Gambaran 3-dimensi interaksi 1,8-sineol dengan dengan asam-asam amino reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) kode PDB: 1PXX melalui ikatan hidrogen dan interaksi sterik.....	55
Gambar 5.7	Gambaran 2-dimensi interaksi diklofenak dengan asam-asam amino reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) kode PDB: 1PXX melalui ikatan hidrogen (biru) (A), dan melalui ikatan hidrogen serta interaksi sterik (merah) (B).	56
Gambar 5.8	Gambaran 3-dimensi interaksi diklofenak dengan dengan asam-asam amino reseptor siklooksigenase-2 (COX-2) kode PDB: 1PXX melalui ikatan hidrogen dan interaksi sterik.....	57
Gambar 5.9	<i>Toll Like Receptor-2</i> (TLR-2) kode PDB: 1FYW dengan 5 kavitas .....	58
Gambar 5.10	Kavitas 3 pada <i>Toll Like Receptor-2</i> (TLR-2) kode PDB: 1FYW dengan ligan CAS_673(A).....	58
Gambar 5.11	Gambaran 2-dimensi interaksi 1,8-sineol dengan asam-asam amino <i>Toll Like Receptor-2</i> (TLR-2) kode PDB: 1FYW melalui ikatan hidrogen (biru) (A), dan melalui ikatan hidrogen serta interaksi sterik (merah) (B).....	59
Gambar 5.12	Gambaran 3-dimensi interaksi 1,8-sineol dengan asam-asam amino <i>Toll Like Receptor-2</i> (TLR-2) kode PDB: 1FYW melalui ikatan hidrogen dan interaksi sterik.....	60
Gambar 5.13	Gambaran 2-dimensi interaksi ligan CAS_673 dengan asam-asam amino <i>Toll Like Receptor-2</i> (TLR-2) kode PDB: 1FYW melalui ikatan hidrogen (biru) (A), dan melalui ikatan hidrogen serta interaksi sterik (merah) (B).	61
Gambar 5.14	Gambaran 3-dimensi interaksi ligan CAS_673 dengan dengan asam-asam amino <i>Toll Like Receptor-2</i> (TLR-2) kode PDB: 1FYW melalui ikatan hidrogen dan interaksi sterik.....	62



Gambar 5.15	1,8-Ssineol-Cox2-IkH+ikatan sterik 2-dimensi dan 3-dimensi .....	63
Gambar 5.16	1,8-Ssineol-TLR-2-IkH+interaksi sterik 2-dimensi dan 3-dimensi .....	64
Gambar 5.17	Rerata ekspresi SOD, CAT, metabolit MDA, ekspresi NF- $\kappa$ b, IL-8, IL-10, dan jumlah neutrofil .....	67
Gambar 5.18	Rerata dan simpangan baku ekspresi SOD .....	69
Gambar 5.19	Pengecatan imunohistokimia sel epitel saluran nafas mencit yang mengekspresikan SOD dengan pembesaran 400x.....	70
Gambar 5.20	Rerata dan simpangan baku ekspresi CAT.....	71
Gambar 5.21	Pengecatan imunohistokimia sel epitel saluran nafas mencit yang mengekspresikan CAT dengan pembesaran 400x.....	72
Gambar 5.22	Rerata dan simpangan baku jumlah metabolit MDA.....	74
Gambar 5.23	Pengecatan imunohistokimia sel epitel saluran nafas mencit yang menghasilkan metabolit MDA dengan pembesaran 400x.....	75
Gambar 5.24	Rerata dan simpangan baku ekspresi NF- $\kappa$ B .....	76
Gambar 5.25	Pengecatan imunohistokimia makrofag saluran nafas mencit yang mengekspresikan NF- $\kappa$ B dengan pembesaran 400x.....	77
Gambar 5.26	Rerata dan simpangan baku ekspresi IL-8 .....	79
Gambar 5.27	Pengecatan imunohistokimia makrofag saluran nafas mencit yang mengekspresikan IL-8 dengan pembesaran 400x .....	80
Gambar 5.28	Rerata dan simpangan baku ekspresi IL-10 .....	81
Gambar 5.29	Pengecatan imunohistokimia makrofag saluran nafas mencit yang mengekspresikan IL-10 dengan pembesaran 400x .....	82
Gambar 5.30	Jumlah neutrofil pada saluran nafas mencit .....	84
Gambar 5.31	Pengecatan HE sel saluran nafas mencit dengan pembesaran 400x .....	85

Gambar 5.32	Analisis jalur efek MMA terhadap inflamasi saluran nafas	86
Gambar 5.33	Analisis jalur efek 1,8-sineol terhadap inflamasi saluran nafas .....	87

## DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	Sertifikat Laik Etik .....	119
Lampiran 2	Publikasi 1 .....	120
Lampiran 3	Publikasi 2 .....	125
Lampiran 4	Data Penelitian.....	132
Lampiran 5	Analisis Statistik .....	133
Lampiran 6	Sertifikat Analisis MMA .....	160
Lampiran 7	Sertifikat Analisis 1,8-Sineol .....	161

**DAFTAR ARTI LAMBANG, SINGKATAN DAN ISTILAH**

AA	: <i>arachidonic acid</i>
AIA	: <i>anti-inflammatory activity</i>
APC	: <i>antigen-presenting cell</i>
APD	: alat pelindung diri
ATP	: adenosin trifosfat
BALF	: <i>Broncho alveolar lavage fluid</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
COPD	: <i>Chronic Obstructive Pulmonary Disease</i>
DAMPs	: <i>Damage Associated Molecular Pattern</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
ECM	: <i>Extra cellular matrix</i>
Gpx	: <i>Glutathione peroxidase</i>
GR	: <i>glutathione reductase</i>
GSH	: <i>glutathione</i>
HEMA	: <i>2-hydroxyl methacrylate</i>
HP	: <i>Hypersensitivity Pneumonitis</i>
IgA	: <i>Imunoglobulin A</i>
IκB	: <i>I kappa B</i>
IκK	: <i>I kappa B kinase</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
iNOS	: <i>Inducible nitric oxide synthase</i>
LT	: <i>Limfotoksin</i>
LTB4	: <i>Leukotriene B4</i>
MCP-1	: <i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
MMA	: <i>Methyl methacrylate</i>
MMP	: <i>Matrix metalloproteinase</i>
MyD88	: <i>myeloid differentiation factor 88</i>

NF- $\kappa$ B	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
NK cell	: <i>Natural killer cell</i>
PGE-2	: <i>Prostaglandin E2</i>
PPAR- $\gamma$	: <i>Peroxisome proliferator-activated receptor Gama</i>
PUFA	: <i>Poly unsaturated fatty acid</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
SOD	: <i>Superoxide dismutase</i>
STEL	: <i>Short-term Exposure Limit</i>
TBARS	: <i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</i>
TEGDMA	: <i>Triethylene glycol dimethacrylate</i>
TLR	: <i>Toll Like Receptor</i>
TLV-TWA	: <i>Threshold Limit Value – Time Weighted Average</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
TWA	: <i>Time-weighted Average</i>