

# TESIS

## **EFEK PEMBERIAN REBUSANN DAUN TEMBAKAU KERING TERHADAP KADAR PLATELET DARAH DAN WAKTU PROTROMBIN PADA TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS*) GALUR WISTAR**



KKB  
KK  
TEO. 62/11  
Ros  
c

**FAHRUN NUR ROSYID**

**PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2009**

TESIS

EFEK PEMBERIAN REBUSAN DAUN TEMBAKAU KEJING  
TERHADAP KADAR TIALETT DARAH DAN  
WAKTU PROTROMBIN PADA TIKUS PUTIH  
(RATTUS NORVEGICUS) GALUR WISTAR

M I L I K  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA



FAHRUN NUR ROSYID

PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2002

**EFEK PEMBERIAN REBUSANN DAUN TEMBAKAU KERING  
TERHADAP KADAR PLATELET DARAH DAN  
WAKTU PROTROMBIN PADA TIKUS PUTIH  
(*RATTUS NORVEGICUS*) GALUR WISTAR**

**TESIS**

**Untuk memperoleh Gelar Magister  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

**FAHRUN NUR ROSYID**

**PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2009**

EFEK PEMBERIAN REBUSAN DAUN TEMBAKAU KERING  
TERHADAP KADAR PLATELET DARAH DAN  
WAKTU PROTROMBIN PADA TIKUS PUTIH  
(RATTUS NORVEGICUS) GALUR WISTAR

## TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister  
dalam Program Studi Ilmu Kebidokteran Dasar  
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

FAHRUN NUR ROSYID

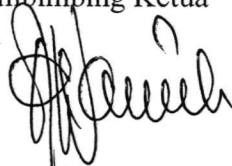
PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2009

Lembar pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI  
TANGGAL JULI 2009**

Oleh

Pembimbing Ketua



Tjitra Wardani, dr MS  
NIP. 130676013

Pembimbing



Prof Dr Sunarko Setyawan, dr MS  
NIP. 131949832

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Universitas Airlangga Surabaya



Prof Retno Handajani, dr MS Ph.D  
NIP. 130 541 984

**Tesis ini telah diuji dan dinilai  
oleh panitia penguji pada  
Program Pascasarjana Universitas Airlangga  
Pada tanggal 16 Juli 2009**

**Panitia Penguji Tesis**

**Ketua** : Prof Dr Paulus Liben, dr MS

**Anggota** : 1. Tjitra Wardani, dr MS  
2. Prof Dr Sunarko Setyawan, dr MS  
3. Harlina Soetjipto, dr MS  
4. Mohammad Cholil Munif, dr AIF

## UCAPAN TERIMA KASIH

**Bismilahirrohmanniirrohiim**

**Assalamu'alaikum Warahmatullohiwabarakatuh**

Puji syukur senantiasa kami panjatkan kepada Illahi Robbi – Alloh SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan penelitian ini pada waktunya. Sholawat beserta salam semoga tertap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita melangkah dari kegelapan menuju nur Illahi.

Terima kasih yang tak ternilai dan penghargaan yang setinggi-tingginya kami sampaikan kepada kepada dr Tjitra Wardani, MS selaku pembimbing ketua yang dengan penuh kesabaran dan perhatian yang senantiasa memberikan arahan, bimbingan, kritik dan saran serta dorongan dan motivasi sejak penyusunan proposal, persiapan dan pelaksanaan penelitian hingga selesainya tesis ini.

Terima kasih yang tak terhingga dan penghormatan yang setinggi-tingginya kami sampaikan kepada Prof Dr Soenarko Setiawan dr MS selaku pembimbing yang selalu bersedia meluangkan waktu, tenaga, pikiran untuk memberikan bimbingan sejak penyusunan proposal, persiapan dan pelaksanaan penelitian hingga selesainya tesis ini.

Dalam kesempatan ini pula, perkenankanlah kami mengucapkan terima kasih kepada beberapa pihak yang telah membantu kami, yakni :

1. Rektor Universitas Airlangga Prof Dr Fasich Apt yang telah memberikan ijin dan kesempatan menjadi mahasiswa di Program Pascasarjana Universitas Airlangga
2. Rektor Universitas Muhammadiyah Surabaya Prof Dr Zainnudin Maliki MSi yang telah memberikan ijin untuk menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga
3. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof Dr Muhammad Amin dr SpP (K) yang telah memberikan kesempatan menjadi mahasiswa di Program Pascasarjana Universitas Airlangga

4. Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya H Sukadiono dr MM yang telah memberikan ijin untuk menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga
5. Kepala Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Harlina Soetjipto dr MS dan mantan Kepala Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof Dr Harjanto JM dr AIF yang telah memberikan ijin, bimbingan dan memfasilitasi kami selama menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga
6. Prof Retno Handajani dr MS PhD selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar yang telah mengizinkan kami menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga
7. Prof Dr Paulus Liben dr MS, Harlina Soetjipto dr MS, Mohammad Cholil Munif, dr AIF selaku tim penguji yang telah banyak memberikan masukan, saran dan bimbingan selama penelitian dan penyusunan tesis
8. Semua dosen pengajar Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Minat Ilmu Faal yang banyak membantu selama menempuh pendidikan
9. Dra Nurhayati Apt MS selaku Ketua Departemen Farmasi Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberikan fasilitas untuk pembuatan rebusan daun tembakau kering
10. Semua staf dan karyawan Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama saya menempuh pendidikan
11. Bapak H Lamsih (almarhum) dan Ibu Aminatun atas limpahan kasih sayang disertai ucapan terima kasih yang tiada hingga atas segala doa, jerih payah, dukungan dan pengorbanan tiada pernah terbalaskan selama kami menempuh pendidikan hingga selesai
12. Bapak dan ibu mertua yang telah memberikan dukungan selama menempuh pendidikan hingga selesai



13. Istri Hj. Giyarti, S.Kep dan putriku tersayang Mafaza Qurrota Afidah NR, atas uluran cinta dan kasih sayang juga limpahan semangat yang tiada henti selama menempuh pendidikan sehingga penulis dapat menyelesaikan Pendidikan Program Pascasarjana Universitas Airlangga
14. Teman dan sahabat seangkatan Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Minat Studi Ilmu Faal Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran Airlangga Angkatan tahun 2007/2008; Kurniadi S.Kep Ns, Cicilia Wahyu Djayanti S.Kep Ns, Rachmaniyah S.KM atas bantuan, dorongan, dan kerja sama yang baik yang terjalin selama ini
15. Semua pihak yang telah membantu kami yang tiada dapat kami sebut satu persatu

Akhirnya gelar pascasarjana ini kami persembahkan untuk agamaku, negaraku, bapak-ibu, istri dan putriku. Dengan segenap kerendahan hati penulis mohon maaf atas segala kekurangan yang ada.

Semoga Alloh SWT senantiasa melimpahkan rahmat, hidayah-Nya dan melapangkan jalan kita sekalian. Amin.

**Wassalamu'alaikum Warohmatullohi Wabarokatuh.**

**Surabaya, Juli 2009**

## RINGKASAN

### **EFEK PEMBERIAN REBUSAN DAUN TEMBAKAU KERING TERHADAP KADAR PLATELET DARAH DAN WAKTU PROTROMBIN PADA TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS*) GALUR WISTAR**

Nikotin yang terdapat dalam daun tembakau kering dapat mempengaruhi fungsi platelet dan thrombosis, yang ditandai dengan peningkatan faktor koagulan dalam sirkulasi misalnya thrombin, *tissue factor*, dan fibrinogen (Raupach, 2006). Nikotin juga dapat memobilisasi platelet kompartemen melalui aktivitas simpatis sehingga dapat menyebabkan peningkatan kadar platelet darah (trombositosis) (Sacher, 2004). Agregasi platelet membutuhkan jumlah platelet yang cukup, demikian pula dengan pembentukan benang-benang fibrin (Lee, 1999). Waktu yang dibutuhkan untuk membentuk benang fibrin dapat ditentukan dengan waktu protrombin (Lee, 1999). Pengaruh nikotin terhadap agregasi platelet melalui reseptor kolinergik nikotinic pada medulla adrenal, yang kemudian medulla adrenal mensekresi epinefrin. Epinefrin akan berikatan dengan  $\alpha 2$ AR (reseptor adrenergik  $\alpha 2$ ) (Hass, 1996; Basaloglu, 2003; Irene, 2005; Vanderkaay, 2006). Epinefrin juga dapat memobilisasi sebagian besar platelet yang ada di limpa (*Spleen*) ke dalam sirkulasi darah (Sacker, 2004).

Rancangan penelitian adalah *The Separate Sample Pretest-Posttest Control Group Design*. Hewan coba yang digunakan adalah *Rattus Norvegicus Galur Wistar*, jenis kelamin jantan dengan usia 3 – 3,5 bulan dan berat badan 150 – 250 gram; dibagi acak kedalam tiga kelompok yang terdiri dari 7 ekor. Perlakuan yang diberikan adalah pemberian rebusan daun tembakau kering dosis 0,6 ml/200 gram BB tikus dan plasebo (NaCl 0.9%) dosis 0,6 ml/200 gram BB tikus; perlakuan diberikan selama 5 hari. Pengambilan data *pretest* dilakukan pada kelompok kontrol, sedangkan pengambilan data *posttest* dilakukan pada hari ke 5 setelah 3 jam perlakuan sesuai dengan waktu paruh nikotin (Brcic Karakonji, 2005).

Analisis deskriptif pada variabel tergantung kadar platelet darah kelompok kontrol adalah  $(476714,3 \pm 112608,0434)$  / $\mu$ l; kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering =  $(923285,7 \pm 111369,8258)$  / $\mu$ l; kelompok plasebo (NaCl 0.9%) =  $(1002429 \pm 137383,7171)$  / $\mu$ l. Pada variabel tergantung waktu protrombin kelompok kontrol adalah  $(15,6429 \pm 1,1559)$  detik; kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering =  $(16,3857 \pm 0,5699)$  detik; kelompok plasebo (NaCl 0.9%) =  $(15,5143 \pm 1,2694)$  detik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada peningkatan kadar platelet darah antar kelompok ( $p : 0,000$ ) dan tidak ada peningkatan waktu protrombin antar kelompok ( $p : 0,268$ ). Hasil analisis *uji pairwise comparisons* : untuk variabel tergantung kadar platelet darah ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering ( $p : 0,000$ ); antara kelompok kontrol dengan kelompok plasebo (NaCl 0.9%); tidak ada perbedaan antara kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering dengan plasebo (NaCl 0.9%) ( $p : 0,237$ ). Variabel waktu protrombin tidak ada perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering ( $p : 0,200$ ); antara kelompok kontrol dengan kelompok plasebo (NaCl 0.9%) ( $p : 0,820$ ); antara kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering dengan plasebo (NaCl 0.9%) ( $p : 0,136$ ).

**SUMMARY****EFFECT OF DRY TOBACCO LEAF BOILED  
ON BLOOD PLATELET COUNT AND PROTHROMBIN TIME  
IN WISTAR STRAIN WHITE RATS  
(RATTUS NORVEGICUS) GALUR WISTAR**

Nicotine that presents in dry tobacco leaf may affect platelet function and thrombosis, which is marked by the increase of coagulant factor within circulation, such as thrombine, tissue factor, and fibrinogen (Raupach, 2006). Nicotine is also able to mobilize compartment platelet through symphatetic activity that results in the increase of blood platelet count (thrombocytosis) (Sacher, 2004). Platelet aggregation requires sufficient number of platelet, and so does to formation of fibrin threads (Lee, 1999). Time required for the formation of fibrin thread can be determined with prothrombin time (Lee, 1999). The effect of nicotine on platelet aggregation acts through nicotinic cholinergic receptor in adrenal medulla, which subsequently secretes the epinephrine. Epinephrine will bind with  $\alpha 2AR$  ( $\alpha 2$  adrenergic receptor) (Hass, 1996; Basaloglu, 2003; Irene, 2005; Vanderkaay, 2006). Epinephrin is also able to mobilize most of the platelets present in the spleen into blood circulation (Sacher, 2004).

This study used separate sample pretest-posttest control group design, involving male Wistar strain *Rattus norvegicus* aged of 3 - 3.5 months with body weight of 150-250 grams. These animals were randomly divided into three groups, each comprising 7 rats. Treatment provided was the boiled of dry tobacco leaf in a dose of 0.6 ml/200 grams rats BW and placebo (0.9% NaCl) in a dose of 0.6 ml/200 grams rats BW. The treatment was given for five days. Pretest data were taken in control group, while posttest data were taken on day 5 after 3 hour treatment according to the half-life of the nicotine (Brcic Karakonji, 2005).

Descriptive analysis to the dependent variable of blood platelet count in pre-treatment control group was  $(476714.3 \pm 112608.0434)$   $\mu\text{l}$ ; in group receiving dry tobacco leaf boiled was  $(923285.7 \pm 111369.8258)$   $\mu\text{l}$ ; and in placebo group (0.9% NaCl) was  $(1002429 \pm 137383.7171)$   $\mu\text{l}$ . In dependent variable of prothrombin time, control group was  $(15.6429 \pm 1.1559)$  second; in group receiving dry tobacco leaf boiled was  $(16.3857 \pm 0.5699)$  second; and in placebo group (0.9% NaCl) was  $(15.5143 \pm 1.2694)$  second.

Results showed there was an increase of blood platelet between groups ( $p : 0.000$ ) and no increase of prothrombin time between groups ( $p : 0.268$ ). The result of pairwise comparison test was as follows: in dependent variable blood platelet count there was significant difference between control group and group receiving dry tobacco leaf boiled ( $p : 0.000$ ) between control group and placebo group (0.9% NaCl); and there was no difference between group receiving dry tobacco leaf boiled and placebo (0.9% NaCl) ( $p : 0.237$ ). In the variable of prothrombin time, there was no difference between control group and group receiving dry tobacco leaf boiled ( $p : 0.200$ ), between control group and placebo group (0.9% NaCl) ( $p : 0.820$ ), and between group receiving dry tobacco leaf boiled and placebo (0.9% NaCl) ( $p : 0.136$ ).

**ABSTRACT****EFFECT OF DRY TOBACCO LEAF BOILED  
ON BLOOD PLATELET COUNT AND PROTHROMBIN TIME  
IN WISTAR STRAIN WHITE RATS  
(RATTUS NORVEGICUS) GALUR WISTAR**

Nicotine that presents in dry tobacco leaf is also able to mobilize compartment platelet through symphatetic activity that results in the increase of blood platelet count (thrombocytosis). The objective of this study was to prove the effect of nicotine in dry tobacco leaf on blood platelet count and prothrombin time. This study used separate sample pretest-posttest control group design, involving male Wistar strain *Rattus norvegicus* aged of 3 - 3.5 months. The independent variable was dry tobacco leaf boiled (0.6 ml/200 mg rats BW) and the dependent variables were blood platelet count (/ $\mu$ l) and prothrombin time (second). Pretest data were taken from control group and posttest data were dry tobacco leaf boiled for 5 days. The results showed that in dependent variable of blood platelet count, there was significant difference between control group and group receiving dry tobacco boiled (p : 0.000). In the variable of prothrombin time, there was no difference between control group and group receiving dry tobacco leaf boiled (p : 0.200). The result indicated that the provision of dry tobacco leaf boiled was able to increase blood platelet count and did not increase prothrombin time.

**Keywords:** dry tobacco leaf boiled, blood platelet count, and prothrombin time.



## DAFTAR ISI

Halaman

Sampul Depan .....	
Sampul Dalam .....	i
Prasarat Gelar .....	ii
Lembar persetujuan .....	iii
Lembar penetapan panitia penguji .....	iv
Ucapan terima kasih .....	v
Ringkasan .....	viii
<i>Summary</i> .....	x
<i>Abstract</i> .....	xii
DAFTAR ISI .....	xiii
DAFTAR TABEL .....	xvii
DAFTAR GAMBAR .....	xviii
DAFTAR SINGKATAN .....	xxi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xxii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan umum .....	4
1.3.2 Tujuan khusus .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Rokok .....	6
2.1.1 Jenis rokok .....	6
2.1.2 Komponen asap rokok .....	8

2.2 Daun tembakau .....	9
2.2.1 Klasifikasi tanaman .....	9
2.2.2 Etimologi .....	9
2.2.3 Deskripsi tanaman .....	10
2.3 Nikotin .....	10
2.3.1 Data kimia dan fisik nikotin .....	11
2.3.2 Absorpsi nikotin .....	12
2.3.3 Metabolisme nikotin .....	12
2.3.4 Distribusi nikotin pada jaringan tubuh .....	15
2.3.5 Eksresi nikotin .....	15
2.3.6 Aktivitas fisiologi nikotin .....	16
2.3.7 Dosis nikotin .....	17
2.4 Epinefrin .....	18
2.4.1 Sintesis epinefrin .....	18
2.4.2 Metabolisme epinefrin .....	19
2.4.3 Reseptor adrenergik .....	20
2.4.4 Aktivitas fisiologi epinefrin .....	25
2.5 Platelet .....	26
2.5.1 Struktur dan fungsi platelet .....	28
2.5.2 Reseptor platelet .....	31
2.5.3 Reseptor adrenergik pada platelet .....	33
2.5.4 Aktivasi dan agregasi platelet .....	34
2.5.5 Faktor koagulasi darah .....	39
2.5.6 Koagulasi (penjendelan) darah .....	41
2.5.7 Peran epinefrin pada agregasi platelet .....	45
2.6 Waktu protrombin .....	47
2.7 Tikus Putih ( <i>Rattus Norvegicus</i> ) .....	49



**BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

3.1 Kerangka konseptual .....	50
3.2 Penjelasan kerangka konseptual .....	51
3.3 Hipotesis penelitian .....	51

**BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN**

4.1 Rancangan penelitian .....	53
4.2 Bagan rancangan penelitian .....	53
4.3 Populasi, sampel, besar sampel dan teknik pengambilan sampel .....	55
4.3.1 Populasi .....	55
4.3.2 Sampel .....	55
4.3.3 Besar sampel .....	55
4.3.4 Teknik sampling .....	57
4.4 Variabel penelitian .....	57
4.4.1 Variabel bebas .....	57
4.4.2 Variabel tergantung .....	57
4.4.3 Variabel kendali .....	57
4.4.4 Variabel moderator .....	57
4.5 Definisi operasional .....	58
4.6 Bahan penelitian dan alat penelitian .....	60
4.6.1 Bahan penelitian .....	60
4.6.2 Instrumen penelitian .....	60
4.7 Tempat dan waktu penelitian .....	61
4.7.1 Tempat penelitian .....	61
4.7.2 Waktu penelitian .....	61
4.8 Prosedur pengambilan atau pengumpulan data .....	61
4.8.1 Aklimatisasi .....	61
4.8.2 Penimbangan berat badan .....	61
4.8.3 Pemberian infusum daun tembakau kering dan plasebo (Nacl 0.9% ) ...	61

4.8.4 Persyaratan etik .....	62
4.8.5 Pembiusan .....	62
4.8.6 Prosedur pengambilan darah .....	62
4.9 Rancangan analisa data .....	63
4.10 Bagan alur penelitian .....	65
 <b>BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN</b>	
5.1 Data penelitian .....	66
5.2 Analisis dan hasil penelitian .....	68
 <b>BAB 6 PEMBAHASAN</b> .....	72
 <b>BAB 7 PENUTUP</b>	
7.1 Kesimpulan .....	76
7.2 Saran .....	76
 <b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	77
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	83

## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1	: Nama-nama proses metabolisme nikotin .....	14
Tabel 2.2	: Distribusi reseptor adrenergik pada tubuh .....	22
Tabel 2.3	: Faktor-faktor koagulasi darah.....	40
Tabel 5.1	: Rerata dan simpang baku kadar platelet darah menurut kelompok penelitian .....	66
Tabel 5.2	: Rerata dan simpang baku waktu protrombin menurut kelompok penelitian .....	67
Tabel 5.3	: Hasil uji normalitas data kelompok terhadap kadar platelet darah	68
Tabel 5.4	: Hasil uji normalitas data kelompok terhadap waktu protrombin	68
Tabel 5.5	: Hasil uji univariat variabel kadar platelet darah dan waktu protrombin antar kelompok .....	69
Tabel 5.6	: Hasil uji beda variabel kadar platelet darah antar kelompok .....	69
Tabel 5.7	: Hasil uji beda variabel waktu protrombin antar kelompok .....	70

**DAFTAR GAMBAR**

Halaman

Gambar 2.1 Daun tembakau kering .....	10
Gambar 2.2 Struktur nikotin .....	11
Gambar 2.3 Jalur utama metabolisme nikotin .....	13
Gambar 2.4 Eksresi nikotin melalui urin .....	16
Gambar 2.5 Epinefrin .....	18
Gambar 2.6 Metabolisme epinefrin .....	20
Gambar 2.7 Mekanisme aktivasi G protein secara umum .....	24
Gambar 2.8 Struktur platelet .....	31
Gambar 2.9 Aktivitas adreseptor $\alpha_2$ melalui G protein jenis $G_i$ .....	34
Gambar 2.10 Skema peran G protein pada aktivasi platelet .....	36
Gambar 2.11 Tahapan pembentukan prostaglandin dan tromboksan pada platelet ..	37
Gambar 2.12 Jalur intrinsik dan ekstrinsik pada hemostasis .....	45
Gambar 2.13 Hubungan antara jumlah protrombin dan waktu protrombin .....	48
Gambar 2.14 Diagram rerata kadar platelet darah pada tiap kelompok .....	71
Gambar 2.15 Diagram rerata waktu protrombin pada tiap kelompok .....	71

## DAFTAR SINGKATAN

- WHO : World Health Organization  
CO : Carbon Monoksida  
SKT : Sigaret Kretek Tangan  
RF : Rokok Filter  
RNF : Rokok Non Filter  
ETS : Enviromental Tobacco Smoke  
D : Dopamin  
NE : Norepinefrin  
VMA : Vanillyl Mandelic Acid  
ADP : Adenosine Diphosphate  
ATP : Adenosine Triphosphate  
cAMP : cyclic Adenosine Mono Phosphate  
CNS : Central Nervous System  
PLC : Phospho Lipase C  
iP3 : inositol-1,4,5 triphosphate  
PIP2 : Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate  
DAG : Diasylglycerol  
PKC : Protein Kinase C  
vWf : von Willebrand factor  
TXA2 : Tromboxan A2  
 $\alpha$ 2AR :  $\alpha$ 2 Adrenergic Receptor  
DGF : Platelets Derived Growth Factor  
TGF- $\beta$  : Tumor Growth Factor- $\beta$   
ECGF : Endotelial Cell Growth Factor  
EGF : Epidermal Growth Factor

## DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 : Konversi perhitungan dosis pada beberapa jenis hewan dan manusia	83
Lampiran 2 : Volume maksimal yang dapat diberikan pada beberapa hewan coba	84
Lampiran 3 : Perhitungan dosis nikotin dalam infusum daun tembakau kering .....	85
Lampiran 4 : Pemeriksaan jumlah platelet dengan cara Rees dan Ecker .....	87
Lampiran 5 : Pemeriksaan waktu protrombin dengan cara Quick .....	88
Lampiran 6 : Data hasil pengukuran kadar platelet darah dan waktu protrombin ....	89
Lampiran 7 : Hasil analisis deskriptif .....	90
Lampiran 8 : Hasil uji normalitas .....	91
Lampiran 9 : Hasil uji multivariat .....	93
Lampiran 10 : Hasil uji univariat .....	94
Lampiran 11 : Hasil Pairwise Comparisons .....	95
Lampiran 12 : Diagram respon perubahan akibat perlakuan masing-masing variabel setiap kelompok .....	96
Lampiran 13 : <i>Ethical clearance</i> .....	98

## BAB 1 PENDAHULUAN

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

### 1.1 Latar Belakang

Meski semua orang tahu akan bahaya yang ditimbulkan akibat merokok, akan tetapi perilaku merokok tidak pernah surut dan tampaknya merupakan perilaku yang masih dianggap biasa bagi sebagian masyarakat. Di dalam kehidupan sehari-hari di lingkungan rumah, kantor, angkutan umum maupun di jalan-jalan, hampir setiap saat dapat di jumpai orang yang sedang merokok. Hal yang memprihatinkan adalah usia perokok setiap tahun semakin muda. Bila dulu orang berani merokok biasanya mulai usia SMP maka sekarang dapat dijumpai anak-anak SD kelas 5 sudah mulai banyak yang merokok, meskipun secara sembunyi-sembunyi (Bahar, 2002).

Kerugian yang ditimbulkan akibat merokok sangat banyak bagi kesehatan, tapi sayangnya masih banyak orang yang tetap memilih untuk menikmatinya (Bahar, 2002). Menurut Badan Kesehatan Dunia (WHO) diperkirakan jumlah kematian akibat merokok kronis terus meningkat dari 5 juta orang tahun 2000 menjadi 10 juta pada tahun 2020 (Saccone, 2007). Angka mortalitas dan morbiditas pada penyakit kardiovaskuler yang diakibatkan karena merokok aktif diperkirakan meningkat 4 kali lipat. Seseorang yang mengisap rokok secara pasif mempunyai risiko 35% terkena serangan jantung (Ben-Ami S, 2002).

Paparan asap rokok merupakan salah satu faktor risiko terkena penyakit kardiovaskuler, misalnya hipertensi dan penyakit jantung koroner (Rubenstein, 2004; Radoslaw, 2004; Tobias, 2005; Shinozaki, 2007; Stokes, 2007). Pengaruh

paparan asap rokok terhadap penyakit kardiovaskuler disebabkan karena peningkatan aktivitas simpatis, aterosklerosis, disfungsi endotel, inflamasi, hiperkoagulasi, dan aktivitas platelet (Shinozaki, 2007). Asap rokok dapat menyebabkan lepasnya *thromboxan A2*, sehingga platelet dapat mengalami agregasi (Ben-Ami S., 2002). Paparan asap rokok baik aktif maupun pasif dapat mempengaruhi platelet. Seseorang yang sudah lama terpapar asap rokok mempunyai potensi terjadi peningkatan agregasi platelet, dan ekskresi metabolit *thromboxan* (Butkiewicz, 2006). Paparan asap rokok baik aktif maupun pasif dapat merusak fungsi endotel pembuluh darah (Kato, 2005). Pengaruh paparan asap rokok terhadap platelet sampai saat ini masih belum banyak diketahui, selain itu juga masih jarang adanya laporan penelitian tentang pengaruh paparan asap rokok terhadap trombositopoiesis (Ben-Ami S, 2002; Butkiewicz, 2006).

Bahan kimia utama yang terkandung di dalam daun tembakau antara lain; nikotin, CO (Karbon Monoksida), dan tar (Aronow, 1980; Cormier, 2004). Nikotin ini dapat mengaktifkan sistem *sympatoadrenal* dengan cara meningkatkan kadar katekolamin yang terdiri dari tiga komponen yaitu epinefrin, nor epinefrin, dan dopamin, sehingga dapat mempercepat detak jantung dan menyebabkan penyempitan pembuluh darah perifer (Ben-Ami S, 2002). Pengaruh nikotin terhadap *sympatoexitory* pada perokok sampai saat ini belum banyak diketahui (Jean-Francois, 2008). Menurut Moccia (2004) nikotin merupakan salah satu komponen utama pada rokok. Nikotin ini dapat menyebabkan perubahan morfologi dan fungsi endotel pembuluh darah, yang ditandai dengan kerusakan pada endotel pembuluh darah, proliferasi sel endotel, meningkatkan permeabilitas



pembuluh darah, agregasi platelet, merangsang sintesa DNA, serta *nitric oxida* (Moccia, 2004; Rubenstein, 2004; Lopez-Johnston, 2007). Nikotin yang terdapat dalam daun tembakau kering juga dapat mempengaruhi fungsi platelet dan trombosis, yang ditandai dengan peningkatan faktor koagulan dalam sirkulasi misalnya trombin, *tissue factor*, dan fibrinogen (Raupach, 2006). Nikotin juga dapat memobilisasi platelet kompartemental melalui aktivitas simpatis sehingga dapat menyebabkan peningkatan kadar platelet darah (trombositosis) (Sacher, 2004)

Platelet mempunyai peranan penting terhadap pembentukan sumbat hemostasis, retraksi *clot*, penyembuhan luka, dan mencegah perdarahan (Lopez-Johnston, 2007). Platelet yang aktif akan membentuk platelet trombi, sehingga dapat menyebabkan adhesi pada sel endotelial pembuluh darah dan agregasi platelet, melalui platelet faktor III (Hioki, 2001). Sel Endotelial pembuluh darah mempunyai peranan yang penting terhadap modulasi tonus pembuluh darah, menghambat agregasi platelet, dan proliferasi otot polos pembuluh darah (Zhang, 2006; Rhian, 2007). Agar agregasi platelet dapat berlangsung dengan baik membutuhkan jumlah platelet yang cukup, demikian pula dengan pembentukan benang-benang fibrin (dapat diukur dengan waktu protrombin) selain membutuhkan jumlah platelet yang cukup juga membutuhkan faktor lain seperti faktor V, VII, X protrombin dan fibrinogen (Lee, 1999). Protrombin merupakan faktor koagulasi yang disintesis oleh hepatosit. Epinefrin diduga dapat merangsang pembentukan protrombin di hati sehingga terjadi peningkatan jumlah protrombin sirkulasi. Fibrinogen merupakan protein plasma yang berperan dalam

hemostasis. Protrombin dan fibrinogen merupakan faktor yang ikut menentukan normalitas waktu protrombin (Guyton, 2000; Katzung, 2001).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu adanya penelitian tentang efek pemberian rebusan daun tembakau kering terhadap agregasi platelet, khususnya kadar platelet darah dan waktu protrombin. Pada penelitian ini peneliti menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*), jenis kelamin jantan, umur sekitar 3-3,5 bulan dengan berat badan 150-250 gram, yang akan diberi perlakuan pemberian rebusan daun tembakau kering dosis 0,6 ml/200 mg BB tikus.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah penelitian adalah:

- 1) Apakah rebusan daun tembakau kering meningkatkan kadar platelet darah?
- 2) Apakah rebusan daun tembakau kering meningkatkan waktu protrombin?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan umum**

Membuktikan efek nikotin yang terdapat dalam rebusan daun tembakau kering terhadap agregasi platelet.

### 1.3.2 Tujuan khusus

Tujuan khusus penelitian meliputi:

- 1) Membuktikan bahwa rebusan daun tembakau kering meningkatkan kadar platelet darah.
- 2) Membuktikan bahwa rebusan daun tembakau kering meningkatkan waktu protrombin.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian adalah untuk:

- 1) Memberikan informasi bahwa nikotin yang terdapat dalam daun tembakau kering dapat meningkatkan kadar platelet darah dan meningkatkan waktu protrombin, sebagai akibat terjadinya mobilisasi platelet dari limpa (*Spleen*).
- 2) Manfaat klinis penelitian ini adalah memberi masukan bahwa salah satu komponen yang ada di dalam daun tembakau kering adalah nikotin, yang dapat mengganggu kesehatan, maka hendaknya pada pasien perokok berhati-hati karena dapat mengalami stroke, hipertensi, dan penyakit jantung koroner (PJK).

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Rokok**

##### **2.1.1 Jenis rokok**

Menurut Aditama (1992) Rokok dibedakan menjadi beberapa jenis. Pembedaan ini didasarkan atas bahan pembungkus rokok, bahan baku atau isi, proses pembuatan rokok, dan penggunaan filter pada rokok Adapun pembedaan jenis rokok adalah sebagai berikut :

1) Berdasarkan bahan pembungkus :

- (1) rokok klobot adalah rokok yang bahan pembungkusnya berupa daun jagung.
- (2) rokok kawung adalah rokok yang bahan pembungkusnya berupa daun aren
- (3) rokok sigaret adalah rokok yang bahan pembungkusnya berupa kertas.
- (4) rokok cerutu adalah rokok yang bahan pembungkusnya berupa daun tembakau.

2) Berdasarkan bahan baku atau isi :

- (1) rokok putih adalah rokok yang bahan baku atau isinya hanya daun tembakau yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu.
- (2) rokok kretek adalah rokok yang bahan baku atau isinya berupa daun tembakau dan cengkeh yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu.

- (3) rokok klembak adalah rokok yang bahan baku atau isinya berupa daun tembakau, cengkeh, dan menyan yang diberi saus untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu.
- 3) Berdasarkan proses pembuatannya :
- (1) sigaret kretek tangan (SKT) adalah rokok yang proses pembuatannya dengan cara digiling atau dilinting dengan menggunakan tangan dan atau alat bantu sederhana.
  - (2) sigaret kretek mesin adalah rokok yang proses pembuatannya menggunakan mesin sederhana. Material rokok dimasukkan ke dalam mesin pembuat rokok. Keluaran yang dihasilkan mesin pembuat rokok berupa rokok batangan. Saat ini mesin pembuat rokok telah menghasilkan keluaran sekitar enam ribu sampai delapan ribu batang rokok permenit. Mesin pembuat rokok, biasanya dihubungkan dengan mesin pembungkus rokok sehingga keluaran yang dihasilkan bukan lagi berupa rokok batangan namun dalam bentuk pak. Ada pula mesin pembungkus rokok yang mampu menghasilkan keluaran berupa rokok dalam pres, satu pres berisi 10 pak.
- 4) Berdasarkan filternya :
- (1) rokok filter (RF) adalah rokok yang pada bagian pangkalnya terdapat gabus.
  - (2) rokok non filter (RNF) adalah rokok yang pada bagian pangkalnya tidak terdapat gabus.

### 2.1.2 Komponen asap rokok

Asap rokok diduga mengandung sekitar 4000 bahan kimia antara lain; nikotin, CO (Karbon Monoksida), dan tar, benzo(a)pyrene, hidrogen sianida, akrolein, asetilen, bensaldehid, metilkhlorida, orthokresol, resorsion, dan lain-lain (Stedman, 1968; Aronow, 1980; Cormier, 2004). Asap rokok yang diisap perokok (aktif) disebut asap utama (*main stream smoke*) dan yang dihisap oleh orang yang ada disekitar perokok (pasif) disebut asap sampingan (*side stream smoke*) (Stafford & Becker, 1996).

Perokok pasif atau sering disebut juga sebagai *Environmental Tobacco Smoke* (ETS) akan menghisap asap sampingan dari asap rokok yang dihembuskan keluar oleh perokok aktif. Ternyata komponen yang dihisap dari asap sampingan itu juga sama dengan yang dihisap oleh perokok aktif dengan gradasi yang mungkin agak sedikit berbeda. Kerusakan yang ditimbulkan akibat asap utama diperkirakan juga sama dengan akibat asap sampingan (Stafford & Becker, 1996). Akan tetapi penelitian lain menunjukkan bahwa kadar bahan berbahaya ternyata lebih tinggi pada asap sampingan dibandingkan asap utama, yaitu mengandung 3 kali lebih banyak nikotin, 8 kali lebih banyak karbon monoksida, 9 kali lebih banyak benzo(a)pyrene (Jarvis, 1992).

## 2.2 Daun Tembakau

### 2.2.1 Klasifikasi tanaman

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Solanales</i>
Famili	: <i>Solanaceae</i>
Genus	: <i>Nicotiana L.</i>
Spesies	: <i>N. acuminata, N. alata, N. glauca, N. longiflora, N. panicuta, et.all</i> (Wikipedia bahasa Indonesia, ensiklopedia bebas)

### 2.2.2 Etimologi

Bahasa Indonesia tembakau merupakan serapan dari bahasa asing . Bahasa Spanyol “*tabaco*” dianggap sebagai asal kata dalam bahasa Taino di Karibia. Menurut Bartolome de Las Casas ( 1552) kata “*tabaco*” mengacu pada gulungan daun-daun pada tumbuhan ini, atau bisa juga dari kata “*Tobago*”, sejenis pipa berbentuk y untuk menghirup asap tembakau. Kata *Tobacco* bisa berasal dari Eropa, dan pada akhirnya ditetapkan untuk sejenis tumbuhan yang berasal dari Amerika.

### 2.2.3 Deskripsi tanaman

Tembakau (*Nicotiana spp., L.*) adalah genus tanaman yang berdaun lebar yang berasal dari daerah Amerika Utara dan Amerika Selatan. Daun dari tanaman ini sering digunakan sebagai bahan baku rokok, baik menggunakan pipa maupun digulung dalam bentuk rokok atau cerutu. Daun tembakau dapat pula dikunyah atau dikulum, dan ada pula yang menghisap bubuk tembakau melalui hidung (Wikipedia, 2005).



Gambar 2.1 : Daun tembakau kering (Sugiarto, 2006)

### 2.3 Nikotin

Bahan utama rokok adalah daun tembakau (*Nicotiana tobacum*) kering, yang merupakan sumber utama nikotin (Reynolds, 1993). Nikotin adalah senyawa alkaloid cair alami (Brcic Karakonji, 2005). Dari sebatang pohon tembakau dapat ditemui kandungan nikotinnya adalah 5%. Nikotin berkadar 0,3 sampai 5,0% dari berat kering tembakau yang berasal dari hasil biosintesis di akar dan terakumulasi



di daun. Rata-rata daun tembakau Madura mengandung 3,26% (Rahmadi, 2007).  
Sebungkus rokok mengandung 8 – 20 miligram (mg) nikotin (tergantung merek).  
Saat merokok, 1 mg nikotin dapat diserap oleh tubuh (Hukkanen, 2005).

### 2.3.1 Data kimia dan fisik nikotin

Rumus kimia :  $C_{10}H_{14}N_2$ ,

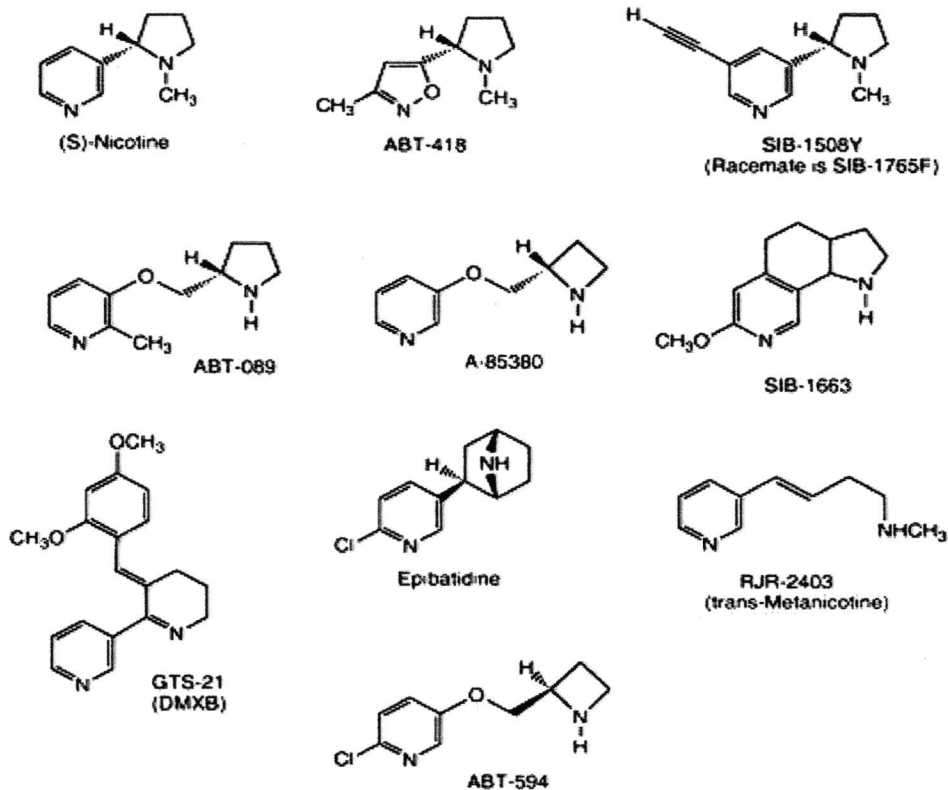
Nama : 3-[2-(N-methylpyrrolidinyl)]pyridine

Fisik :hygroskopik, baunya yang karakteristik,  
berwarna coklat bila terbakar

Densitas : 1.01 g/cm<sup>3</sup>

Kelarutan dalam air : dapat larut dalam air

Tekanan pada 20° C : 0006 kPa



Gambar 2.2 : Struktur nikotin (Hukkanen, 2005)

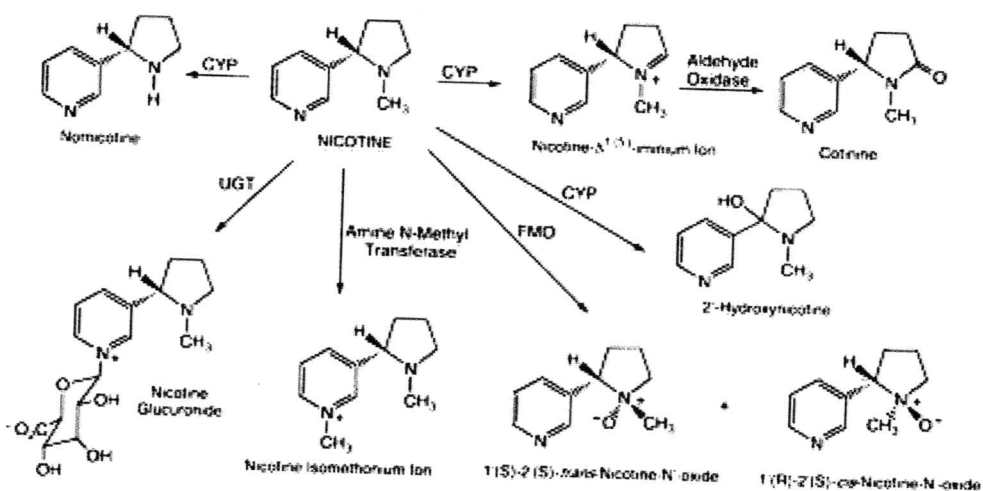
### 2.3.2 Absorpsi nikotin

Nikotin dapat diabsorpsi melalui rongga mulut, kulit, paru-paru, kandung kemih, saluran pencernaan. Absorpsi nikotin oleh selaput membran biologi tergantung pada pH. Pada pH fisiologis, sebanyak 31% nikotin berbentuk bukan ion dan dapat melalui membran sel. Asap rokok pada umumnya bersifat asam (pH 5,5). Pada pH ini nikotin berada dalam bentuk ion dan tidak dapat melewati membran dengan cepat pada mukosa pipi, sehingga hanya sedikit absorpsi nikotin dari asap rokok pada mukosa pipi. Nikotin dari asap rokok dapat diabsorpsi dengan cepat sampai paru, dikarenakan karena luas permukaan yang besar pada alveoli (Hukkanen, 2005). Absorpsi nikotin melalui alveoli, juga tergantung pada konsentrasi nikotin di dalam asap rokok. Absorpsi nikotin pada lambung kurang baik karena adanya getah lambung, tetapi sangat baik diabsorpsi pada usus halus, karena pH lebih bersifat alkali dan luas permukaannya yang besar. Nikotin juga dapat diabsorpsi melalui kulit, yang ditemukan pada kasus-kasus keracunan peptisida yang mengandung nikotin. Selain itu, juga ada bukti bahwa adanya absorpsi dan keracunan nikotin terhadap para pekerja di ladang tembakau (Brcic Karakonji, 2005).

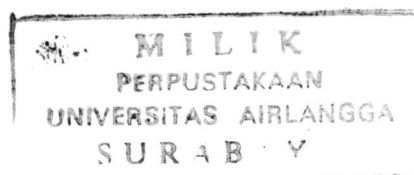
### 2.3.3 Metabolisme nikotin

Waktu paruh nikotin 2 -3 jam (Brcic Karakonji, 2005). Pada manusia, sekitar 70 – 80 % nikotin yang diubah menjadi cotinin (Brcic Karakonji, 2005). Perubahan ini melibatkan 2 langkah. Langkah pertama diperantarai oleh sistem sitokrom untuk menghasilkan ion nikotin- $\Delta^{1(5)}$ -iminium yang sama dengan 5'-

hydroxy Nikotine. Langkah kedua dikatalis oleh cytoplasmic aldehyde oxidase (Hukkanen, 2005). Metabolisme nikotin dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



Gambar 2.3 : Jalur utama metabolisme nikotin (Hukkanen, 2005)



Tabel 2.1 : Nama-nama proses metabolisme nikotin (Hukkanen, 2005)

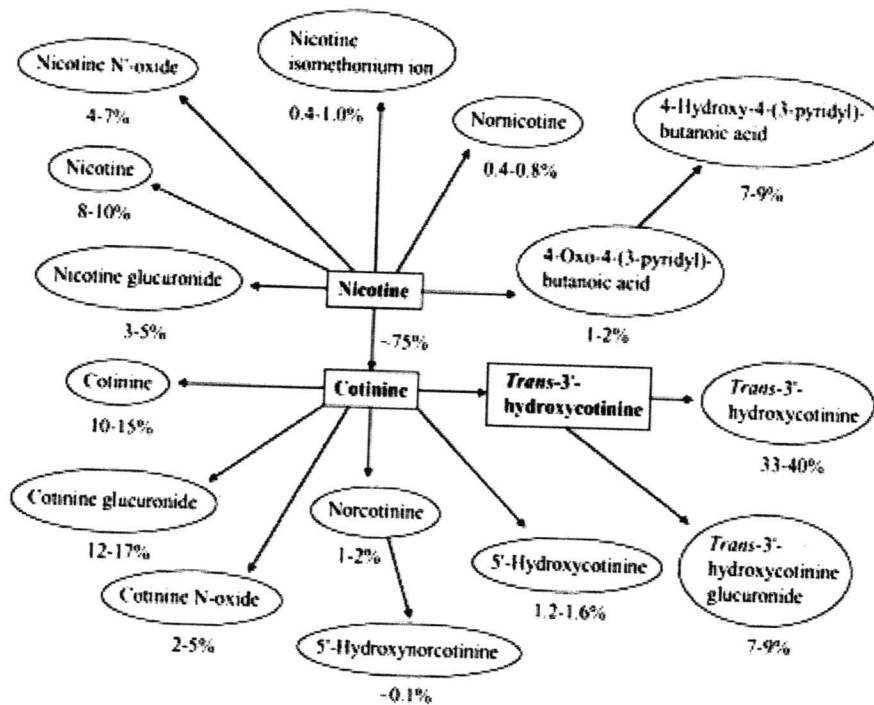
	Alternative Names
Nicotine (54-11-5)*	(S)-Nicotine (-)-Nicotine l-Nicotine 3-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)pyridine CA: Pyridine, 3-[(2S)-1-methyl-2-pyrrolidinyl]-
Cotinine (486-56-6)	(S)-Cotinine (-)-Cotinine 1-Methyl-5-(3-pyridinyl)-2-pyrrolidinone CA: 2-Pyrrolidinone, 1-methyl-5-(3-pyridinyl)-, (5S)-
Trans-3'-hydroxycotinine (34834-67-8)	Hydroxycotinine 3'-Hydroxycotinine 3-Hydroxy-1-methyl-5-(3-pyridinyl)-2-pyrrolidinone CA: 2-Pyrrolidinone, 3-hydroxy-1-methyl-5-(3-pyridinyl)-, (3R,5S)-
Nicotine N'-oxide (491-26-9; trans: 51095-86-4)	Nicotine 1'-N-oxide Nicotine 1'-N-oxide 1'-(S)-2'-(S)-Trans-nicotine-N'-oxide CA: Pyridine, 3-[(2S)-1-methyl-1-oxido-2-pyrrolidinyl]- Trans, CA: Pyridine, 3-[(1S,2S)-1-methyl-1-oxido-2-pyrrolidinyl]- S-Isomer: (-)-Normicotine
Normicotine (S-Isomer: 494-97-3; Racemic: 5746-86-1)	l-Normicotine S-Isomer, CA: Pyridine, 3-(2S)-2-pyrrolidinyl- Racemic: (±)-Normicotine (RS)-Normicotine
Norcotinine (S-Isomer: 5980-06-3; Racemic: 17708-87-1)	Racemic, CA: Pyridine, 3-(2-pyrrolidinyl)- Demethylcotinine S-Isomer: (-)-Demethylcotinine S(-)-Norcotinine S-Isomer, CA: 2-Pyrrolidinone, 5-(3-pyridinyl)-, (5S)- Racemic: (±)-Demethylcotinine (±)-Norcotinine (RS)-Norcotinine Racemic, CA: 2-Pyrrolidinone, 5-(3-pyridinyl)- CA: 2-Pyrrolidinone, 1-methyl-5-(1-oxido-3-pyridinyl)-, (5S)-
Cotinine N-oxide (36508-80-2)	Allohydroxycotinine Racemic, CA: 2-Pyrrolidinone, 5-hydroxy-1-methyl-5-(3-pyridinyl)- 5'(R), CA: 2-Pyrrolidinone, 5-hydroxy-1-methyl-5-(3-pyridinyl)-, (5R)-
5'-Hydroxycotinine (Racemic: 75919-05-0; 5'(R): 61192-50-5)	γ-(3-Pyridyl)-γ-oxo-N-methylbutyramide CA: 3-Pyridinebutanamide, N-methyl-γ-oxo- Allohydroxynorcotinine CA: 2-Pyrrolidinone, 5-hydroxy-5-(3-pyridinyl)- 4-(3-Pyridyl)-4-oxobutyramide CA: 3-Pyridinebutanamide, γ-oxo- γ-(3-Pyridyl)-γ-oxobutyric acid 4-(3-Pyridyl)-4-oxobutyric acid CA: 3-Pyridinebutanoic acid, γ-oxo- γ-(3-Pyridyl)-γ-hydroxybutyric acid 4-(3-Pyridyl)-4-hydroxybutyric acid CA: 3-Pyridinebutanoic acid, γ-hydroxy- Pseudooxynicotine Cyclized form: 2'-hydroxynicotine Cyclized and dehydrated: N-methylmyosmine CA: 1-Butanone, 4-(methylamino)-1-(3-pyridinyl)- Cyclized and dehydrated forms, CA: Pyridine, 3-(4,5-dihydro-1-methyl-1H- pyrrol-2-yl)- and 2H-Pyrrolium, 3,4-dihydro-1-methyl-5-(3-pyridinyl)- N-methylnicotinium ion CA: Pyridinium, 1-methyl-3-[(2S)-1-methyl-2-pyrrolidinyl]-, iodide N-methylcotinium ion CA: Pyridinium, 1-methyl-3-(1-methyl-5-oxo-2-pyrrolidinyl)-, iodide, (S)-
4-Oxo-4-(3-pyridyl)-N-methylbutanamide (713-05-3)	
5'-Hydroxynorcotinine (118995-82-7)	
4-Oxo-4-(3-pyridyl)-butanamide (61192-49-2)	
4-Oxo-4-(3-pyridyl)butanoic acid (4192-31-8)	
4-Hydroxy-4-(3-pyridyl)butanoic acid (15569-97-8)	
4-(Methylamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, and cyclized form (2055-23-4)	
Cyclized and dehydrated forms (525-74-6, 75043-32-2)	
Nicotine isomethonium ion (21446-46-8)	
Cotinine methonium ion (33952-07-7)	

### **2.3.4 Distribusi nikotin pada jaringan tubuh**

Setelah diabsorpsi, nikotin masuk ke dalam aliran darah dengan pH 7.4, 69% berbentuk ion dan 31% bukan ion. Nikotin berikatan dengan protein plasma kurang lebih 5%. Hasil otopsi pada perokok didapatkan bahwa afinitas tinggi nikotin ditemukan pada hati, ginjal, limpa, paru, dan otak. Sedangkan afinitas nikotin yang rendah ditemukan pada jaringan adipose. Konsentrasi kotinin paling tinggi ditemukan pada hati. Pada otot rangka konsentrasi nikotin dan kotinin tertutup oleh darah (Hukkanen, 2005). Ibu hamil yang terpapar asap rokok mempunyai konsentrasi nikotin tinggi pada janinnya, karena nikotin dapat melintasi plasenta (Brcic Karaconji, 2005).

### **2.3.5 Eksresi nikotin**

Nikotin dapat dieksresi melalui urin, feces, empedu, saliva, getah lambung, keringat, dan air susu (Hukkanen, 2005; Brcic Karaconji, 2005). Nikotin dan cotinin juga dapat dideteksi pada urin bayi menghisap air susu ibu yang terpapar asap rokok. Hasil penelitian lain dilaporkan bahwa intake nikotin setiap hari yang tinggi akan meningkatkan eksresinya. Eksresi nikotin ini, juga dipengaruhi oleh pH urin. Ketika pH urin alkali, maka nikotin tidak diubah dan diabsorpsi kembali, pada akhirnya hanya sedikit nikotin yang dieksresikan (Hukkanen, 2005; Brcic Karaconji, 2005). Eksresi nikotin melalui urin dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 : Eksresi nikotin melalui urin (Hukkanen, 2005)

### 2.3.6 Aktivitas fisiologi nikotin

Pada ganglion simpatis, asetilkolin jumlah kecil akan merangsang neuron posganglion dan asetilkolin jumlah besar akan menghambat transmisi impuls dari neuron preganglion ke neuron postganglion. Kerja asetilkolin di ganglion simpatis ini tidak dipengaruhi oleh atropin tetapi menyerupai efek nikotin. Dengan demikian, efek asetilkolin yang seperti ini disebut sebagai efek nikotik, dan reseptornya adalah reseptor kolinergik nikotik. Reseptor nikotik terbagi menjadi reseptor-reseptor nikotik yang terdapat di otot pada taut otot-saraf dan yang terdapat di ganglion otonom dan di sistem saraf pusat (Ganong, 2001; Katzung, 2001). Reseptor nikotik merupakan bagian dari polipeptida transmembran yang subunitnya membentuk kanal ion kation. Reseptor ini terletak

di membran plasma sel-sel parasimpatis dan simpatis pascaganglionik di ganglion otonom (Katzung, 2001).

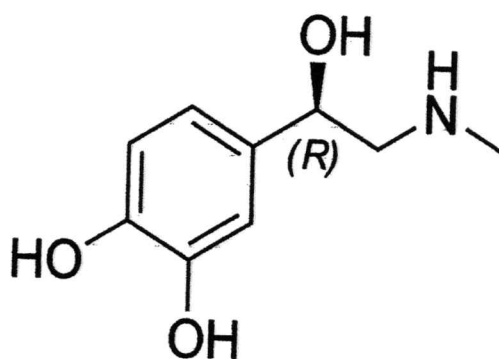
Salah satu komponen yang ada pada rokok adalah nikotin. Nikotin akan berikatan dengan reseptor kolinergik nikotinic pada medulla adrenal, yang kemudian medulla adrenal mensekresi epinefrin (Hass, 1996; Basaloglu, 2003; Irene 2005; VanderKaay, 2006). Epinefrin juga dapat merangsang limpa (*spleen*) untuk memobilisasi sebagian besar platelet ke dalam sirkulasi (Sacher, 2004)

### 2.3.7 Dosis nikotin

Dosis nikotin dalam penelitian ini adalah 2 mg/kg/hari pada tikus, yang diberikan secara subkutan (Basaloglu, 2003). Hasil percobaan pada beberapa hewan, dosis letal tergantung pada cara pemberian dan jenis hewan. Pada *mice* dosis letal pemberian secara iv sebesar 7.1 mg/kg BB, dan intraperitoneal sebesar 5.9 mg/kg. Pada tikus dosis letal pemberian secara iv sebesar 1 mg/kg BB, intraperitoneal sebesar 14.6 mg/kg, dan oral sebesar 50 – 60 mg/kg. Pada manusia dosis letal pemberian secara oral kurang lebih 5 mg/kg pada berat badan 70 kg, sehingga dapat diasumsikan bahwa ingesti nikotin sebesar 40 – 60 mg dapat menyebabkan kematian. Keracunan nicotin dapat menyebabkan mual, muntah, nyeri perut, diare, *headaches*, dan pucat. Keracunan nikotin yang berat menyebabkan sakit kepala yang hebat, kelemahan, konfusi, konvulsi, hipotensi dan koma. Kematian akibat keracunan nikotin terjadi karena paralisis otot pernafasan dan kegagalan pusat pernafasan (Brcic Karakonji, 2005).

## 2.4 Epinefrin

Medula adrenal merupakan sumber epinefrin. Selain epinefrin, medulla adrenal juga juga dopamin . Kucing dan beberapa spesies terutama norepinefrin, namun pada anjing dan manusia sebagian besar katekolamin yang disekresi oleh medulla adrenal epinefrin (Ganong, 2001; Vander, 2001).



Gambar 2.5 : Epinefrin (Wikimedia, 2008)

Pada orang dewasa medula adrenal memiliki berat  $\pm 1$  g dan terdiri dari sel-sel kromafin (karena memiliki afinitas terhadap *chromium stains*). Pada sel-sel kromafin terdapat granula-granula dengan penampang 100-300 nm. Granula-granula ini berisi katekolamin, yaitu epinefrin dan norepinefrin (20 % dari berat), ATP dan nukleotida lain (15 %), protein (35 %), dan lipid (20 %). Selain di dalam granula juga terkandung enkephalin,  $\beta$  endorfin, peptida proopio melano cortin yang lain dan kromaganin (Berne, 1992; Lee, 1999).

### 2.4.1 Sintesis epinefrin

Hormon katekolamin disintesa oleh sel-sel kromafin. Dopamin hidroksilase yang terdapat pada granula akan mengkatalisis pembentukan NE dari dopamin dengan bantuan molekul oksigen dan hidrogen donor. Saat istirahat NE berdifusi



kembali ke sitoplasma. N-metilasi dilakukan oleh phenylethanolamin-N-methyl transferase dengan menggunakan 5-adenosylmethione sebagai metil donor. E yang terbentuk selanjutnya masuk kembali ke dalam granula chromafin, tempat penyimpanan E sebagai hormon medula adrenal yang dominan. *Uptake* dopamin, NE dan E oleh granula sekretorik merupakan transport aktif yang membutuhkan ATP dan Mg. Hormon katekolamin yang disimpan dalam granula pada konsentrasi tinggi juga memerlukan ATP, yang mana untuk menyimpan 4 mol katekolamin dan chromaganin A membutuhkan 1 mol ATP (Berne, 1992; Katzung, 2001).

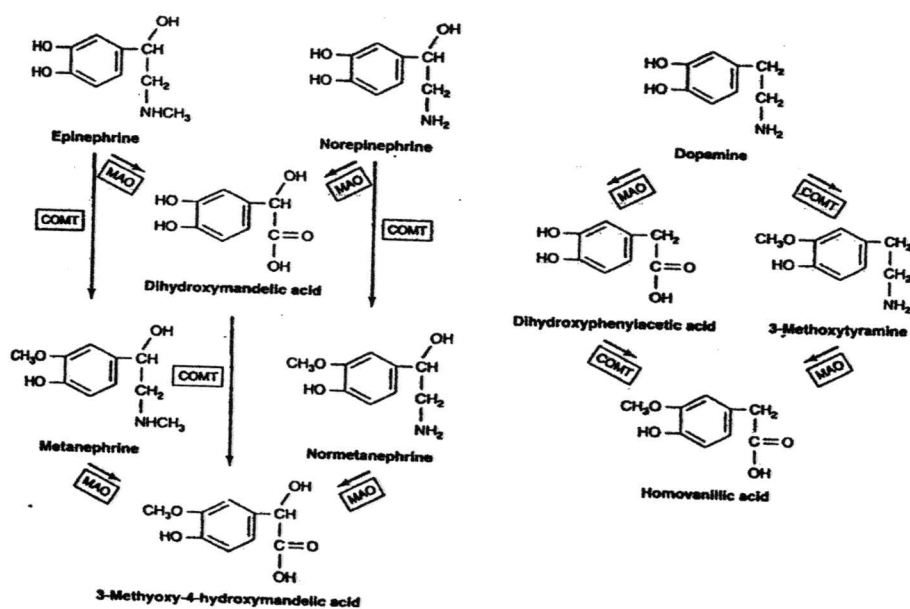
#### 2.4.2 Metabolisme epinefrin

Semua epinefrin yang beredar di sirkuler berasal dari sekresi medulla adrenal. Sebaliknya, sebagian besar norepinefrin sirkulasi berasal dari ujung-ujung saraf simpatik dan otak (Berne, 1992; Zigmond, 1999). Di dalam plasma 70 % norepinefrin dikonjugasi menjadi sulfat. Sulfat yang terkonjugasi menjadi inaktif. Kadar norepinefrin bebas dalam plasma adalah 300 µg/ml, saat berdiri meningkat 50-100 % (Ganong, 2001).

Epinefrin dan norepinefrin memiliki *life span* yang sangat pendek di sirkulasi, waktu paruh sekitar 1-3 menit. Dalam keadaan normal, dieksresi katekolamin adalah 50 µg/hr, 20 % epinefrin dan 80 % norepinefrin. 100 µg dieksresi dalam bentuk sulfat atau glukoronat terkonjugasi. Bila epinefrin dan norepinefrin disintesa dengan jumlah yang melebihi kapasitas simpanan, maka sebagian besar epinefrin di metabolisir di sel chromafin medulla adrenal. Epinefrin dan norepinefrin sirkulasi dimetabolisme di sejumlah jaringan, terutama

di liver dan ginjal (Berne, 1992). Menurut Ganong (2001) sekitar 50 % sekresi katekolamin ditemukan di urine dalam bentuk bebas atau metanefrin dan normetanefrin yang terkojugasi; 35 % sebagai VMA (vanillylmandelic acid). Epinefrin dan norepinefrin bebas hanya dieksresi dalam jumlah kecil. Pada manusia, normal dieksresi harian dari nor epinefrin adalah 30  $\mu\text{g}$ , epinefrin 6  $\mu\text{g}$  dan VMA 700  $\mu\text{g}$ .

Metabolisme epinefrin melalui tahapan reaksi berikut:



Gambar 2.6 : Metabolisme epinefrin (Murray, 2000)

### 2.4.3 Reseptor adrenergik

Upaya memahami hormon katekolamin telah dimulai sejak 100 tahun yang lalu oleh Langley and Ehrlich yang menyatakan bahwa obat memiliki efek terhadap jaringan tubuh melalui interaksi dengan reseptor yang spesifik (Katzung, 2001). Terdapat beberapa tipe reseptor adrenergik (adrenoseptor), yaitu alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), dan dopamin (D). Reseptor  $\alpha$  terdiri dari 2 tipe, yaitu  $\alpha_1$  dan  $\alpha_2$ . Reseptor

$\alpha_1$  terdiri dari empat subtipe, yaitu  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$ ,  $\alpha_{1C}$ , dan  $\alpha_{1D}$ . Reseptor  $\alpha_2$  terdiri dari tiga subtipe, yaitu  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$ , dan  $\alpha_{2C}$ . Adrenoseptor  $\beta$  terdiri dari tiga subtipe, yaitu  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ , dan  $\beta_3$ . Reseptor dopamin terdiri dari empat subtipe, yaitu  $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ , dan  $D_4$ . Reseptor-reseptor ini tersebar pada beberapa tempat seperti tampak pada tabel 2.2, khusus untuk platelet hanya mengandung reseptor  $\alpha_2$  (Becker, 1999; Katzung, 2001).

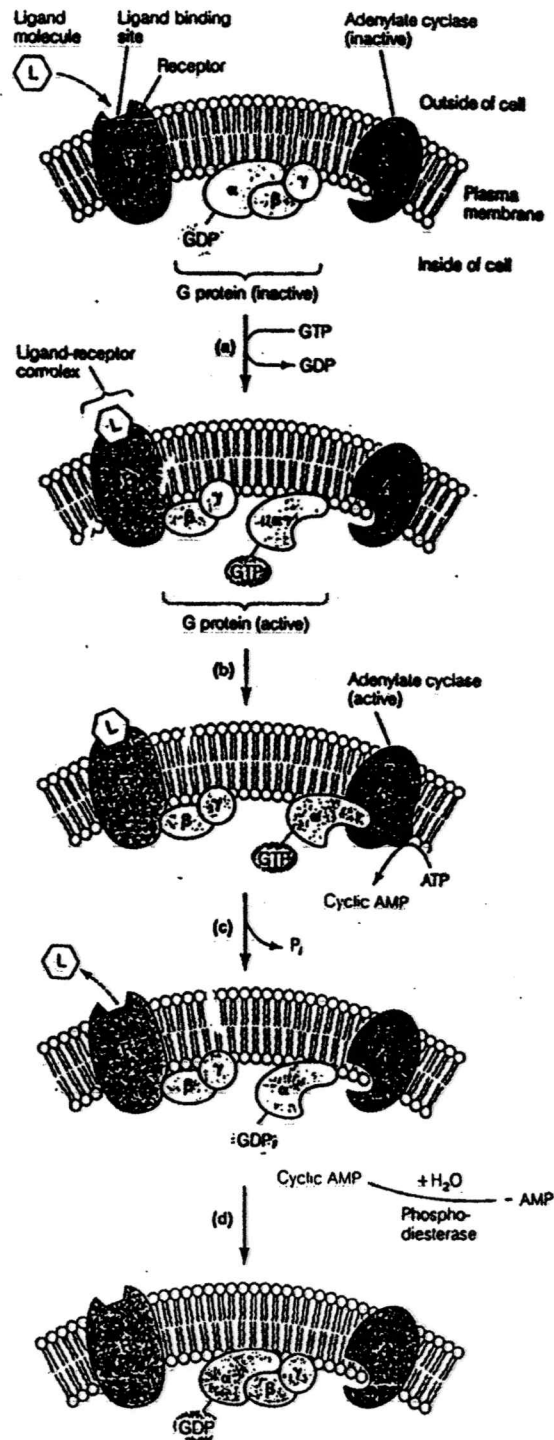
Tabel 2.2 : Distribusi reseptor adrenergik pada tubuh (Katzung, 2001).

Tipe	Jaringan	Aktivitas
$\alpha 1$	Sebagian besar otot polos pembuluh darah	Kontraksi
	Otot dilatori pupil	Kontraksi (dilatasi pupil)
	Otot polos pilomotor	Rambut berdiri
	Liver tikus	Glikogenolisis
	Jantung	Meningkatkan kekuatan kontraksi
$\alpha 2$	CNS post sinap, adrenoceptor	Multipel
	Platelet	Agregasi
	Ujung saraf adrenergik dan kolinergik	Menghambat pelepasan neurotransmitter
	Pembuluh darah otot	Kontraksi
	Sel lemak	Menghambat lipolisis
$\beta 1$	Jantung	Meningkatkan kekuatan dan kecepatan kontraksi
$\beta 2$	Respirasi, uterus dan otot polos pembuluh darah	Merangsang relaksasi otot polos
	Otot skelet	Merangsang uptake potasium
	Liver manusia	Mengaktivasi glikogenolisis
$\beta 3$	Sel lemak	Mengaktivasi lipolisis
D1	Otot polos	Dilatasi pembuluh darah ginjal
D2	Ujung-ujung saraf	Memodulasi pelepasan transmitter

Efek katekolamin dimediasi oleh reseptor yang terdapat pada membran sel. Adrenoseptor nantinya akan berikatan dengan G protein. G protein terdiri dari tiga subunit, yaitu subunit  $\alpha$  (memiliki ukuran paling besar dibanding dua subunit yang lain),  $\beta$  dan  $\gamma$  (ukuran terkecil). G protein terdiri dari beberapa jenis. G protein yang berhubungan dengan reseptor adrenergik terdiri dari tiga jenis, yaitu :

- 1)  $G_s$  : berikatan dengan reseptor  $\beta$ , mengaktifkan adenilil siklase
- 2)  $G_q$  : berikatan dengan reseptor  $\alpha$ , mengaktifkan fosfolipase C (PLC)
- 3)  $G_i$  : berikatan dengan reseptor  $\alpha_2$ , menghambat adenilil siklase.

Dalam keadaan inaktif ketiga subunit G protein berikatan satu sama lain membentuk kompleks  $G\alpha\beta\gamma$ , selain itu subunit  $\alpha$  juga berikatan dengan GDP, adenilil siklase dalam keadaan inaktif, reseptor adrenergik bebas (Katzung, 2001). Bilamana terdapat ligan (misalnya epinefrin) maka epinefrin akan ditangkap dan diikat oleh reseptor, ikatan ini akan menimbulkan fosforilasi GDP menjadi GTP, lepasnya subunit  $\alpha$  dari kompleks  $G\alpha\beta\gamma$ , selanjutnya  $G\alpha$  akan berikatan dengan GTP (kompleks  $G\alpha$ -GTP), kompleks  $G\alpha$ -GTP yang terbentuk akan berikatan dengan adenilil siklase, akibatnya adenilil siklase menjadi aktif sehingga dapat mengubah ATP menjadi cAMP, peningkatan kadar cAMP akan menimbulkan efek pada jaringan. Efek cAMP dapat ditiadakan oleh fosfodiesterase yang mengkonversi cAMP (bentuk aktif) menjadi 5-AMP (inaktif); atau terjadi hidrolisa GTP menjadi GDP, sehingga kompleks  $G\alpha$ -GDP terlepas akibatnya adenilil siklase menjadi inaktif seperti gambar 2.7 (Becker, 1999; Katzung, 2001).



Gambar 2.7 : Mekanisme aktivasi G protein secara umum (Becker, 1999).

#### 2.4.4 Aktivitas fisiologi epinefrin

Sekresi medula adrenal merupakan bagian integral dari *fight or flight reaction* yang diakibatkan oleh rangsangan sistem saraf simpatik. Persepsi atau peristiwa untuk mengantisipasi keadaan yang membahayakan atau mencemaskan, trauma, nyeri, hipovolemia dari hemoragik atau kehilangan cairan, hipotensi, anoksia, temperatur terlalu tinggi, hipoglikemia, latihan berat, dapat menyebabkan sekresi cepat epinefrin dari medula adrenal. Pada umumnya aktivasi medula adrenal mengikuti aktivasi sistem saraf simpatik yang diakibatkan oleh rangsangan yang intensif (Sperelakis, 1998; Kanel 2001).

Menurut Ganong (2001) dan Katzung (2001) secara fisiologi epinefrin dapat mempengaruhi proses yang terjadi pada organ tubuh antara lain :

- 1) meningkatkan tekanan darah
- 2) meningkatkan aliran darah pada otot-otot yang sedang aktif
- 3) meningkatkan metabolisme sel
- 4) meningkatkan kadar glukosa darah
- 5) meningkatkan glikolisis
- 6) meningkatkan aktivitas mental
- 7) meningkatkan agregasi platelet.

Aktivitas epinefrin adalah melalui reseptor yang terdapat pada membran plasma jaringan target, yaitu  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$  dan  $\beta_2$  dan  $\beta_3$ . Reseptor  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  dan  $\alpha_2$  memiliki struktur yang sama, yaitu suatu glikoprotein tunggal dengan BM  $\pm$  64.000. Reseptor  $\alpha_1$  berbeda dengan lainnya, BM 80.000. Reseptor  $\beta_1$  dan  $\beta_2$  terangkai dan merangsang adenilil siklase, sehingga cAMP yang berperan sebagai

*second messenger* untuk memberi efek biologi. Sebaliknya reseptor  $\alpha_2$  menghambat G protein, sehingga terjadi penurunan kadar cAMP (Berne, 1997; Katzung, 2001).

Secara umum bilamana epinefrin berikatan dengan reseptor  $\alpha$ , maka epinefrin akan mengaktifkan G protein (Gp) sehingga terbentuk kompleks  $\alpha$ p-GTP yang selanjutnya akan mengikat fosfolipase C  $\beta$  (PLC  $\beta$ ) sehingga menjadi teraktivasi. PLC  $\beta$  aktif akan memecah fosfolipid membran menjadi fosfatidilinositol-4,5-bisfosfat (PIP<sub>2</sub>), PIP<sub>2</sub> akan pecah menjadi inositol-1,4,5-trifosfat (IP<sub>3</sub>) dan diasilgliserol (DAG). IP<sub>3</sub> menyebabkan efluks  $\text{Ca}^{2+}$  dari retikulum endoplasmik ke sitosol sehingga  $\text{Ca}^{2+}$  sitosol dapat berikatan dengan calmodulin yang dapat menyebabkan kontraksi dari protein kontraktil. DAG akan mengaktifkan protein kinase C (PKC) sehingga menyebabkan kontraksi pada otot polos dan vasokonstriksi pembuluh darah. Epinefrin yang terikat oleh reseptor adrenergik tipe  $\beta$  akan menyebabkan aktivasi pada Gs (terbentuk kompleks  $\alpha$ s-GTP), kompleks ini akan mengaktifkan adenilil siklase sehingga terjadi peningkatan kadar cAMP (Becker, 1999; Katzung, 2001).

## 2.5 Platelet

Sel-sel platelet (disebut juga trombosit) berukuran kecil, berbentuk lempengan tanpa inti dengan diameter 2-4  $\mu\text{m}$ . Platelet berperan pada hemostasis dan mekanisme pertahanan tubuh. Pertambahan jumlah platelet melalui *budding* dari sitoplasma progenitornya, yaitu megakariosit yang merupakan sel poliploid berukuran besar dengan 4, 8, atau 16 inti. Megakariosit berasal dari *primitive*



*hematopoietic stem cell*. Pada usia dewasa normal, megakariosit hampir secara keseluruhan hanya terdapat pada sum-sum tulang. Pada bayi yang baru lahir dan pada dewasa dalam keadaan patologi, selain di sumsum tulang, megakariosit juga ditemukan pada liver, paru dan organ yang lain. Proses pematangan megakariosit untuk menjadi platelet membutuhkan waktu 4-5 hari, dan 1 megakariosit akan membentuk 1000-1500 platelet (Italiano, 1999; Ganong, 2001). Normal jumlah platelet dalam darah adalah 150.000-400.000 per  $\mu\text{l}$  darah. Tidak semua platelet ini beredar dalam sirkulasi, sekitar sepertiga berada di tempat lain, khususnya di limpa. Masa hidup platelet adalah 8-12 hari dengan waktu paruh 4 hari. Selanjutnya platelet yang sudah tua atau rusak akan dipindah dari sirkulasi melalui sistem retikuloendotelial (Johnson, 1992; Borne, 1998).

Platelet lebih sulit diukur dibandingkan eritrosit dan leukosit, kesulitan ini diperkirakan karena ukuran platelet yang kecil dan kemampuannya untuk melekat satu sama lain atau dengan kolagen bila ada stimulus. Secara umum tehnik pengukuran jumlah platelet dapat dibagi menjadi tiga, yaitu : hemositometer atau metode langsung, sampel darah didilusi kemudian platelet dihitung dengan cara yang sama dengan eritrosit dan leukosit; metode semi otomatis, yaitu sejumlah platelet dalam plasma disiapkan dengan cara sedimentasi atau sentrifuge yang kemudian diukur dengan *electronic particle counter*, metode ketiga adalah yang sama dengan eritrosit dan leukosit; metode semi otomatis, yaitu sejumlah platelet dalam plasma disiapkan dengan cara sedimentasi atau sentrifuge yang kemudian diukur dengan *electronic particle counter*, metode ketiga adalah *fully automated electronics methods*, bila dipakai metode ini mungkin hasilnya tidak cocok

(jumlah platelet lebih rendah) karena adanya *cold agglutinin*, *giant platelet* dan *platelet satellitism*. Teknik modifikasi dan metode penghitungan secara manual terkadang masih tetap dibutuhkan untuk mengeliminasi terjadinya artefak serta menghitung jumlah platelet secara akurat (Lee, 1999).

### 2.5.1 Struktur dan fungsi platelet

Platelet merupakan sel yang memiliki sejumlah fungsi spesifik pada beberapa sel, meski sel ini tidak memiliki inti dan tidak dapat bereproduksi (Guyton, 2000). Platelet memiliki cincin mikrotubul yang melingkari bagian luar tubuhnya dan membran yang meluas dan berinvaginasi dengan sistem canaliculi yang memiliki kontak dengan cairan ekstrasel. Membran sel mengandung reseptor untuk kolagen, von Willebrand factor (vWf) dan fibrinogen. Menurut Camacho (2000) dan Gear (2001) sitoplasmanya mengandung faktor-faktor aktif, seperti:

- 1) molekul aktin dan miosin (sama dengan pada sel otot)
- 2) protein kontraktile lain, yaitu trombostenin (menyebabkan platelet berkontraksi)
- 3) *granule*, mengandung bahan nonprotein yang disekresi sebagai respon idap aktivasi platelet (termasuk serotonin, ADP, ATP,  $Ca^{2+}$  dan pirofosfat)
- 4)  $\alpha$  granul, mengandung:
  - a. Protein platelet spesifik:
    - (1) *platelet factor 4* (PF 4)

- (2)  $\beta$  thromboglobulin family (merupakan protein dasar platelet yang memiliki afinitas rendah terhadap PF 4, terdiri dari  $\beta$ -thromboglobulin dan  $\beta$ -thromboglobulin F)
- b. multimerin
- c. glikoprotein adesif:
- (1) fibrinogen
  - (2) trombospondin
  - (3) vWf
  - (4) vitronectin
  - (5) fibronectin
- d. faktor koagulasi: faktor V dan faktor XI
- e. faktor mitogenik :
- (1) DGF (*platelets derived growth factor*)
  - (2) TGF- $\beta$  (*tumor growth factor- $\beta$* )
  - (3) ECGF (*endotelial cell growth factor*)
  - (4) EGF (*epidermal growth factor*).
- f. fibrinolytic inhibitor
- (1)  $\alpha$ 2 plasmin inhitor
  - (2) *Plasminogen activator inhibitor-1*
- g. albumin
- h. imunoglobulin

i. membran associated protein :

- (1) P-selectin (CD 62P)
- (2) GMP 33
- (3) osteonectin
- (4) 24-kDGTP binding protein
- (5) GPIV(CD36)

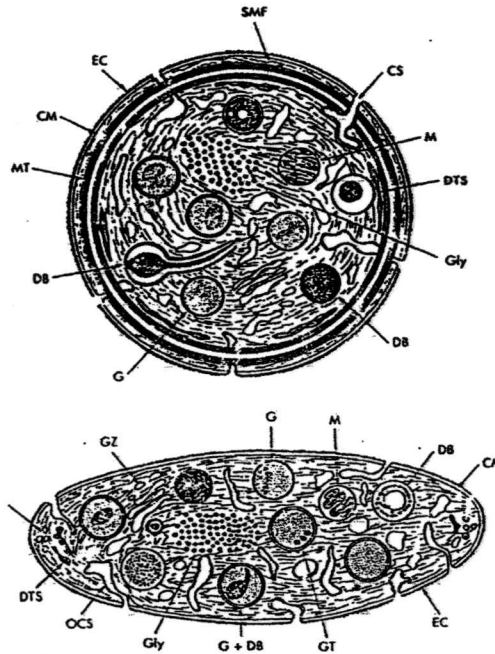
j. protein lain:

protease nectin I, faktor XII, peptidase, HMW-kininogen, *amyloid  $\beta$ -protein precursor* (protease nectin II), *tissue factor pathway inhibitor*

- 5) endoplasmik retikulum dan Golgi apparatus, yang mensintesa beberapa enzim dan menyimpan sejumlah besar  $\text{Ca}^{2+}$
- 6) mitokondria dan enzimnya yang dapat membentuk ATP dan ADP
- 7) enzim yang dapat mensintesa prostaglandin, hormon lokal yang dapat mengakibatkan reaksi pada pembuluh darah dan jaringan lokal
- 8) protein penting koagulasi darah, fibrin-stabilizing factor (f. XIII).

Chow (1992) dan Bonnefey (2000) menambahkan bahwa selain yang tersebut di atas dense granule juga mengandung serotonin, katekolamin dan vasopressin. Platelet berperan dalam proses hemostasis, yaitu dalam pembentukan platelet plug juga dalam pembentukan fibrin karena platelet mengandung faktor XIII (*fibrin stabilizing factor*).

Struktur platelet dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



Gambar 2.8 : Struktur platelet (Katzung, B.G., 2001). *EC* (exterior coat), *CM* (trilamellar unit membrane), *SMF* (submembrane filament), *CS* (canalicular system), *MT* (microtubules), *Gly* (glycogen), *M* (mitochondria), *G* (granule), *DB* (dense bodies), *GT*  $\alpha$ -granules, *OCS* (open canalicular system), *DTS* (dense tubular system), *GZ* (Golgi apparatus).

### 2.5.2 Reseptor platelet

Menurut Beutler (1999) dan Bonnefey (2000), terdapat beberapa protein pada permukaan membran platelet yang berperan sebagai reseptor, yaitu:

#### 1) famili integrin:

- (1) reseptor fibrinogen, nama lain : GP IIb/IIIa
- (2) reseptor kolagen, nama lain : GP Ia/Iia
- (3) reseptor fibronektin, nama lain: GP Ic/IIa
- (4) reseptor laminin, nama lain : GP Ic/Iia
- (5) reseptor vitronectin, nama lain:  $\alpha$ v/GP IIIa.

2) famili glikoprotein kaya leusin: nama umum : reseptor vWf, nama lain: GP

Ib/IX

3) immunoglobulin cell adhesion molecules :

(1) PECAM-I

(2) Fc $\gamma$ -R II

(3) HLA-Class I

(4) ICAM-2

4) selectin, nama umum P-selectin

5) quadraspanin, nama umum p24

6) miscellaneous, nama umum :

(1) GP IV

(2) sialoporm

(3) lamp 3 (granulophysin)

(4) lamp 1

(5) leukosialin

(6) lamp 2

(7) 67 kD laminin reseptor

7) yang terikat pada G protein :

(1) reseptor trombin

(2) reseptor TXA<sub>2</sub>

(3) reseptor  $\alpha$ <sub>2</sub>-adrenergik

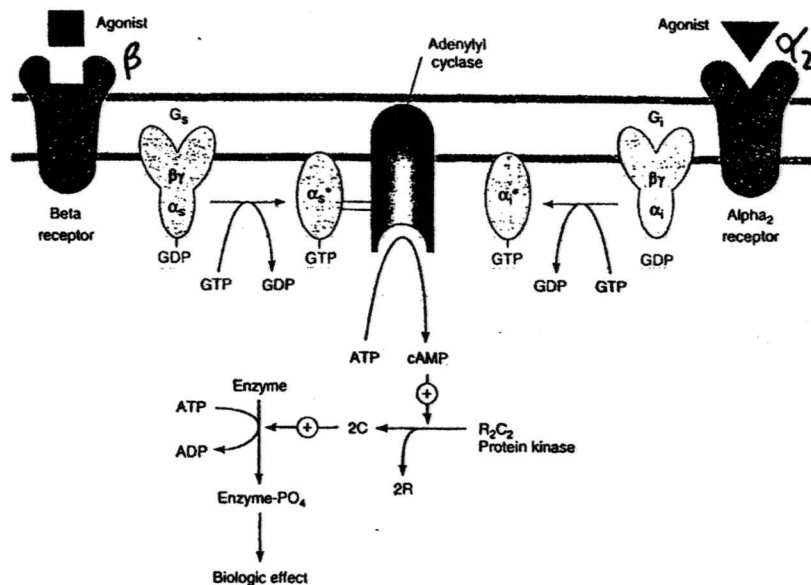
(4) reseptor vasopressin.

### 2.5.3 Reseptor adrenergik pada platelet

Menurut Katzung (2001), aktivitas reseptor  $\alpha_{2A}$  adalah melalui G protein jenis Gi (*inhibitory regulatory protein*) yang dapat menghambat adenilil siklase. Bagaimana mekanismenya belum diketahui secara pasti, namun diduga melalui mekanisme berikut:

Ikatan antara ligan (epinefrin) dan reseptor  $\alpha_{2A}$  menyebabkan fosforilasi GDP menjadi GTP, akibatnya subunit  $\alpha$  dari Gi ( $\alpha_i$ ) terlepas dari kompleks  $G_i\alpha\beta\gamma$  dan GDP, selanjutnya:

- 1)  $\alpha_i$  berikatan dengan GTP membentuk kompleks  $\alpha_i$ -GTP, kompleks ini akan menghambat adenilil siklase secara langsung, akibatnya akan terjadi penurunan  $\alpha$ AMP dan merangsang terjadinya agregasi platelet.
- 2) subunit  $\beta$  dan  $\gamma$  dari Gi yang terlepas dari  $\alpha_i$  akan berikatan dengan subunit  $\alpha$  dari Gs ( $\alpha_s$ ) yang terikat dengan GTP (kompleks  $\alpha_s$ -GTP) sehingga terbentuk kompleks  $(\beta\gamma)_i$ - $\alpha_s$ -GTP. Kompleks  $(\beta\gamma)_i$ - $\alpha_s$ -GTP tentunya akan menghambat ikatan  $\alpha_s$ -GTP dengan adenilil siklase sehingga adenilil siklase menjadi tidak aktif, sehingga terjadi penurunan cAMP dan merangsang agregasi platelet.

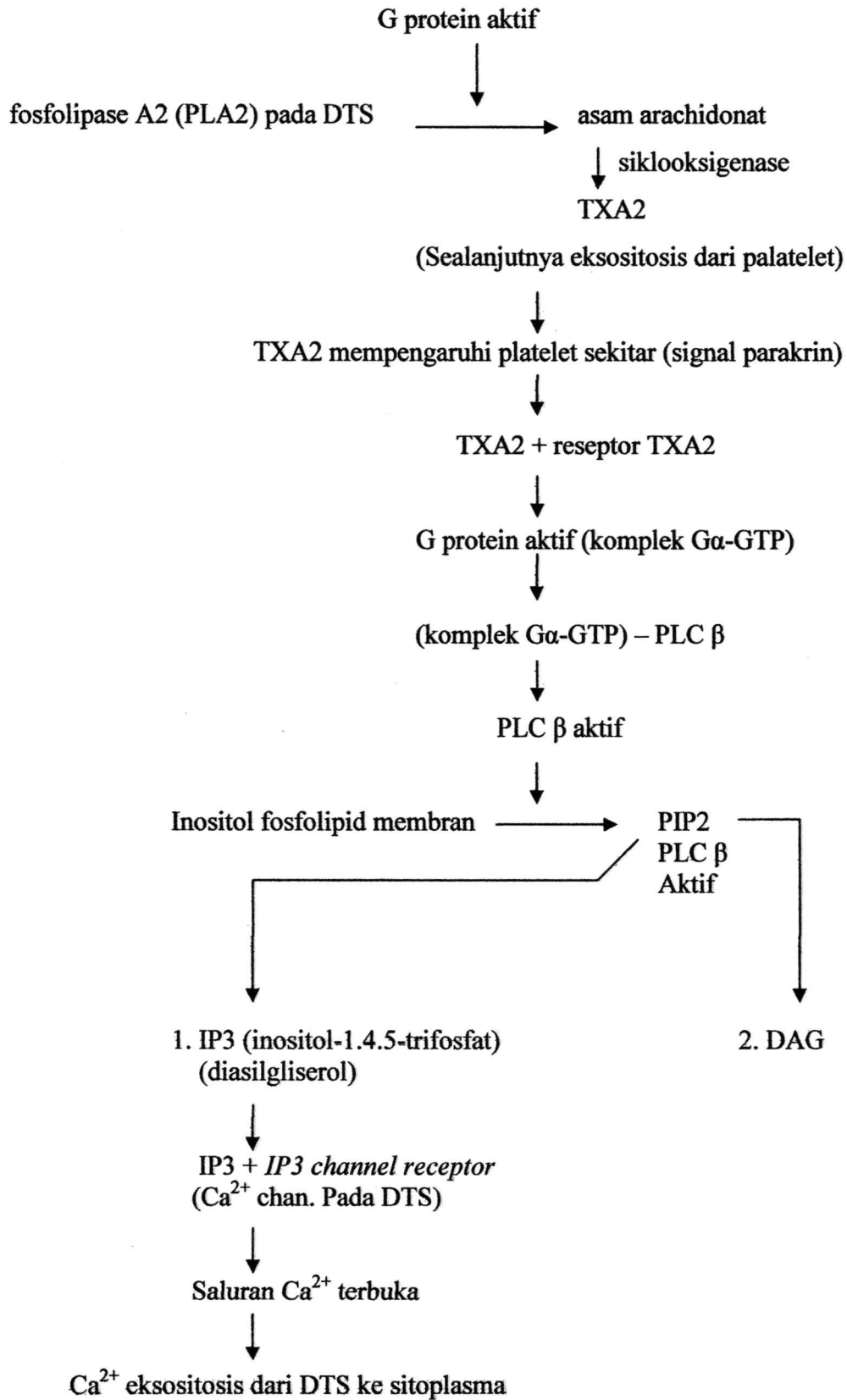


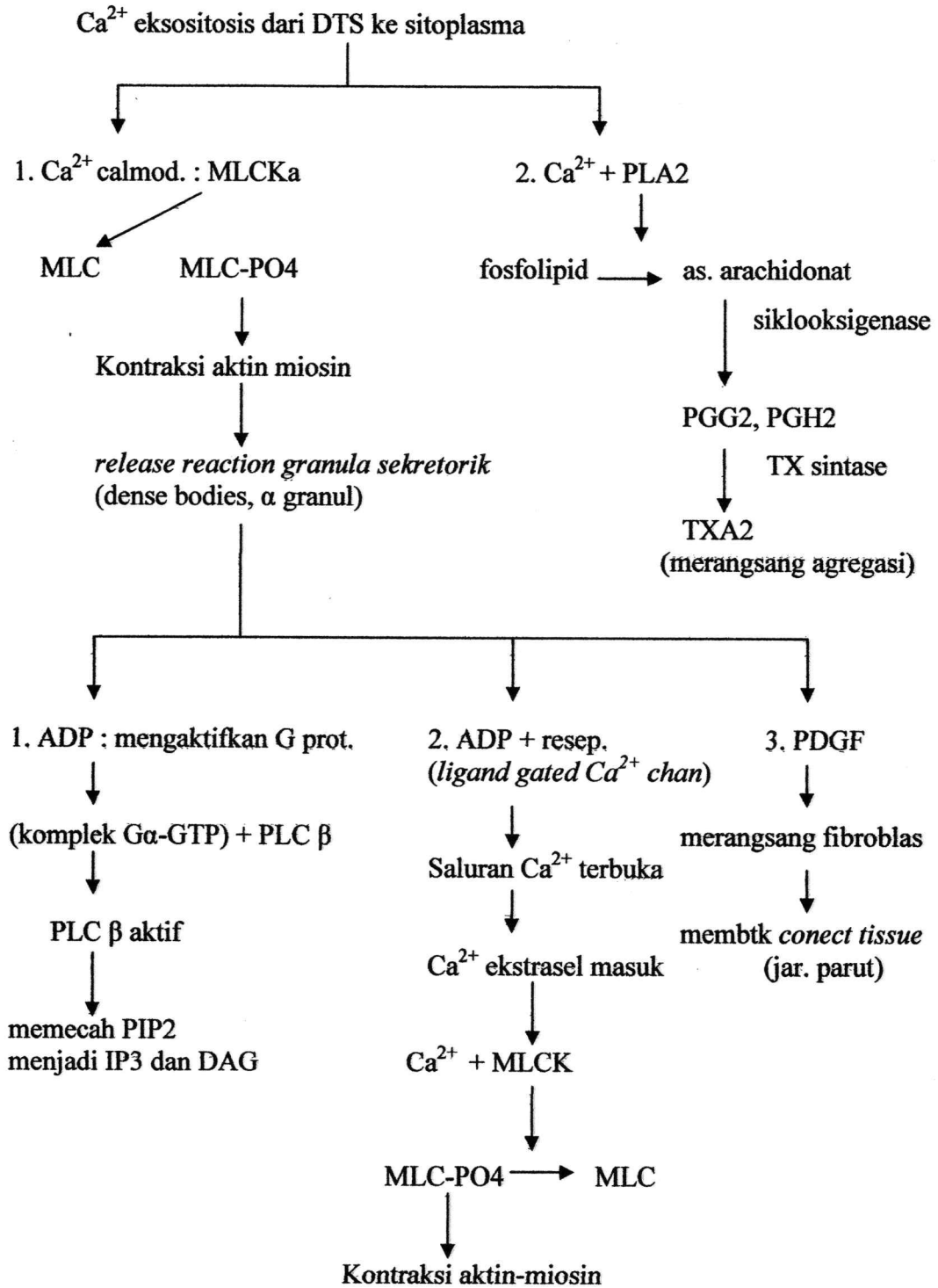
Gambar 2.9 : Aktivitas adreseptor  $\alpha_2$  melalui G protein jenis  $G_i$  (Katzung, 2001).

#### 2.5.4 Aktivasi dan agregasi platelet

Menurut Becker (1999) dan Shapiro (1999), G protein yang diaktivasi oleh reseptor adrenergik  $\alpha$  secara umum adalah  $G_p$  atau  $G_q$ , yang mana  $G_p$  atau  $G_q$  nantinya akan merangsang fosfolipase C (PLC) sehingga terjadi peningkatan kadar cAMP. Bila terjadi trauma atau ruptur pembuluh darah, maka kolagen akan terekspose pada dinding pembuluh darah. Selanjutnya kolagen akan diikat oleh reseptor kolagen pada membran platelet, berikutnya kolagen akan terikat reseptor kolagen akan mengikat G protein sehingga G protein menjadi aktif (subunit  $\alpha$  berikatan dengan GTP atau terbentuk kompleks  $G\alpha$ -GTP). Proses selanjutnya seperti skema di bawah :



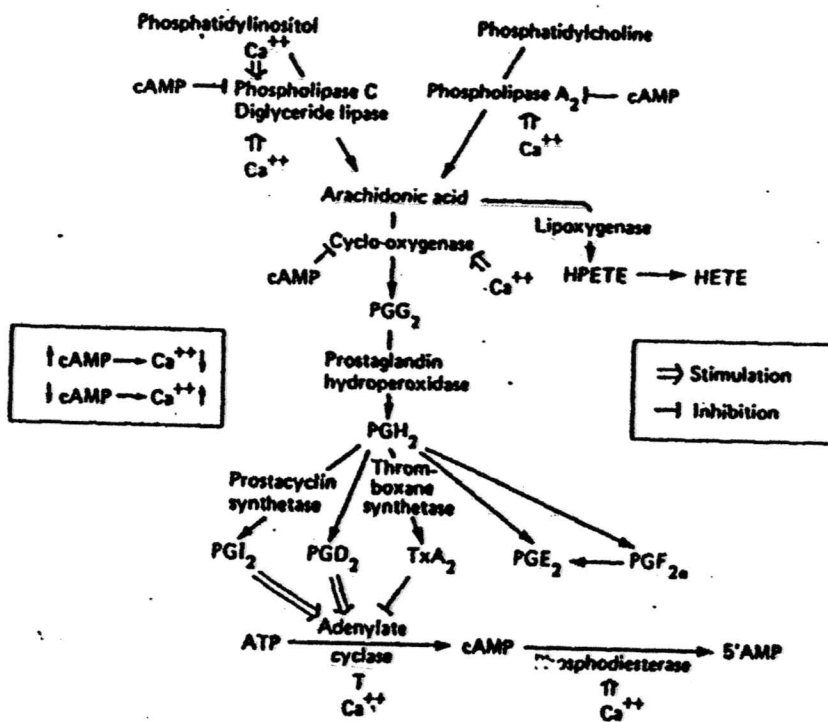




Gambar 2.10 : Skema peran G protein pada aktivasi platelet (Becker, 1999; Shapiro, 1999).

Peristiwa yang pertama kali terjadi saat platelet dirangsang oleh berbagai bahan adalah perubahan bentuk dari *disc* menjadi *spiculated sphere*, proses ini melibatkan elemen kontraktile pada platelet. Selanjutnya bila terjadi agregasi bisa bersifat reversibel atau irreversibel, tergantung intensitas rangsangan. Agregasi tentunya dimulai dengan mekanisme sekresi (Cass, 1998; Lee, 1999).

Saat platelet mendapat rangsangan, misalnya oleh trombin atau kolagen dinding pembuluh darah, maka asam arachidonat akan dilepaskan dari fosfolipid membran plasma platelet melalui aktivitas  $Ca^{2+}$  dari enzim  $Ca^{2+}$ -dependent phospholipase dan gliseride lipase. Tahap reaksi berikutnya dapat dilihat pada skema di bawah.



Gambar 2.11: Tahapan pembentukan prostaglandin dan tromboksan pada platelet (Bowie, 1995).

PGG<sub>2</sub> dan PGH<sub>2</sub> merupakan jenis prostaglandin yang labil; PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub> dan PGF<sub>2α</sub> merupakan prostaglandin yang stabil (tapi tidak menyebabkan agregasi platelet); TxA<sub>2</sub> juga tidak stabil cepat berubah menjadi TxB<sub>2</sub> (stabil) namun aktivitas TxB<sub>2</sub> masih belum diketahui. TxA<sub>2</sub> merupakan agen poten untuk agregasi platelet. PGD<sub>2</sub> menghambat agregasi dengan cara merangsang adenilil siklase platelet, cAMP meningkat akibatnya mengganggu fungsi platelet. PGE<sub>2</sub> pada kadar rendah akan meningkatkan sekresi dan agregasi platelet, namun pada kadar yang tinggi menghambat. PGF<sub>2α</sub> sedikit menghambat aktivasi platelet (Bowie, 1995; Vander, 2001).

Pada endotel pembuluh darah, oksidasi asam arachidonat akan menghasilkan PGI<sub>2</sub> (labil), menyebabkan hambatan kuat terhadap agregasi platelet dengan cara mengaktifkan adenilil siklase dan meningkatkan kadar cAMP platelet. PGI<sub>2</sub> dihidrolisa secara spontan menjadi 6-keto PGF<sub>1α</sub> yang merupakan senyawa stabil namun tidak aktif.

Fosfodiesterase dan adenilil siklase dapat dikatakan mengatur kadar cAMP platelet, fosfodiesterase diaktivasi oleh Ca<sup>2+</sup>, sedangkan adenilil siklase dihambat oleh Ca<sup>2+</sup>. Peningkatan cAMP tentunya akan menurunkan Ca<sup>2+</sup> sitoplasma, mungkin melalui rangsangan terhadap cAMP-dependent Ca<sup>2+</sup> pump. PGG<sub>2</sub> dan TxA<sub>2</sub>, menghambat adenilil siklase dengan cara meningkatkan kadar Ca<sup>2+</sup>, melalui peningkatan pelepasan Ca<sup>2+</sup> dari storage site atau meningkatnya transport Ca<sup>2+</sup> melalui saluran Ca<sup>2+</sup> (Bowie, 1995).

Protein kontraktil platelet, aktin dan miosin, terlibat pada perubahan bentuk platelet, juga tergantung pada Ca<sup>2+</sup>. Adhesi dan agregasi platelet membutuhkan

$\text{Ca}^{2+}$  ekstrasel. Reaksi sekresi platelet dimediasi oleh peningkatan  $\text{Ca}^{2+}$  sitoplasma platelet, peningkatan  $\text{Ca}^{2+}$  sitoplasma dapat terjadi karena dikeluarkannya  $\text{Ca}^{2+}$  dari storage site atau meningkatnya permeabilitas membran terhadap  $\text{Ca}^{2+}$  sehingga terjadi influx  $\text{Ca}^{2+}$ . *Storage site*  $\text{Ca}^{2+}$  antara lain mitokondria, *dense tubular system*, atau membran plasma *binding site* (Bowie, 1995). Proses agregasi platelet membutuhkan fibrinogen sebagai kofaktor. Diketahui reseptor aktivasi platelet untuk fibrinogen menjadi manifestasi pada permukaan platelet, dan memungkinkan *long dumb bell shape molecule* untuk membentuk *bridge* pada gap antara platelet yang berdekatan untuk membentuk *platelet aggregate*. Proses adesi platelet (dengan platelet lain atau kolagen) membutuhkan vWf reseptor (GP Ib) sedangkan untuk agregasi membutuhkan reseptor fibrinogen (Shapiro, 1999; Guyton, 2000).

### 2.5.5 Faktor koagulasi darah

Normalitas hemostasis ditentukan oleh faktor-faktor yang terlibat dalam proses tersebut. Terdapat 16 faktor pembekuan darah yang berperan dalam proses hemostasis dapat dilihat pada tabel 2.3 (Fox, 1999; Ganong, 2001; Kanel, 2001):

Tabel 2.3 : Faktor-faktor koagulasi darah (Ganong, 2001).

<b>Faktor</b>	<b>Sinonim</b>	<b>Konsentrasi plasma (<math>\mu\text{g/dl}</math>)</b>
I	Fibrinogen	3000
II	Protrombin	100
III	tromboplastin, faktor jaringan	
IV	$\text{Ca}^{2+}$	4,7
V	proaccelerin, <i>labile factor</i> , <i>accelerator globulin (Ac-G)</i>	10
VII	proconvertin, <i>stable factor</i> , <i>serum protrombin conversion accelerator (SPCA)</i>	0,5
VIII	<i>antihemophilic factor (AHF)</i> , <i>antihemoglobin (AHG)</i> , <i>antihemophilic factor A</i>	0,1
IX	<i>plasma tromboplastin component (PTC)</i> , <i>christsmas factor</i> , <i>antihemophilic factor B</i>	5
X	<i>Stuart factor</i> , <i>Stuart-Prower factor</i>	10
XI	<i>plasma tromboplastin antecedent (PTA)</i> , <i>antihemophilic factor C</i>	5
XII	<i>Hageman factor</i> , <i>glass factor</i>	30
XIII	<i>fibrin stabilizing factor</i> , <i>Laki-Lorand factor</i>	30
HMW-K	<i>High-molecular-weight kininogen</i> , <i>Fitzgerald factor</i>	100
Pre-Ka	<i>Prekallikrein</i> , <i>fletcher factor</i>	40
Ka	Kallikrein	
PL	Platelet fosfolipid	

### 2.5.6 Koagulasi (penjendelan) darah

Hemostasis dapat diartikan sebagai proses untuk menanggulangi terjadinya perdarahan atau mencegah hilangnya darah sehingga dapat mempertahankan volume darah pada sistem vaskular (Fox, 1999; Ganong, 2001). Menurut Guyton (2000) dan Vander (2001) bila terjadi kerusakan atau ruptur pembuluh darah, maka akan terjadi peristiwa hemostasis sebagai berikut:

#### 1) Spasme pembuluh darah

Segera setelah pembuluh darah terpotong atau ruptur, maka rangsangan (trauma) ini menyebabkan dinding pembuluh darah berkontraksi, sehingga aliran darah yang menuju pembuluh yang ruptur menurun. Kontraksi ini ditimbulkan oleh refleks saraf, spasme miogenik lokal dan faktor humoral lokal dan jaringan yang trauma dan platelet. Refleks saraf diinisiasi oleh nyeri atau impuls lain yang berasal dari pembuluh yang trauma atau jaringan terdekat. Namun sebagian besar kontraksi ini disebabkan spasme miogenik lokal yang diinisiasi oleh kerusakan langsung dinding pembuluh darah. Pembuluh darah yang lebih kecil lebih responsibel untuk berkonstriksi karena dilepaskannya bahan vasokonstriktor tromboxan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) (Guyton, 2000; Vander, 2001).

#### 2) Pembentukan *platelet plug*

Bila terjadi trauma pada pembuluh darah, maka platelet akan bergerak menuju daerah yang ruptur untuk kontak dengan permukaan pembuluh yang rusak yang mengandung bahan-bahan seperti serabut-serabut kolagen maupun sel-sel endotel, dan karakteristik platelet akan berubah dengan cepat Dimulai dengan pembengkakan, berubah bentuk menjadi irreguler dengan beberapa pseudopodi

menonjol dari permukaan platelet, kemudian protein kontraktilnya akan berkontraksi secara maksimal, diikuti reaksi pelepasan granula yang mengandung sejumlah bahan aktif, kemudian platelet-platelet tersebut konsistensinya menjadi kenyal-lengket (*sticky*) sehingga dapat melekat pada serabut-serabut kolagen.

Diantara bahan yang disekresi pada reaksi pelepasan adalah ADP dalam jumlah besar dan enzim-enzim yang ada pada platelet akan membentuk TXA<sub>2</sub> (juga masuk sirkulasi). TXA<sub>2</sub> dapat mengaktifkan *additional platelets* untuk bergabung dengan *originally activated platelets*. Kerusakan pada dinding pembuluh darah atau jaringan ekstravaskular menimbulkan siklus cepat untuk meningkatkan jumlah platelet secara progresif yang mana platelet-platelet ini sendiri akan menarik lebih banyak lagi *additional platelets* yang selanjutnya akan membentuk *platelet plug* (Lee, 1999; Guyton, 2000).

### 3) Pembentukan jendal darah, pertumbuhan jaringan ikat dan penutupan celah

Jendal darah mulai terbentuk 15-20 detik bila trauma yang terjadi cukup besar, namun bila kerusakan relatif kecil maka dibutuhkan waktu 1-2 menit. Bahan-bahan aktivator, baik dari dinding pembuluh darah yang trauma, platelet maupun protein darah yang terletak berdekatan dengan pembuluh yang rusak akan menginisiasi proses penjendalan. Setelah 3-6 menit setelah rusak, bila dinding pembuluh darah yang terbuka tidak terlalu lebar, maka seluruh bagian pembuluh akan diisi oleh jendal darah. Setelah 20 menit hingga 1 jam, jendal darah mengalami retraksi untuk menutup daerah yang terbuka (Guyton, 2000; Ganong, 2001).



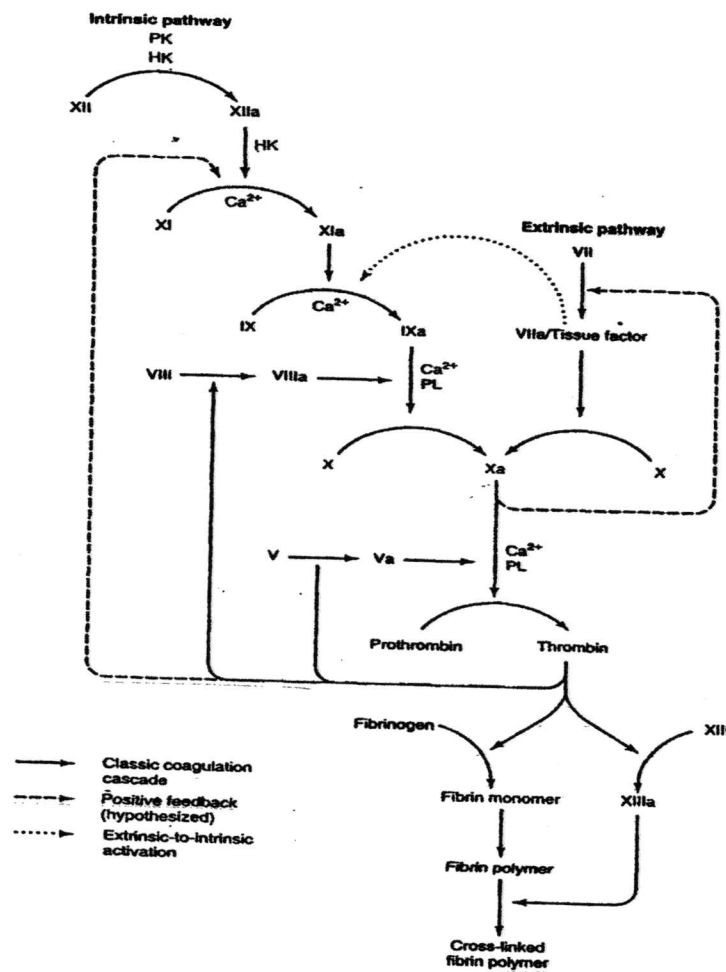
Terdapat lebih dari 50 jenis bahan-bahan yang penting untuk koagulasi darah telah ditemukan di dalam darah dan jaringan, yang bersifat merangsang koagulasi disebut prokoagulan, sedang yang menghambat koagulasi disebut antikoagulan. Normal antikoagulan terdapat dalam jumlah yang lebih banyak, untuk mencegah agar darah tidak menggumpal. Bila terjadi ruptur pembuluh darah, maka prokoagulan pada daerah yang rusak akan menjadi aktif dan menjadi dominan dibanding antikoagulan, sehingga dapat terbentuk jendal darah (Guyton, 2000).

Menurut Fox (1999) mekanisme umum dari pembentukan bekuan darah adalah sebagai berikut :

- 1) terbentuk aktivator protrombin
- 2) aktivator protrombin mengkatalisis konversi protrombin menjadi trombin
- 3) trombin (sebagai enzim) mengubah fibrinogen menjadi serabut-serabut fibrin yang menjerat platelet, sel darah dan plasma untuk membentuk jendal darah.

Beberapa menit setelah terbentuknya jendal darah, jendal darah akan kontraksi dan pada umumnya akan keluar cairan dari jendal darah selama 20-60 menit. Cairan ini disebut serum, berbeda dengan plasma serum tidak dapat membentuk jendal darah karena kekurangan beberapa faktor koagulasi. Platelet penting untuk terjadinya *clot retraction*, sehingga kegagalan *clot retraction* mengondisikan jumlah platelet pada sirkulasi rendah. EMG platelet pada bekuan darah menunjukkan bahwa platelet-platelet ini melekat pada serabut-serabut fibrin. Platelet yang terjerat pada jendal darah akan menyebabkan dilepaskannya faktor-faktor prokoagulan, salah satunya adalah *fibrin stabilizing factor* yang

mendukung terjadinya lebih banyak lagi *cross-linking* antara serabut-serabut fibrin yang berdekatan (Fox, 1999; Guyton, 2000). Platelet memiliki kontribusi secara langsung terhadap retraksi jendal darah dengan cara mengaktivasi trombostenin, aktin dan miosin platelet (yang masing-masing merupakan protein kontraktil platelet) sehingga terjadi kontraksi yang kuat dari platelet untuk melekat pada fibrin. *Fibrin stabilizing factor* juga membantu menekan serabut fibrin sehingga dapat menjadi massa dengan ukuran yang lebih kecil. Kontraksi diaktivasi atau diaselerasi oleh trombin dibantu  $Ca^{2+}$  yang dilepaskan dari tempat simpanan di mitokondria, *dense tubular system* dan Golgi apparatus dari platelet (Guyton, 2000; Vander, 2001). Mekanisme koagulasi darah melalui jalur intrinsik dan ekstrinsik sebagai berikut:



Gambar 2.12 : Jalur intrinsik dan ekstrinsik pada hemostasis (Murray, 2000)

**2.5.7 Peran epinefrin pada agregasi platelet**

Aktivitas platelet merupakan tahap penentu suatu hemostasis, aktivitas platelet diatur oleh faktor-faktor, seperti trombin, adenin nukleotida (ADP), epinefrin, PGI<sub>2</sub> juga kolagen. Sebagian besar agen tersebut berinteraksi dengan G protein yang ditangkap oleh reseptornya pada membran plasma platelet (Swenson, 1993; Spalding, 1998; Katzung, 2001). Menurut Holmsen mengklasifikasikan agonis platelet berdasar kemampuannya dalam merangsang agregasi platelet,

epinefrin dan ADP adalah agonis lemah, sedang trombin adalah agonis kuat. Epinefrin dikatakan tidak menginduksi, sebaliknya ADP dan trombin mendukung peningkatan  $Ca^{2+}$  dan agregasi platelet (Kanel, 2001; Nillson, 2002).

Beautler (1999) mengklasifikasikan aktivator platelet berdasar kemampuannya, yaitu:

1) aktivator kuat:

- (1) adesi dengan kolagen
- (2) trombin
- (3) kolagen konsentrasi tinggi (invitro)

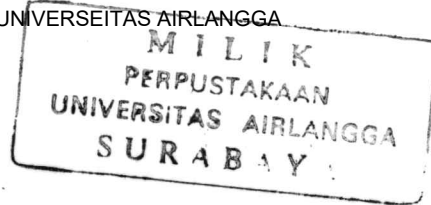
2) aktivator lemah :

- (1) ADP
- (2) epinefrin
- (3) TXA<sub>2</sub>, PGH<sub>2</sub>
- (4) serotonin
- (5) PAF
- (6) vasopressin.

3) aktivator lain :

- (1) *shear rate*
- (2) bahan trombolitik (plasmin)

Respon fungsional pertama bila platelet teraktivasi adalah terjadi perubahan bentuk dari *discoid* menjadi *sphere*, pseudopodia dan permukaan membrannya melipat. Selain itu agregasi platelet juga tergantung pada protein adesif seperti fibrinogen yang berasal dari  $\alpha$  granul. (Nillson, 2002). Namun bila aktivator



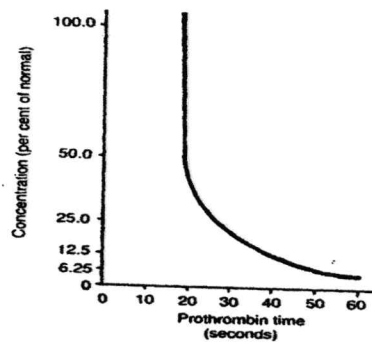
platelet yang lemah digabung, tetap dapat menginduksi agregasi yang irreversibel (Kobilka, 1987).

Efek epinefrin pada platelet dimediasi oleh interaksinya dengan  $\alpha_2$  *adrenergic receptor* ( $\alpha_2AR$ ) (Banga, 1996; Katzung, 2001).  $\alpha_2AR$  pertama ditemukan pada platelet manusia pada 1987, meski ternyata pada saat ini platelet juga mengekspresikan PAR (Kobilka, 1987; Becker, 1999). Epinefrin dapat meningkatkan agregasi platelet terutama diinduksi oleh autocooids lainnya (Steen, 1993), namun peningkatan agregasi platelet oleh epinefrin bersifat individual (Freeman, 1995). Studi yang dilakukan oleh Nakamura (1997) terhadap platelet yang sensitif dan tidak sensitif terhadap epinefrin, ternyata terjadi penurunan  $\alpha_2AR$  (menurun 50% dari normal) pada 16% populasi. Wang (1997) menyatakan bahwa epinefrin tidak langsung menyebabkan agregasi platelet, namun memiliki potensi mempengaruhi trombin melalui interaksi dengan  $\alpha_2AR$ . Rangsangan pada  $\alpha_2AR$  akan menyebabkan aktivasi pada G protein jenis  $G_i$ , akibatnya akan menurunkan aktivitas adenilil siklase yang pada akhirnya akan menurunkan kadar cAMP (Spalding, 1998; Katzung, 2001). Selain itu aktivitas epinefrin dalam mempengaruhi agregasi platelet juga tergantung pada kadar  $Ca^{2+}$  (Nillson, 2002).

## 2.6 Waktu protrombin

Protrombin merupakan salah satu faktor koagulasi yang disintesis oleh hepar. Protrombin berperan dalam pembentukan trombin. Waktu yang dibutuhkan untuk membentuk benang-benang fibrin dapat diukur dengan waktu protrombin, selain itu waktu protrombin dapat menunjukkan jumlah protrombin dalam darah seperti tampak pada grafik 2.1. Dalam keadaan normal waktu protrombin adalah

sekitar 12 detik. Fibrinogen merupakan salah satu protein plasma yang berperan dalam hemostasis yang juga disintesis oleh hepatosit.



Gambar 2.13 : Hubungan antara jumlah protrombin dan waktu protrombin (Guyton, 2000).

Lee (1999) dan Katzung (2001) menyatakan bahwa ada beberapa tes yang bisa dilakukan untuk mengetahui fungsi normal platelet, antara lain secara langsung dengan mengukur agregasi platelet, atau secara tidak langsung yaitu mengukur faktor-faktor yang berpengaruh pada agregasi platelet. Faktor-faktor yang mempengaruhi agregasi platelet antara lain jumlah platelet, kadar  $Ca^{2+}$  ekstrasel (Soebrata, 1995; Lee, 1999).

Produksi fibrin yang termasuk dalam jalur ekstrinsik hemostasis membutuhkan faktor jaringan (*tissue tromboplastin*) dan faktor VII, juga faktor V, X, fibrinogen dan protrombin. Jalur ini dapat diukur dengan *plasma prothrombin time* (waktu protrombin). Terdapat lima faktor koagulasi yang dapat diukur dengan waktu protrombin, yaitu faktor V, VII, X, protrombin dan fibrinogen. Waktu protrombin akan memanjang bila kadar plasma 10% di bawah normal dan lebih sensitif bila terdapat defisiensi faktor VII dan X bila dibandingkan dengan defisiensi fibrinogen dan protrombin (Lee, 1999).

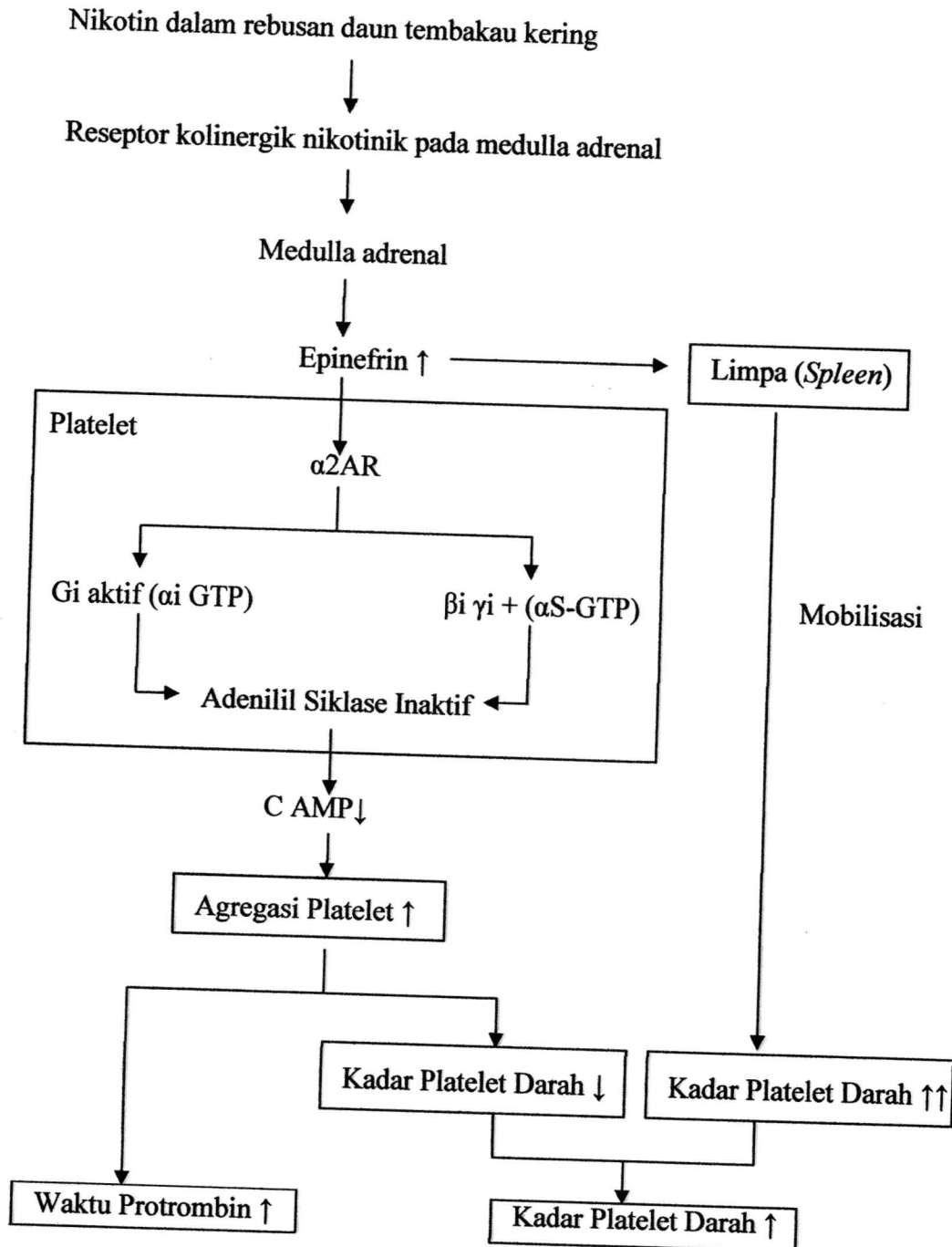
## 2.7 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

*Rattus norvegicus* terdiri dari *Outbred Strains* dan *Inbred Strains*, namun yang biasa digunakan pada penelitian adalah jenis *Outbred*. *Outbred* terdiri dari beberapa galur : *Wistar* (tikus albino), *Sprague-Dawley* (tikus ini pertumbuhannya lebih cepat dari *Wistar*), *Long-Evans* (tikus berkerudung, lebih kecil dari *Wistar* atau *Sprague-Dawley*). *Inbred* terdiri dari : *Galur Ficher 344* dan *Lewis*. Tikus dapat menunjukkan secara alami terjadinya berbagai penyakit, seperti hipertensi dan diabetes yang membuatnya digunakan dalam penelitian pada penyakit - penyakit tertentu yang dapat diaplikasikan pada manusia. Tikus ini juga sering digunakan pada penelitian tentang perilaku, nutrisi, toksikologi dan obat. Menurut Anonim (2007) data fisik dari *Rattus norvegicus* antara lain adalah sebagai berikut

- 1) Temperatur tubuh : 35,9- 37,5°C
- 2) *Heart Rate*: 250-600/menit
- 3) *Respiration Rate*: 66-144/menit
- 4) Umur dewasa : 40 – 60 hari
- 5) Berat : jantan dewasa : 300-500 gram, betina dewasa: 200-400 gram
- 6) Konsumsi air : 24-60 ml/hari atau 10-12 ml/100 kg BB tiap hari
- 7) Konsumsi makanan : 15-30 gram/hari atau 5-6 gram/100 gram BB

**BAB 3**  
**KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

**3.1 Kerangka Konseptual Penelitian**





### 3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual

Salah satu bahan kimia yang terkandung dalam daun tembakau kering adalah nikotin. Nikotin akan berikatan dengan reseptor kolinergik nikotik pada medulla adrenal, yang kemudian medulla adrenal mensekresi epinefrin (Hass, 1996; Basaloglu, 2003; Irene 2005; VanderKaay, 2006).

Epinefrin akan berikatan dengan  $\alpha_2$ AR (hanya terdapat pada platelet) sehingga menyebabkan; (1) G protein tipe inhibitory ( $G_i$ ) aktif (membentuk kompleks  $\alpha_i$ -GTP), kompleks  $\alpha_i$ -GTP secara langsung akan menghambat adenilil siklase sehingga menurunkan kadar cAMP, keadaan ini akan merangsang agregasi platelet (jumlah platelet yang terlibat agregasi meningkat) sehingga platelet sirkulasi menurun dan waktu protrombin meningkat, (2)  $\beta_1$  yang lepas dari  $\alpha_i$  akan berikatan dengan kompleks  $\alpha_s$ -GTP dengan adenilil siklase sehingga terjadi penurunan kadar cAMP yang akan merangsang agregasi platelet. Agregasi platelet dapat menyebabkan kadar platelet darah menurun dan waktu protrombin meningkat (Katzung, 2001), akan tetapi epinefrin juga dapat memobilisasi sebagian besar platelet yang ada di limpa (*Spleen*) ke dalam sirkulasi darah, sehingga kadarnya dapat meningkat lebih tinggi (Sacher, 2004).

### **3.3 Hipotesis Penelitian**

Berdasarkan tinjauan pustaka dan kerangka konsep yang telah diuraikan sebelumnya, maka diajukan perumusan hipotesis sebagai berikut :

- 1) Rebusan daun tembakau kering meningkatkan kadar platelet darah
- 2) Rebusan daun tembakau kering meningkatkan waktu protrombin

## BAB 4

### MATERI DAN METODE PENELITIAN

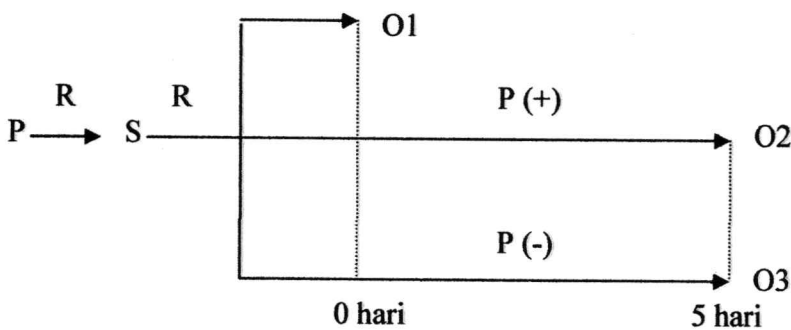
#### 4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah jenis penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui kemungkinan hubungan sebab akibat, dengan memberikan perlakuan pada kelompok eksperimental dan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Adapun penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Separate Sample Pretest-Posttest Control Group Design* (Zainuddin, 2002). Rancangan disusun untuk menjawab permasalahan mengenai efek nikotin yang terdapat dalam daun tembakau kering terhadap kadar platelet darah dan waktu protrombin.

#### 4.2 Bagan Rancangan Penelitian

Secara skematis, rancangan penelitian ini dapat digambarkan sebagai berikut:



**Keterangan :**

- P** : Populasi
- S** : Sampel
- R** : Randomisasi
- O1** : *Pretest* untuk kelompok kontrol
- O2** : *Posttest* untuk kelompok perlakuan pemberian rebusan daun tembakau kering
- O3** : *Posttest* untuk kelompok pemberian NaCl 0.9%
- P (+)** : Perlakuan pemberian rebusan daun tembakau kering secara subkutan dengan dosis 0,6 ml/200g BB tikus
- P (-)** : Pemberian NaCl 0.9% secara subkutan dengan dosis 0,6 ml/200g BB tikus

### 4.3 Populasi, Sampel, Besar Sampel, dan Teknik Pengambilan Sampel

#### 4.3.1 Populasi

Populasi sampel dalam penelitian menggunakan *Rattus norvegicus galur wistar* jantan dewasa dengan berat badan 150-250 gram, berumur 3-3,5 bulan dengan kondisi sehat fisik.

#### 4.3.2 Sampel

Sampel di bagi dalam tiga kelompok, yaitu :

- 1) Kelompok kontrol
- 2) Kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering

Dilakukan pemberian rebusan daun tembakau kering subkutan dengan dosis 0,6 ml/200g BB tikus

- 3) Kelompok plasebo

Dilakukan pemberian NaCl 0.9% subkutan dengan dosis 0,6 ml/200g BB tikus

#### 4.3.3 Besar Sampel

Besar sampel ditentukan dengan rumus Higgins & Kleinbaum (1985):

$$n = \frac{1}{1-f} \times \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \cdot Sc^2}{(Xc - Xt)^2}$$

Oleh karena rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Separate Sample Pretest-Posttest Control Group Design*, maka :

$$\frac{Sc^2}{(Xc-Xt)^2} = 1$$

Kemungkinan hewan coba mati kecil, sehingga digunakan  $f = 10\%$ .

Menurut rumus Widodo sebagai berikut :

$$\begin{aligned} N &= \frac{1}{1-f} \times \frac{(Z\alpha + Z\beta) \cdot Sc^2}{(Xc-Xt)} \\ &= \frac{1}{1-10\%} \times \frac{(1,65+0,842)^2}{(1,65+0,842)^2} \\ &= 1 \times (2,47)^2 \\ &= 6,10 \\ &= 7 \end{aligned}$$

Keterangan :

$n$  = besar sampel

$Z\alpha$  = deviasi standar normal untuk  $\alpha$  0,05 adalah 1,65

$Z\beta$  = deviasi standar normal untuk  $\beta$  0,10 adalah 0,842

$Sc$  = simpangan baku kelompok kontrol

$Xc$  = rerata kelompok kontrol

$Xt$  = rerata kelompok perlakuan

$f$  = proporsi kegagalan

Dari perhitungan diperoleh besar sampel sebanyak 7 ekor sampel tiap kelompok perlakuan (3 kelompok), sehingga besar sampel secara keseluruhan adalah 21 ekor sampel.

#### 4.3.4 Teknik sampling

Teknik sampling yang digunakan adalah *Simple Random Sampling* dengan cara mengundi setiap tikus yang terlebih dahulu diberi nomor (Sugiyono, 2007).

### 4.4 Variabel Penelitian

#### 4.4.1 Variabel Bebas (Independen)

Variabel bebas meliputi :

- 1) Pemberian rebusan daun tembakau kering secara subkutan
- 2) Pemberian NaCl 0.9% secara subkutan

#### 4.4.2 Variabel Tergantung (dependent)

Variabel tergantung meliputi :

- 1) Kadar platelet darah ( $\mu\text{l}$ )
- 2) Waktu protrombin (detik)

#### 4.4.3 Variabel Kendali

Variabel kendali meliputi :

- 1) Jenis hewan coba
- 2) Jenis kelamin hewan coba
- 3) Umur hewan coba
- 4) Kesehatan fisik hewan coba
- 5) Suhu lingkungan

#### 4.4.4 Variabel Moderator

Variabel moderator meliputi berat badan hewan coba

## 4.5 Definisi Operasional

### 4.5.1 Pemberian rebusan daun tembakau kering

Pemberian rebusan daun tembakau kering adalah pemberian rebusan daun tembakau kering secara subkutan 1 kali perhari dengan dosis 0,6 ml/200g BB tikus selama 5 hari (perhitungan dosis dalam lampiran)

### 4.5.2 Pemberian NaCl 0.9%

Pemberian NaCl 0.9% adalah pemberian NaCl 0.9% secara subkutan 1 kali perhari dengan dosis 0,6 ml/200g BB tikus selama 5 hari.

### 4.5.3 Kadar platelet darah

Kadar platelet darah adalah jumlah seluruh platelet yang terdapat pada kamar hitung Improve Neubauer dalam bidang kasar di tengah-tengah ( $1 \text{ mm}^2$ ). Penghitungan dengan menggunakan lensa obyektif besar, kemudian jumlah ini dikalikan 1000 yang hasilnya merupakan jumlah platelet per  $\mu\text{l}$  darah.

### 4.5.4 Waktu protrombin

Waktu protrombin adalah waktu yang dibutuhkan untuk membentuk benang-benang fibrin sejak ditambahkan larutan  $\text{CaCl}_2$  dihitung dalam detik

### 4.5.5 Jenis hewan coba

Jenis hewan coba adalah *Rattus norvegicus galur wistar* dari unit penangkaran hewan penelitian Laboratorium Biokimia FK Unair.

### 4.5.6 Jenis kelamin hewan coba

Jenis kelamin hewan coba adalah jantan.



#### 4.5.7 Umur hewan coba

Hewan coba berusia dewasa yaitu antara 3 sampai 3,5 bulan.

#### 4.5.8 Berat badan hewan coba

Berat badan hewan coba dewasa kurang lebih 150-250 gram.

#### 4.5.9 Kesehatan fisik hewan coba

Kesehatan fisik hewan coba, berbadan sehat dengan ciri-ciri (Farris, 1962)

- 1) Bermata jernih.
- 2) Bulu mengkilat.
- 3) Gerakan aktif / lincah.
- 4) *Feces* baik / tidak lembek.
- 5) Berat badan tidak turun lebih dari 10% selama proses aklimatisasi.

#### 4.5.10 Pemeliharaan dan perawatan hewan coba

Pemeliharaan dan perawatan hewan coba dilakukan di sebuah kandang dengan ukuran 30 cm x 40 cm x 40 cm (1300 cm<sup>3</sup>), dimana masing-masing kandang berisi 1 ekor hewan coba. Kandang dibuat dari bak plastik yang ditutup dengan anyaman kawat serta beralas sekam. Setiap hari sekam diganti untuk menjaga kebersihan kandang. Makanan yang digunakan adalah makanan hewan jenis BR-2 produksi PT. Comfeed dan diberi minum air.

## 4.6 Bahan Penelitian dan Alat Penelitian

### 4.6.1 Bahan penelitian

- 1) Menggunakan *Rattus norvegicus galur wistar* dari unit penangkaran hewan penelitian Laboratorium Biokimia FK Unair
- 2) Daun tembakau kering
- 3) Larutan Rees Ecker
- 4) Natrium sitrat 3.8%
- 5) Larutan  $\text{CaCl}_2$
- 6) Tromboplastin

### 4.6.2 Instrumen penelitian

Instrumen yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah :

- 1) Kandang ukuran 30 x 40 cm
- 2) Kertas label
- 3) Tabung reaksi untuk sample darah
- 4) Tabung sentrifuge untuk membuat plasma
- 5) Cawan Petri
- 6) S spuit untuk mengambil sample darah
- 7) Pipet eritrosit
- 8) Kamar hitung Improve Neubach
- 9) Mikroskop cahaya

#### **4.7 Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **4.7.1 Tempat penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya

##### **4.7.2 Waktu penelitian**

Waktu penelitian direncanakan pada bulan April – Mei 2009

##### **4.7.3 Tempat pemeriksaan laboratorium**

Pemeriksaan laboratorium dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya Jalan Karangmenjangan Surabaya.

#### **4.8 Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan data**

##### **1) Aklimatisasi**

Aklimatisasi hewan coba selama 7 hari terhadap air, makanan serta hawa di dalam laboratorium.

##### **2) Penimbangan berat badan**

Penimbangan berat badan dilakukan dua kali, sebelum aklimatisasi dan pada saat akan dilakukan perlakuan pada semua kelompok. Hewan coba ditimbang dengan menggunakan timbangan Torbal dalam satuan gram dengan ketelitian satu angka dibelakang koma. Penimbangan ditujukan untuk homogenitas berat badan tikus.

##### **3) Pemberian rebusan daun tembakau kering dan NaCl 0.9%**

Pemberian rebusan daun tembakau kering secara subkutan dengan dosis 0,6 ml/200g BB tikus, sekali sehari, selama 5 hari.

Pemberian NaCl 0.9% secara subkutan dengan dosis 0,6 ml/200g BB tikus, sekali, sehari selama 5 hari.

Setelah selesai pemaparan tikus dikembalikan pada sangkar masing-masing diberi makanan dan minuman secukupnya.

#### 4) Persyaratan etik

Implikasi etik pada tikus putih sebagai hewan coba mengikuti *animals ethic*. Hal yang perlu dilaksanakan sesuai etik antara lain perawatan tikus putih dalam kandang, pemberian makan minum, aliran udara ke dalam ruang kandang, perlakuan saat penelitian, pengambilan unit analisis penelitian dan pengorbanannya

#### 5) Pembiusan

Pembiusan dilakukan dengan menggunakan ether. Tikus dimasukkan ke dalam stoples kaca dan ditutup dengan kasa, kemudian larutan ether diteteskan ke dalam stoples tersebut. Tikus diangkat dari toples jika sudah tidak bergerak lagi (kira-kira  $\frac{1}{2}$  - 1 menit setelah ether diteteskan).

#### 6) Prosedur pengambilan darah

Darah tikus diambil setelah dilakukan pembiusan yang dilakukan dengan pengambilan langsung dari jantung sebanyak kurang lebih 5 ml.

Berikut adalah cara pengambilan darah pada tikus (Farris, 1962) :

- 1) Tikus yang telah dibius diletakkan pada lempeng logam untuk dilakukan pembedahan.

- 2) Pembedahan dilakukan dengan alat-alat bedah yang dimulai dengan membuka kulit sampai otot dengan gunting mulai daerah epigastrium sampai nampak jantung tikus.
- 3) Darah diambil sebanyak-banyaknya dari ventrikel dengan menggunakan spuit 5 ml untuk dilakukan pemeriksaan.
- 4) Tikus selanjutnya dikorbankan dengan cara satu tangan memegang tubuhnya sedang tangan yang lain untuk memanjangkan leher. Alternatif yang lain adalah dengan menekukkan kepala ke arah kaudal.

#### 4.9 Rancangan Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan program SPSS for *Windows XP* yang meliputi analisis statistik sebagai berikut :

- 1) Uji statistik deskriptif untuk mengetahui karakteristik data hasil pengukuran variabel sebelum dan setelah perlakuan.
- 2) Uji normalitas distribusi untuk mengetahui apakah distribusi data yang diperoleh tidak berbeda dengan distribusi data normal. Uji normalitas dilakukan dengan metode non parametrik (Uji *Kolmogorov-Smirnov*). Pengujian ini perlu dilakukan untuk memenuhi prasyarat uji lanjutan yang digunakan menggunakan analisis parametrik atau non parametrik.
- 3) Uji multivariat (Manova) :  
Uji multivariat dilakukan untuk uji beda respon masing-masing variabel baik pada data deskriptif maupun data respon akibat perlakuan di dalam tiap kelompok

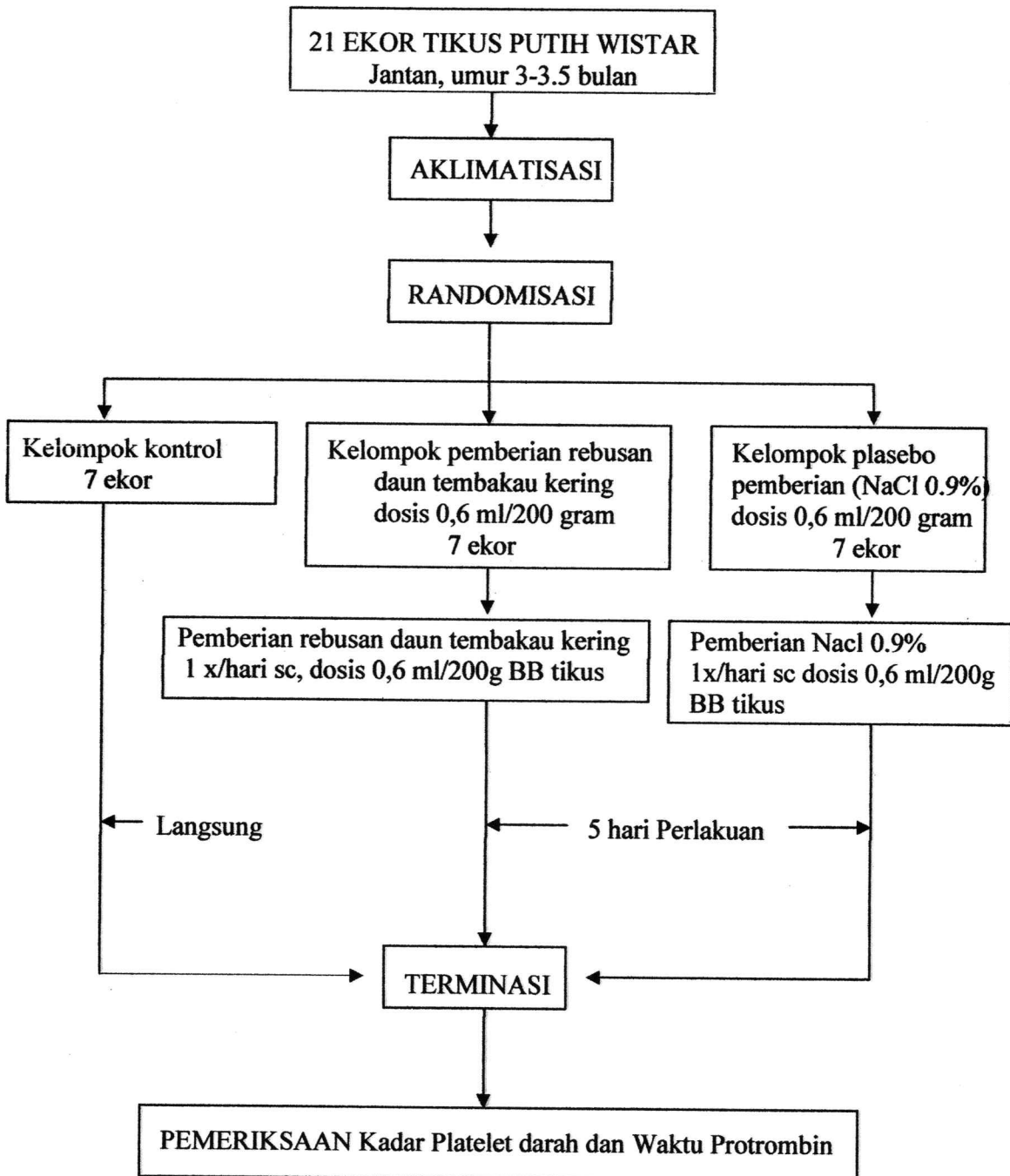
4) Uji univariat (Anova)

Uji univariat dilakukan untuk menentukan adanya perbedaan pada variabel tergantung antar kelompok.

5) Pairwise comparisons

Uji ini dilakukan untuk menentukan adanya perbedaan pada variabel tergantung antar kelompok perlakuan.

**4.10 Diagram Alur Penelitian**



## BAB 5

### ANALISIS HASIL PENELITIAN

#### 5.1 Data Penelitian

Data yang diperoleh dari hasil penelitian berupa kadar platelet darah ( $\mu\text{l}$ ) dan waktu protrombin (detik) yang didiskripsikan dan diuji dengan taraf signifikansi 5% dan diolah dengan program SPSS 15 dan *Systat for Window* untuk analisis diagram. Data penelitian yang diperoleh meliputi kadar platelet darah dan waktu protrombin kelompok kontrol. Kelompok yang diteliti adalah : kelompok dengan pemberian rebusan daun tembakau kering dosis 0,6 ml/200 mg BB tikus dan kelompok plasebo (NaCl 0.9%) dosis 0,6 ml/200 mg BB tikus.

Dari hasil uji statistik deskriptif (lampiran 7) diketahui bahwa dari kelompok kontrol variabel kadar platelet darah mempunyai rerata 476714,3 dan simpang baku 112608,0434. Kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering kadar platelet darah mempunyai rerata 923285,7 dan simpang baku 111369,8258. Kelompok plasebo (NaCl 0.9%) kadar platelet darah mempunyai rerata 1002429 dan simpang baku 137383,7171, seperti tampak pada tabel 5.1

Tabel 5.1 : Rerata dan simpang baku kadar platelet darah ( $\mu\text{l}$ ) menurut kelompok penelitian

Kelompok	Variabel	Rerata ( $\mu\text{l}$ )	Simpang Baku
Kontrol	Kadar platelet darah	476714,3	112608,0434
Rebusan daun tembakau kering	Kadar platelet darah	923285,7	111369,8258
Plasebo (NaCl 0.9%)	Kadar platelet darah	1002429	137383,7171



Hasil uji statistik deskriptif (lampiran 7) diketahui bahwa dari kelompok kontrol variabel waktu protrombin mempunyai rerata 15,6429 dan simpang baku 1,1559. Kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering waktu protrombin mempunyai rerata 16,3857 dan simpang baku 0,5699. Kelompok plasebo (NaCl 0.9%) waktu protrombin mempunyai rerata 15,5143 dan simpang baku 1,2694; seperti tampak pada tabel 5.2

Tabel 5.2 : Rerata dan simpang baku waktu protrombin (detik) menurut kelompok penelitian

<b>Kelompok</b>	<b>Variabel</b>	<b>Rerata (detik)</b>	<b>Simpang Baku</b>
Kontrol	Waktu protrombin	15,6429	1,1559
Rebusan daun tembakau kering	Waktu protrombin	16,3857	0,5699
Plasebo (NaCl 0.9%)	Waktu protrombin	15,5143	1,2694

## 5.2 Analisis dan Hasil Penelitian

Untuk melakukan analisis hasil penelitian dengan menggunakan statistik parametric, peneliti harus membuktikan dulu apakah data yang dianalisis itu distribusi normal atau tidak dengan menggunakan *One-sample Kolmogorov-Smirnov* (lampiran 8). Hasil uji normalitas variabel tergantung kadar platelet darah kelompok kontrol  $p : 0,314$ ; kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering  $p : 0,977$ ; kelompok plasebo (NaCl 0.9%)  $p : 1,000$ . Variabel waktu protrombin kelompok kontrol  $p : 0,813$ ; kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering  $p : 0,978$ ; kelompok plasebo (NaCl 0.9%)  $p : 0,988$ . Hasil dapat dilihat pada tabel 5.3 dan 5.4

Tabel 5.3 : Hasil uji normalitas data kelompok terhadap kadar platelet darah ( $\mu\text{l}$ )

Kelompok	Variabel	p
Kontrol	Kadar platelet darah	0,314
Rebusan daun tembakau kering	Kadar platelet darah	0,977
Plasebo (NaCl 0.9%)	Kadar platelet darah	1,000

Berdasarkan tabel 5.3 diatas menunjukkan bahwa data berdistribusi normal karena  $p > 0,05$ .

Tabel 5.4 : Hasil uji normalitas data kelompok terhadap waktu protrombin (detik)

Kelompok	Variabel	p
Kontrol	Waktu protrombin	0,813
Rebusan daun tembakau kering	Waktu protrombin	0,978
Plasebo (NaCl 0.9%)	Waktu protrombin	0,988

Berdasarkan tabel 5.4 diatas menunjukkan bahwa data berdistribusi normal karena  $p > 0,05$ .

Hasil uji *Multivariate* (lampiran 9), ditemukan *Hotelling's Trace*,  $p < 0,05$ , hal ini berarti adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok.

Hasil uji *Univariate* (lampiran 10) seperti tampak pada tabel 5.5 :

Tabel 5.5 : Hasil uji *Univariate* variabel kadar platelet darah dan waktu protrombin antar kelompok

Variabel	F	p
Kadar platelet darah	38,383	0,000
Waktu protrombin	1,420	0,268

untuk variabel kadar platelet darah ( $p : 0,000$ ), hal ini berarti bahwa ada peningkatan kadar platelet darah. Variabel waktu protrombin ( $p : 0,268$ ), hal ini berarti bahwa tidak ada peningkatan waktu protrombin.

Hasil uji *Pairwise Comparisons* (lampiran 11) seperti tampak pada tabel 5.6 dan 5.7, juga grafik 5.1 dan 5.2 :

Tabel 5.6 : Hasil uji beda variabel kadar platelet darah antar kelompok

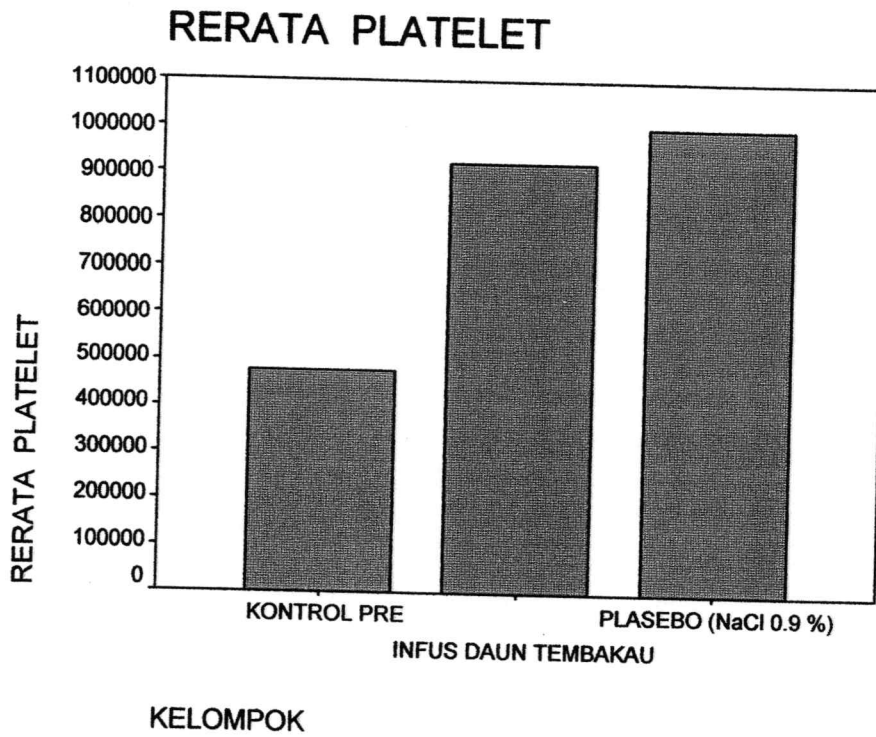
Kelompok		Mean Difference	Std. Error	p kadar platelet darah
Kontrol	Rebusan daun tembakau kering	-446571,43	64703,054	0,000
	Plasebo (NaCl 0.9%)	-525714,29	64703,054	0,000
Rebusan daun tembakau kering	Plasebo (NaCl 0.9%)	-79142,857	64703,054	0,237

Dari tabel diatas pada variabel kadar platelet darah, adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering ( $p < 0,05$ ); dan kelompok kontrol dengan kelompok plasebo (NaCl 0.9%) ( $p < 0,05$ ); tidak ada perbedaan antara kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering dengan kelompok plasebo (NaCl 0.9%) ( $p > 0,05$ ).

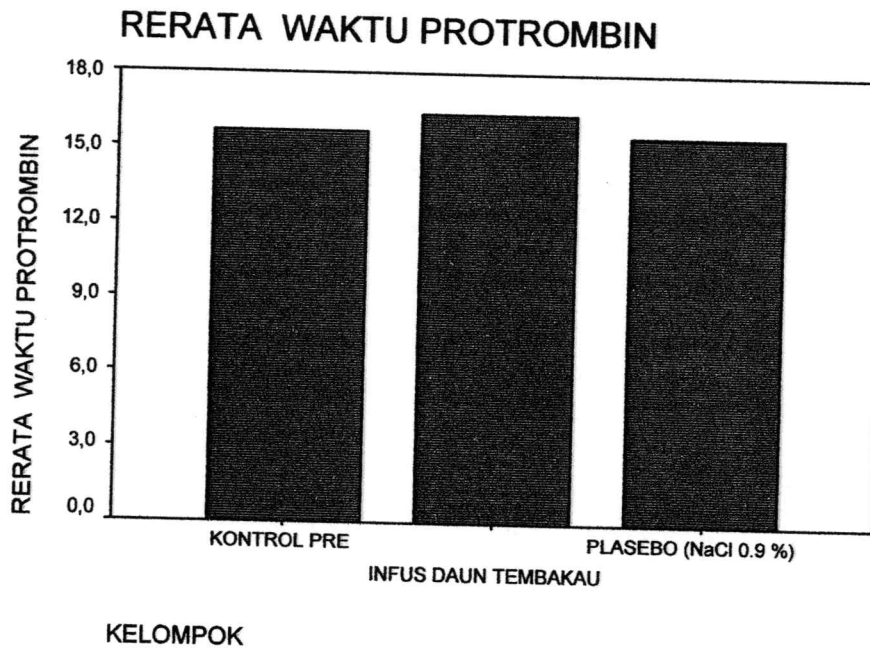
Tabel 5.7 : Hasil uji beda variabel waktu protrombin antar kelompok

Kelompok		Mean Difference	Std. Error	p waktu protrombin
Kontrol	Rebusan daun tembakau kering	-0,743	0,558	0,200
	Plasebo (NaCl 0.9%)	0,129	0,558	0,820
Rebusan daun tembakau kering	Plasebo (NaCl 0.9%)	0,871	0,558	0,136

Dari tabel diatas pada variabel waktu protrombin, untuk antar kelompok  $p > 0,05$ , hal ini berarti bahwa tidak ada perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering ( $p : 0,200$ ); antara kelompok kontrol dengan kelompok plasebo (NaCl 0.9%) ( $p : 0,820$ ); antara kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering dengan kelompok plasebo (NaCl 0.9%) (0,136).



Gambar 2.14 ; Diagram rerata kadar platelet darah antar kelompok



Gambar 2.15; Diagram rerata waktu protrombin antar kelompok

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek pemberian rebusan daun tembakau kering terhadap kadar platelet darah dan waktu protrombin. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratories yang memenuhi kriteria sebagai penelitian eksperimental murni (*true eksperimental*) karena adanya perlakuan, kelompok perlakuan, kelompok control dan randomisasi. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Separate Sample Pretest-Posttest Control Group Design*, karena pengukuran tergantung kadar platelet darah dan waktu protrombin dilakukan sebelum perlakuan (kelompok kontrol) dan sesudah perlakuan pada seluruh kelompok perlakuan, yaitu kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering dan plasebo (NaCl 0.9%) (Zainuddin, 2002).

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Rattus Norvegicus Galur Wistar*, jenis kelamin jantan, yang berumur 3 sampai 3,5 bulan dengan berat badan sekitar 150 – 250 gram. Pengambilan sampel darah langsung dari jantung sebanyak kurang lebih 3 ml.

Pengukuran variabel tergantung dilakukan untuk melihat efek pemberian rebusan daun tembakau kering. Pengambilan data *posttest* dilakukan 2-3 jam setelah perlakuan adalah berdasar waktu paruh nikotin (Brcic Karaconji, 2005; Hukkanen, 2005).

Analisis data untuk menjawab hasil penelitian dapat dirinci sebagai berikut ini. Untuk menggambarkan perubahan masing-masing variabel tergantung dilakukan analisis deskriptif pada data *pretest* dan *posttest* pada seluruh kelompok

perlakuan. Uji normalitas data dilakukan untuk melihat gambaran normalitas distribusi data variabel tergantung pada seluruh kelompok perlakuan karena uji normalitas dilakukan sebagai syarat untuk analisis selanjutnya. Hasil uji normalitas variabel tergantung untuk seluruh kelompok perlakuan baik data *pretest* dan *posttest* menunjukkan gambaran distribus normal ( $p > 0,05$ ; lihat tabel 5.3 dan 5.4).

Hasil uji *multivariate* (Manova) yang dilakukan untuk melihat adanya perbedaan antar kelompok pada variabel kadar platelet darah dan waktu protrombin menunjukkan ada perbedaan antar kelompok pada variabel kadar platelet darah dan waktu protrombin (*Hotelling's Trace*,  $p < 0,05$ ); lihat lampiran 9)

Hasil uji *univariate* (Anova) yang dilakukan untuk variabel tergantung kadar platelet darah ( $p : 0,000$ ). Hal ini menunjukkan ada peningkatan kadar platelet darah. Variabel tergantung waktu protrombin ( $p : 0,268$ ), hal ini menunjukkan tidak ada peningkatan waktu protrombin.

Untuk melihat respon perubahan variabel tergantung akibat perlakuan antar kelompok perlakuan dilakukan uji *Pairwise comparisons*. Hasil uji beda variabel tergantung kadar platelet darah kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering menunjukkan ada perbedaan yang bermakna ( $p : 0,00$ ) (lihat tabel 5.6 dan diagram 5.1). Hal ini menunjukkan bahwa nikotin yang terdapat dalam rebusan daun tembakau kering dapat mempengaruhi agregasi platelet dengan cara nikotin akan berikatan dengan reseptor kolinergik nikotik pada medulla adrenal, yang kemudian medulla adrenal mensekresi epinefrin (Hass,

1996; Basaloglu, 2003; Irene, 2005; VanderKaay, 2006). Rebusan daun tembakau kering diberikan secara subkutan sehingga dapat menimbulkan nyeri. Nyeri merupakan stressor bagi tikus sehingga dapat merangsang pelepasan hormon stres, yaitu katekolamin dan kortisol. Hormon katekolamin ini adalah epinefrin dan norepinefrin (VanderKaay, 2006). Epinefrin akan berikatan dengan  $\alpha_2AR$  (hanya terdapat pada platelet) sehingga menyebabkan; (1) G protein tipe inhibitory ( $G_i$ ) aktif (membentuk kompleks  $\alpha_i$ -GTP), kompleks  $\alpha_i$ -GTP secara langsung akan menghambat adenilil siklase sehingga menurunkan kadar cAMP, keadaan ini akan merangsang agregasi platelet (jumlah platelet yang terlibat agregasi meningkat) sehingga platelet sirkulasi menurun dan waktu protrombin meningkat, (2)  $\beta_i$  yang lepas dari  $\alpha_i$  akan berikatan dengan kompleks  $\alpha_s$ -GTP dengan adenilil siklase sehingga terjadi penurunan kadar cAMP yang akan merangsang agregasi platelet (Katzung, 2001). Jika terjadi agregasi, maka platelet yang terlibat dalam agregasi tersebut juga meningkat, sebaliknya akan terjadi penurunan platelet sirkulasi, akan tetapi epinefrin juga dapat memobilisasi sebagian besar platelet yang ada di limpa (*spleen*) ke dalam sirkulasi, sehingga kadarnya dapat meningkat lebih tinggi (Sacher, 2004)

Hasil uji beda variabel tergantung waktu protrombin kelompok pemberian rebusan daun tembakau kering menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ( $p : 0,200$ ) (lihat tabel 5.7 dan diagram 5.2). Bilamana platelet sirkulasi menurun mestinya waktu protrombin akan memanjang. Namun pembentukan benang-benang fibrin (yang dapat diukur dengan waktu protrombin) tidak hanya



dipengaruhi oleh kadar platelet darah namun juga dipengaruhi oleh faktor lain seperti faktor V, VII, X, protrombin dan fibrinogen (Guyton, 2000).

Hasil penelitian tersebut diatas dapat diasumsikan bahwa nikotin yang terdapat dalam rebusan daun tembakau kering dapat meningkatkan kadar platelet darah (trombositosis) sebagai akibat terjadinya mobilisasi platelet dari limpa (*Spleen*) (Sacher, 2004), selain itu juga dapat meningkatkan waktu protrombin, sehingga dapat menyebabkan terjadinya stroke, penyakit jantung koroner (PJK) sebagai akibat terjadinya tromboemboli.

## **BAB 7**

### **PENUTUP**

#### **7.1 Kesimpulan**

- 1) Rebusan daun tembakau kering meningkatkan kadar platelet darah
- 2) Rebusan daun tembakau kering tidak meningkatkan waktu protrombin

#### **7.2 Saran**

- 1) Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan waktu perlakuan lebih lama
- 2) Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan dosis yang berbeda

## DAFTAR PUSTAKA

- Aditama, Tjandra Yoga, 1992. *Rokok dan Kesehatan*, Jakarta, Penerbit Universitas Indonesia.
- Argacha JF, Adamopoulos D, Gujic M, Fontaine D, Amyoi N, berumboon G, 2008. *Acute Effects of Passive Smoking on Peripheral Vascular Function*, Hypertension (51) <http://hyper.ahajournals.org>, pp. 1506-1511.
- Aronow WS, 1980. *Effect of Non-nictine Cigarettes and Carbon Monoxide on Angina*, 61, <http://circ.ahajournals.org>, pp. 262-265.
- Bahar, Asril, 2002. *Bahaya Merokok*, [www.katamutiara.info](http://www.katamutiara.info), Diakses pada tanggal 1 Februari 2009 pukul 15.00 WIB.
- Banga HS, Simons ER, Brass LF, Rittenhouse SE, 1986. *Activation of phospholipase A and C in human platelets exposed to epinephrine : role of glycoprotein Iib/IIIa and dual role of epinephrine*, Proc Natl Acad Sci USA, 83 (2), p. 9197-9201.
- Basaloglu HK, Yurtseven ME, Basaloglu H, Turgut M, Uysal A, 2003. *Ultrastructural Effects of Nicotine Administration on Sympathetic Nervous System of Arnal Gland Meulla in Rats: A Qualitative Study By Electron Microscopy*, Ege Tip Dergisi 42 (3), pp. 149-153
- Ben-Ami Sela, 2002. *Cigarette Smoking and Endothelial Damage*, IMAJ 2002;4, pp.1077-1079.
- Becker WM, Reece JB, Poenie MF, 1999. *The World of The Cell*, 3<sup>rd</sup> ED., The Benjamin/Cumming Publi Com, California, pp.278-288.
- Benowitz NI, 1997. *Systemic Absorption and Effects of Nicotine from Smokeless Tobacco*, Adv Dent Res 11(3), pp. 136-340.
- Berne RM, Levy MN, 1992. *Physiology*, 3<sup>rd</sup> Ed., International Edition, pp.339-357, 971-977.
- Bonnefoy A, Liu Q, Legrand C, Frojmovic MM, 2003. *Effeiciency of Platelet Adhesion to Fibrinogen Depends on both Cell Activation and Flow*, Biophys J., 78 (6), pp. 2834-2843.
- Brcic Karaconji, Irena, 2005. *Facts About Nicotine Toxicity*, Arh Hig Rada Toksikol. pp. 363-370.

- Butkiewicz AM, Kemora C, Dymicka PV, Matowicka KJ, Keviona H, Radziwon P, 2006. *Does Smoking Affect Thrombocytopoiesis and Platelet Activation in Women and Men?*, *Advances in Medical Sciences*, vol 51, pp.123-126.
- Camacho A, Dimsdale JE, 2000. *Platelet and Psychiatry : Lessons Learned From Old and NEW Studies*, *Psychosom Med*, 62 (3), pp. 326-336
- Cass N, Cass L, 1996. *Pharmacology for Anaesthetic*, Churchill Livingstone, New York, pp. 119-125.
- Chow TW, Hellums JD, Moake JL, Kroll MH, 1992. *Shear stress-induced von Willebrand factor binding to platelet glycoprotein Ib initiates calcium influx associated with aggregation*, *American Society of Hematology*, 80 (1), pp. 113-120.
- Cormier A, Paas Y, Zini R, Lagrue G, Changeux JP, 2004. *Long-Term Exposure to Nicotine Modulates the Level and Activity of Acetylcholine Receptors in White Blood of Smokers and Model Mice*, *Molecular Pharmacology*, Vol. 66, No.6, <http://molpharm.aspetjournals.org>, pp. 1712-1718.
- Fox SI, 1999. *Human Physiology*, 6<sup>th</sup> Ed., Lange Medical Books/McGraw Hill Medical Publishing Division, San Francisco, pp. 344-348, 514-527.
- Freeman K, Farrow S, Schmaier A, Freedman R, Schork T, Lockette W, 1995. *Genetic Polymorphism of the  $\alpha_2$ -adrenergic receptor is associated with increased platelets aggregation, baroreceptor sensitivity, and salt excretion in normotensive human*. *Am J Hypertens*, 8(2), pp. 863-869.
- Ganong WF, 2001. *Review of Medical Physiological*, 20<sup>th</sup> Ed., Lange medical Books/McGraw Hill Medical Publishing Division, San Francisco, pp. 344-348, 514-527.
- Gear ARL, Suttitanamongkol S, Viisoreanu D, Grabowska RKP, Raha S, Camerini D, 2001. *Adenosin diphosphate strongly potentiates the ability of the chemokines MDC, TARC, and SDF-1 to stimulate platelet function*, *Blood J.*, 97 (4), pp. 937-945
- Guyton AC, Hall JE, 2000. *Textbook of Medical Physiology*, 10<sup>th</sup> Ed., WB., Saunders Comp, New York, pp.419-429, 699-707.
- Hass M, Wolfgang K, 1996. *Nicotine and Sympathetic Neurotransmission*, *cardiovascular Drugs and Therapy*;10, 657-665

- Hioki Y, Aoki A, Kawono K, Homori M, Hasumura Y, Yasomu T, Maki A, 2001. *Acute Effects of Cigarette Smoking on Platelet-Dependent Trombin Generation*, <http://www.idealibrary.com.on>, pp. 56-61.
- Hukkanen J, Jacob P, Benowitz NL, 2005. *Metabolism and Disposition Kinetics of Nicotine*, *Pharmacol, Rev.* 57, pp.79-115.
- Italiano JE, Lecine P, Shivdasani RA, Hartwig JH, 1999. *Blood Platelet Are Assembled Principally at the Ends of Proplatelets Processes Produced by Differentiated Megakaryocyte*, *Cell Biology J.*, 147 (6), pp. 1299-1312.
- Jarvis MJ, Foulds J, Feyerabend C, 1992. *Exposure to passive smoking among bar staff*. *Br J Addict.* 87(1), pp. 111-113.
- Johnson LR, 1992. *Essential Medical Physiology*, Raven Press, New York, pp. 599-603
- Kanel RV, Mills PJ, Fainman C, Dimsdale JE, 2001. *Effect of Psychological Stress and Psychiatric Disorder on Blood Coagulation and Fibrinolysis*, *Psychosom Med*, 63 (4), pp. 531-544.
- Katzung BG, 2001. *Basic and Clinical Pharmacology*, 8<sup>th</sup> Ed., Lange Medical Book, Prentice Hall Int., USA, pp.124-131.
- Kobilka BK, Matsui H, Kobilka TS, Yang TL, Feng TL, Francke U, Caron MG, 1987. *Cloning, Sequencing and Expression of the Gene Coding for Human Platelet  $\alpha_2$ -adrenergic receptor*, *Scie*, 238, pp. 650-656.
- Kusumawati, Diah, 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*, Cetakan pertama, Gajah Mada University Press, pp. 11-12, 22, 67, 87.
- Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM, 1999. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 10<sup>th</sup> Ed., Lippincott William & Wilkins – A Wolters Kluwer Comp, Baltimore, pp. 1562-1569.
- Lopez-Johnston JC, Bosch ND, Scanrone H, Rodriguez A, 2007. *Inhibition of Adrenalin and Adenosin Diphosphate Induced Platelet Aggregation by Lansberg's hognose Pit Viper (Porthidium Lansbergii Hutmanni) Venom*, *Ann Hematol* 86, pp. 879-885.
- Moccia F, Frost C, Berra-Romani R, Tanzi F, Adam DJ, 2003. *Expression and Function of Neuronal Nicotinic Ach Receptors in Rat Microvascular Endhoteial Cells*, *Am J Physiol eart Circ Physiol* 286, <http://www.ajpheart.org>, pp. 486-491.

- Mundal HH, Hjemdahl P, Gjesdal K, 1995. *Acute Effect of Low Dose Nicotine Gum on Platelet Function in Non-smoking Hypertensive and Normotensive Men*. Eur J Clin Pharmacol (1995) 47: 411-416
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, 2000. *Biokimia Harper*, EGC, Jakarta, hal. 563, 718
- Nakamura T, Ariyoshi H, Kambayashi J, Ikeda M, Shinoki N, Kawasaki T, 1997. *Signal Transduction System in Ephineprine Stimulated Platelets, Comparison between Epinephrine Sensitive and Intensitive Platelets*, Tromb Res, 85, pp.83-93.
- Nilson UK, Svenson SPS, Grenegard M, 2002. *Synergistic activation of human platelets by lyphosphatidic acid and adrenalin*, Haematologica, 87 (7), <http://www.haematologica.ws.htm>, pp. 730-779.
- Raupach T, Schafer K, Konstantinides S, Andreas S, 2005. *Secondhand Smoke as an Acute Threat for the Cardiovascular System: a Change in Paradigm*, <http://eurheartj.oxfordjournals.org/misc/term.dtl>, pp. 386-392.
- Rubenstein D, Jesty J, Bhiestein D, 2004. *Differences Between Mainstream and Sidestream Cigarette Smoke Extracts and Nicotine in the Activation of Platelet Under Static and Flow Conditions*, <http://www.circulationaha.org>, pp. 78-83.
- Saccone, Scott F; Hinrichs, Anthony L; Saccone, Nancy L; Chase, Gary A; Konvicka, Karel, et all, 2007. *Cholinergic Nicotine Receptor Genes Implicated in a Nicotine Dependence Association Study Targeting 348 Candidate Genes with 3713 SNPs*, Human Molecular Genetics, 2007, Vol.16, No.1, pp.36-49.
- Sacher RA, McPherson RA, 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, Alih Bahasa : Pedit BU, Wulandari D, Edisi 11, Jakarta, EGC.
- Shahrokhi S, Asgari S, Khosrowi AR, Naderi GA, Taheri M, 2006. *The Effect of Nicotine Gum on Blood Pressure and Heart Rate*, ARYA Journal 2006 (Winter); vol I, Issue 4, pp. 252-255.
- Shapiro AD, 1999. *Platelets Function Disorder* , in Treatment Hemophilia Monograph Series, no. 19, World Federation of Hemophili, pp. 1-11.
- Sherwood, Lauralee, 2001. *Human Physiology: From Cells to Systems*, Cetakan I, Jakarta, EGC.

- Shinozaki N, Yuasa T, Takata S, 2008. *Cigarette Smoking Augments Sympathetic Nerve Activity in Patients With Coronary Heart Disease*, *Int Heart J.*, pp. 261-272
- Soebrata GR, 1995. *Penuntun Laboratorium Klinik*, DIAN RAKYAT, Jakarta, pp. 35-37, 58-60.
- Spalding A, Vaitkevicius H, Dill S, Mackenzi S, Schmaier A, Lockette W, 1998. *Mechanism of Epineprine-Induced Platelet Aggregation*, *Hypertension*, 31, pp. 603-607.
- Sperelaktis N, 1998. *Cell Physiology*, 2<sup>nd</sup> Ed., USA Academic Press, New York, pp. 303.
- Stafford RS, Becker CG, 1996. *Cigarette smoking and atherosclerosis*. In: Fuster V, Ross R, Topol EJ, eds. *Atherosclerosis and coronary artery disease*. Philadelphia: Lippincott-Raven, pp. 303-25.
- Steen VM, Holmsen H, Aarbakke G, 1993. *The Platelet Stimulating Effect of Adrenaline Through  $\alpha_2$ -Adrenergic Receptors Requires Simultaneous Activation by a True Stimulatory Platelet Agonist. Evidence that Adrenaline per se does not induce Human Platelet Activation in Vitro*, *Thromb Haemost*, 70, pp. 506-513.
- Stokes KY, 2007. *NAD(P)H Oxidase: where there's Smoke, there's Fire*, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292, <http://www.ajpheart.org>, pp.119-120
- Sugiyono, 2007. *Metode Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif*. Bandung, Alfabeta, hlm. 82.
- Kato T, Inove T, Marooka T, Yashimoto N, 2006. *Short-Term Passive Smoking Causes Endothelial Dysfunction Via Oxidative Stress in Nonsmokers*, <http://cjpgp.nrc.ca> on 5 July 2006, pp. 523-529
- Vander A, Sherman J, Luciano D, 2001. *Human Physiology, The Mechanism of Body Function*, McGraw Hill, San Francisco, pp.219-221, 380, 452-460
- VanderKaay, Mellisa M, 2006. *The Effects of Nicotine and Nicotine Withdrawal on Cardiovascular Reactivity and Affective in a Sample of Habitual and Occasional Cigarette Smokers*, A Dissertation Presented to the Faculty of the College of Arts and Sciences of Ohio University, pp. 42-83

- Wang X, Yanagi S, Yang C, Inatome R, Yamamura H, 1997. *Tyrosine phosphorylation and Syk activation are involved in thrombin-induced aggregation of epinephrine-potentiated platelet*, J Biochem, Tokyo, 121, pp. 325-330.
- Zainuddin M, 2002. *Metodologi Penelitian*, Program Pascasarjana Universitas Airlangga, pp. 23-29, 38-52
- Zhang WZ, Venardos K, Dusting JC, Kayne DM, 2006. *Adverse Effects of Cigarette Smoke on NO Bioavailability; Role of Arginine Metabolism and Oxidative Stress*, Hypertension 2006;48, <http://www.hypertensionaha.org>, pp. 278-285



## Lampiran 1

**KONVERSI PERHITUNGAN DOSIS PADA HEWAN UNTUK BEBERAPA  
JENIS HEWAN DAN MANUSIA (Kusumawati, 2004)**

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1.5 g	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 g	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1.0	7.0	2.25	27.8	29.7	64.1	124.2	387.9
Tikus 200 g	0.14	1.0	1.74	3.9	4.2	9.2	17.8	56.0
Marmot 400 g	0.08	0.57	1.0	2.25	2.4	5.2	10.2	31.5
Kelinci 1.5 g	0.04	0.25	0.44	1.0	1.08	2.4	4.5	14.2
Kucing 2 kg	0.03	0.23	0.41	0.92	1.0	2.2	4.1	13.0
Kera 4 kg	0.016	0.11	0.19	0.42	0.45	1.0	1.9	6.1
Anjing 12 g	0.008	0.06	0.10	0.22	0.24	0.52	1.0	3.1
Manusia 70 kg	0.0026	0.018	0.031	0.07	0.076	0.16	0.32	1.0

## Lampiran 2

**VOLUME MAKSIMAL YANG DAPAT DIBERIKAN PADA BEBERAPA  
HEWAN COBA (Ritchel, 1974)**

Spesies	Subkutan	Intramuscular	Intraperitoneal	Intravena	Per oral
Mencit 20-30 g	0.5-1 ml	0.05 ml	1 ml	0.5 ml	1 ml
Tikus 100 g	2-5 ml	0.1 ml	2-5 ml	1 ml	5 ml
Hamster 50 g	2.5 ml	0.1 ml	1-2 ml	0.3 ml	2.5 ml
Kelinci 2.5 kg	5-10 ml	0.5-1 ml	10-20 ml	5-10 ml	20 ml
Kucing 3 kg	5-10 ml	1 ml	10-20 ml	5-10 ml	50 ml
Anjing 5 kg	10 ml	5 ml	20-50 ml	10-20 ml	100 ml
Merpati 3 kg	2 ml	0.5 ml	2 ml	2 ml	10 ml

## Lampiran 3

**Perhitungan Dosis Nikotin Dalam Rebusan Daun Tembakau Kering**

## 1. Perhitungan dosis nikotin :

Dosis nikotin yang terdapat dalam rebusan daun tembakau kering pada tikus adalah 2 mg/kg/hari yang diinjeksikan secara subkutan (Basaloglu, 2003) atau 0,4 mg/200 gram BB tikus atau 0,2 mg/100 gram BB tikus.

## 2. Cara membuat rebusan :

1) Ambil daun tembakau kering (tembakau Madura) 10 gram ditambah 100 ml aquadest dimasukkan dalam panci, kemudian direbus sampai suhu 90°C selama 15 menit, kemudian disaring dengan kain flannel, sehingga didapatkan sediaan rebusan daun tembakau kering 10%.

2) Kadar nikotin dalam tembakau Madura adalah 3,26% (Rahmad, 2007)

## 3) Perhitungan :

Sediaan Rebusan daun tembakau Madura adalah 10%

$$\rightarrow \frac{3,26}{100} \times 10 \text{ gram} = 0,326 \text{ gram (326 mg)}$$

Diasumsikan bahwa kadar nikotin dalam daun tembakau adalah 1%

$$\rightarrow \frac{1}{100} \times 326 \text{ mg} = 3,26 \text{ mg}$$

4) Dosis nikotin untuk tikus : 0,4 mg/200 gram BB tikus

5) Asumsi rebusan daun tembakau kering yang diberikan secara sc adalah 0,5 ml, maka 0,5 x 14 ekor tikus x 5 hari = 35 ml. Agar perhitungani lebih mudah dijadikan 40 ml.

6) Ambil rebusan daun tembakau kering sebanyak 8 ml pada sediaan tersebut, kemudian ditambah 32 ml aquadest sehingga didapatkan sediaan rebusan daun tembakau kering sebanyak 40 ml.

7) Perhitungan dosis yang diberikan

$$\rightarrow \frac{8}{40} \times 3,26 \text{ mg} : 0,652 \text{ mg/ml}$$

40

$$\rightarrow \frac{0,4}{0,652} = \frac{X}{1}$$

0,652 1

$$\rightarrow X = \frac{0,4}{0,652}$$

0,652

$$\rightarrow X = 0,6 \text{ ml}$$

$$\rightarrow \text{Jadi } 0,4 \text{ mg} \sim 0,6 \text{ ml}$$

8) Rebusan daun tembakau kering yang setiap kali diinjeksikan secara subkutan adalah 0,6 ml

#### Lampiran 4

##### **Pemeriksaan Jumlah Platelet dengan cara Rees dan Ecker (Soebrata, 1995)**

1. Menyiapkan larutan Rees Ecker yang berisi natrium sitrat 3.8 gram, larutan formaldehyde 40% 2 ml; brilliantcresylblue 30 mg; aquadest 100 ml. Larutan disaring terlebih dahulu sebelum digunakan.
2. Menghisap cairan Rees Ecker dengan pipet eritrosit sampai garis tanda "1" dan membuang lagi cairan tersebut.
3. Menghisap darah sampai tanda "0.5" dan cairan Rees Ecker sampai "101" dan mengocok segera selama 3 menit
4. Meletakkan kamar hitung Improve Neubauer yang bersih dan kering beserta kaca penutup dalam posisi mendatar di atas meja
5. Membuang semua cairan yang ada pada batang pipet eritrosit (3 atau 4 tetes), kemudian menyentuhkan ujung pipet dengan sudut 30°C pada permukaan kamar hitung dengan menyinggung pinggir kaca penutup. Biarkan kamar hitung terisi cairan secara perlahan-lahan dengan daya kapilaritasnya sendiri, dan biarkanlah kamar hitung yang telah diisi dengan sikap datar dalam cawan Petri selama 10 menit agar platelet mengendap
6. Menghitung seluruh platelet dalam seluruh bidang kasar di tengah-tengah ( $1 \text{ mm}^2$ ) menggunakan lensa obyektif kasar
7. Jumlah yang diperoleh dikalikan 1000 akan menghasilkan jumlah platelet  $\mu\text{l}$  darah
8. Jumlah platelet normal adalah 150.000 – 400.000/ $\mu\text{l}$  darah

## Lampiran 5

### **Pemeriksaan Waktu Protrombin dengan cara Quick (Soebrata, 1995)**

1. Membuat Plasma
  - 1.1 Menyiapkan tabung sentrifuge, kemudian ke dalam tabung sentrifuge yang bergaris dimasukkan 0.5 ml larutan natrium sitrat 3.8%.
  - 1.2 Melakukan pungsi vena dan darah yang telah diperoleh tadi dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge sebanyak 3 ml, kemudian dicampur dengan rata.
  - 1.3 Tabung sentrifuge dipusingkan selama 30 menit dengan kecepatan 3000 rpm, selanjutnya memisahkan plasma dari sel-sel darah. Bila plasma tidak dapat segera diperiksa, maka plasma dapat disimpan di dalam lemari es, namun mesti diingat bahwa pemeriksaan harus dilakukan dalam waktu 2 jam setelah darah diambil.
  
2. Penetapan
  - 2.1 Menyiapkan tabung serologi 13 x 10 mm, dimasukkan ke dalam air bersuhu 37° C.
  - 2.2 Ke dalam tabung serologi dimasukkan 0.1 ml plasma dan ditunggu sampai plasma bersuhu 37° C pula.
  - 2.3 Kemudian menambah tromboplastin ke dalam tabung dan mencampurnya.
  - 2.4 Selanjutnya ke dalam campuran itu ditambahkan 0.1 ml larutan CaCl<sub>2</sub> 0.22%. Stopwatch dijalankan tepat pada saat larutan CaCl<sub>2</sub> dimasukkan, dan dicampur.
  - 2.5 Ditunggu selama 10 detik kemudian diperiksa apakah sudah terbentuk fibrin, dengan cara berkali-kali memancing menggunakan kaitan logam dalam campuran tadi.

## Lampiran 6

**Data Hasil Pengukuran Kadar Platelet Darah dan Waktu Protrombin Pada Masing-masing Kelompok**

**1. KELOMPOK KONTROL**

SAMPEL	VARIABEL	
	KADAR PLATELET	WAKTU PROTROMBIN
1	439.000	16"
2	478.000	15.5"
3	405.000	16.0"
4	447.000	15.3"
5	421.000	13,6"
6	423.000	17,5"
7	727.000	15.7"

**2. KELOMPOK REBUSAN DAUN TEMBAKAU KERING**

SAMPEL	VARIABEL	
	KADAR PLATELET	WAKTU PROTROMBIN
1	954.000	16.7"
2	904.000	15.5"
3	736.000	16.0"
4	1.049.000	17.0"
5	1.059.000	16.0"
6	889.000	17.0"
7	872.000	16.5"

**3. KELOMPOK PLASEBO (NaCl 0.9%)**

SAMPEL	VARIABEL	
	KADAR PLATELET	WAKTU PROTROMBIN
1	962.000	14.0"
2	881.000	17.5"
3	1.058.000	16.5"
4	1.005.000	15.2"
5	1.180.000	15.7"
6	793.000	15.7"
7	1.138.000	14.2"

## Lampiran 7

**Hasil Analisis Deskriptif****Descriptive Statistics**

	KELOMPOK	Mean	Std. Deviation	N
WAKTU PROTROMBIN	KONTROL PRE	15,6429	1,1559	7
	INFUS DAUN TEMBAKAU	16,3857	,5699	7
	PLASEBO (NaCl 0.9 %)	15,5143	1,2694	7
	Total	15,8476	1,0661	21
PLATELET	KONTROL PRE	476714,3	112608,0434	7
	INFUS DAUN TEMBAKAU	923285,7	111369,8258	7
	PLASEBO (NaCl 0.9 %)	1002429	137383,7171	7
	Total	800809,5	263492,6221	21



## Lampiran 8

## Hasil Uji Normalitas

## KELOMPOK = KONTROL

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		WAKTU PROTRO MBIN	PLATELET
N		7	7
Normal Parameters a,b	Mean	15,6429	476714,28
	Std. Deviation	1,1559	112608,05
Most Extreme Differences	Absolute	,241	,363
	Positive	,236	,363
	Negative	-,241	-,262
Kolmogorov-Smirnov Z		,636	,961
Asymp. Sig. (2-tailed)		,813	,314

- a. Test distribution is Normal.  
 b. Calculated from data.  
 c. KELOMPOK = KONTROL PRE

## KELOMPOK = REBUSAN DAUN TEMBAKAU KERING

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		WAKTU PROTRO MBIN	PLATELET
N		7	7
Normal Parameters a,b	Mean	16,3857	923285,69
	Std. Deviation	,5699	111369,83
Most Extreme Differences	Absolute	,179	,180
	Positive	,179	,140
	Negative	-,151	-,180
Kolmogorov-Smirnov Z		,474	,475
Asymp. Sig. (2-tailed)		,978	,977

- a. Test distribution is Normal.  
 b. Calculated from data.  
 c. KELOMPOK = INFUS DAUN TEMBAKAU

**KELOMPOK = PLASEBO (NaCl 0.9 %)****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		WAKTU PROTRO MBIN	PLATELET
N		7	7
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	15,5143	1002428,6
	Std. Deviation	1,2694	137383,72
Most Extreme Differences	Absolute	,169	,124
	Positive	,169	,098
	Negative	-,130	-,124
Kolmogorov-Smirnov Z		,448	,328
Asymp. Sig. (2-tailed)		,988	1,000

- a. Test distribution is Normal.  
b. Calculated from data.  
c. KELOMPOK = PLASEBO (NaCl 0.9 %)

## Lampiran 9

## Hasil Uji Multivariat (Manova)

Multivariate Tests<sup>c</sup>

Effect		Value	F	Hypot hesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	,997	2990,277 <sup>a</sup>	2,000	17,000	,000
	Wilks' Lambda	,003	2990,277 <sup>a</sup>	2,000	17,000	,000
	Hotelling's Trace	351,797	2990,277 <sup>a</sup>	2,000	17,000	,000
	Roy's Largest Root	351,797	2990,277 <sup>a</sup>	2,000	17,000	,000
KEL	Pillai's Trace	,942	8,012	4,000	36,000	,000
	Wilks' Lambda	,162	12,618 <sup>a</sup>	4,000	34,000	,000
	Hotelling's Trace	4,531	18,124	4,000	32,000	,000
	Roy's Largest Root	4,385	39,461 <sup>b</sup>	2,000	18,000	,000

a. Exact statistic

b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.

c. Design: Intercept+KEL

## Lampiran 10

**Hasil Uji Univariat (Anova)****Univariate Tests**

Dependent Variable		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
WAKTU PROTROMBIN	Contrast	3,098	2	1,549	1,420	,268
	Error	19,634	18	1,091		
PLATELET	Contrast	1,12E+12	2	5,624E+11	38,383	,000
	Error	2,64E+11	18	1,465E+10		

The F tests the effect of KELOMPOK. This test is based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

## Lampiran 11

## Hasil Pairwise Comparisons

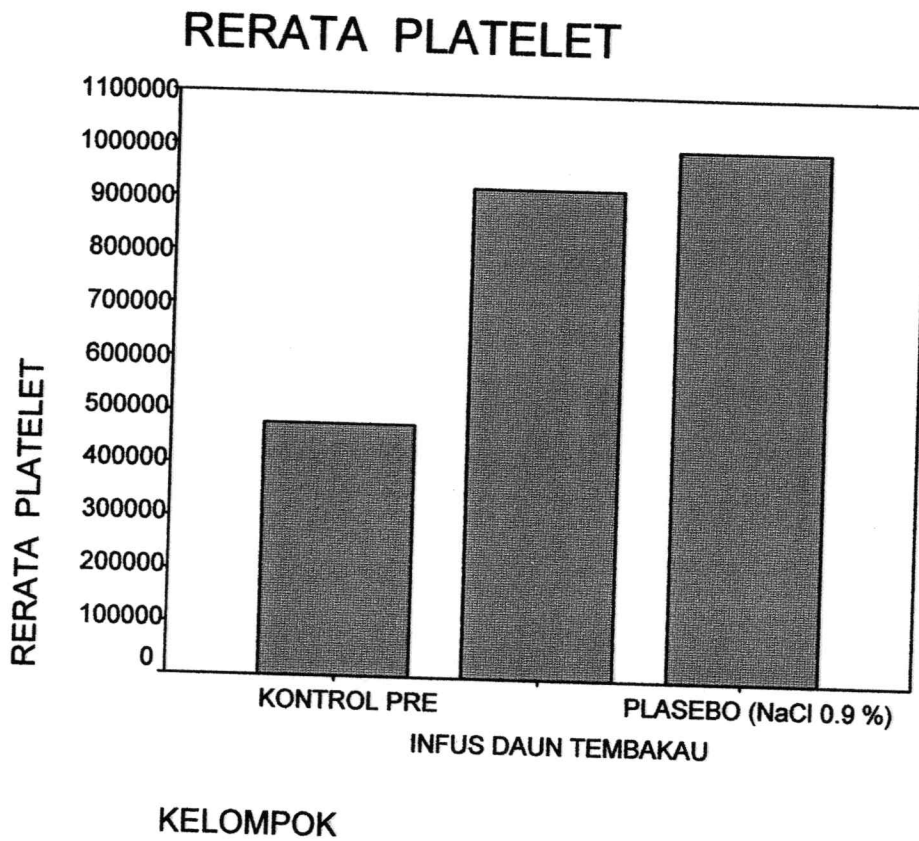
## Pairwise Comparisons

Dependent Variable	(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. <sup>a</sup>
WAKTU PROTROMBIN	KONTROL PRE	INFUS DAUN TEMBAKAU	-,743	,558	,200
		PLASEBO (NaCl 0.9 %)	,129	,558	,820
	INFUS DAUN TEMBAKAU	PLASEBO (NaCl 0.9 %)	,871	,558	,136
PLATELET	KONTROL PRE	INFUS DAUN TEMBAKAU	-446571,43	64703,054	,000
		PLASEBO (NaCl 0.9 %)	-525714,29	64703,054	,000
	INFUS DAUN TEMBAKAU	PLASEBO (NaCl 0.9 %)	-79142,857	64703,054	,237

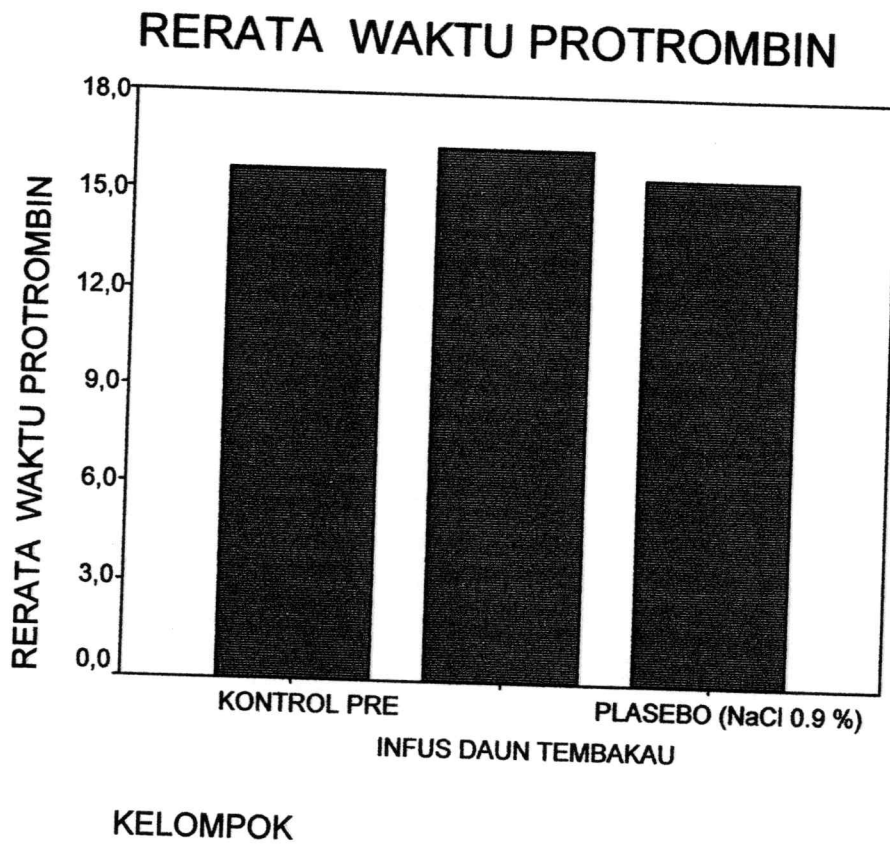
Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

## Lampiran 12

**Diagram Respon Perubahan Akibat Perlakuan Masing-masing Variabel  
Setiap Kelompok**

Gambar 2.14 : Diagram rerata kadar platelet darah pada tiap kelompok



Gambar 2.15 : Diagram rerata waktu protrombin pada tiap kelompok



**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
("ETHICAL CLEARANCE")**

**No. 12/EC/KEPK/FKUA/2009**

KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA, TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN BERJUDUL :

**Efek Pemberian Infusum Daun Tembakau kering Terhadap Kadar Platelet Darah dan Waktu Protrombin Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar**

PENELITI UTAMA :

**Fahrur Nur Rosyid, S.Kep.Ns**

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN :

**Lab. Ilmu Biokimia dan Lab. Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Unair**

**DINYATAKAN LAIK ETIK.**



Surabaya, 20 Agustus 2009

*[Signature]*  
Prof. H.M. Sajid Darmadipura, dr., SpS, SpBS