

**PENGARUH FREKUENSI PAPARAN ASAP ROKOK
TERHADAP JUMLAH MONOSIT
(Studi Eksperimental Pada Tikus *Rattus Novergicus* Yang Diberi Vitamin D)**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Disusun Oleh:

Nala Qothrunnadaa Azzahra

30101900138

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2023**



SKRIPSI

**PENGARUH FREKUENSI PAPARAN ASAP ROKOK TERHADAP JUMLAH
MONOSIT**

(Studi Eksperimental Pada Tikus Rattus Novergicus Yang Diberi Vitamin D)

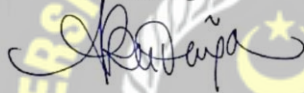
Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Nala Qothrunnadaa Azzahra
30101900138

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Pada tanggal 14 Februari 2023
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



dr. Arini Dewi Antari, M. Biomed

Penguji I



Dr. dr. Cholidiah, M. Kes

Pembimbing II



dr. Kamilia Dwi Utami, M. Biomed

Penguji II



dr. Ulfah Dian Yndravani, M. sc

Semarang, 14 Februari 2023



Dr. dr. Setyo Trisnadi, Sp.KF, SH

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nala Qothrunnadaa Azzahra

NIM : 30101900138

Dengan ini menyatakan bahwa Skripsi yang berjudul:

“PENGARUH FREKUENSI PAPARAN ASAP ROKOK TERHADAP JUMLAH MONOSIT (Studi Eksperimental Pada Tikus *Rattus Novergicus* Yang Diberi Vitamin D)”

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar skripsi orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 14 Februari 2023

Yang menyatakan,



SP. 10.000 RUP. 10000
METERAI TEMPEL
BOA58AKX291474480

Nala Qothrunnadaa Azzahra

PRAKATA

Assalamualaikum Warohmatullahi Wabarokatuh

Segala puji bagi Allah yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, atas izin, berkat dan rahmat Allah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Frekuensi Paparan Asap Rokok Terhadap Jumlah Monosit (Studi Eksperimental pada Tikus *Rattus Novergicus* yang diberi Vitamin D)” sebagai salah satu syarat mendapatkan gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Pada kesempatan kali ini penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. dr. Setyo Trisnadi S.H., Sp.KF., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang
2. Dr. Arina Dewi Antari, M. Biomed., selaku dosen pembimbing 1 dan dr. Kamilia Dwi Utami, M. Biomed., selaku dosen pembimbing 2 yang telah sabar memberikan bimbingan dan penuh perhatian dan kesabaran serta memberikan saran dan motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan tepat waktu.
3. Dr. dr Chodidjah, M. Kes., selaku dosen penguji 1 dan dr. Ulfah Dian Indrayani, M.Sc., selaku dosen penguji 2 yang telah memberikan masukan dan saran yang dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini hingga akhir.

4. Kepala dan staff Laboratorium IBL FK Unissula yang telah membantu dan menyediakan tempat dari awal penelitian hingga akhir.
5. Kedua orangtua dan adik penulis yang selalu memberikan kasih sayang, doa, motivasi dan dukungan yang tulus dalam setiap langkah hidup penulis.
6. Teman-teman seperjuangan dan semua pihak yang telah ikut membantu dalam penyelesaian skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna mengingat keterbatasan penulis. Oleh karena itu, koreksi, saran dan kritikan yang bersifat membangun sangat diharapkan penulis untuk memperbaiki skripsi ini. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi perkembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang kedokteran umum.

Akhir kata, semoga dukungan dan bantuan yang telah diberikan oleh semua pihak, mendapatkan keberkahan dan ridho dari Allah SWT.

Wassalamualaikum Warohmatullahi Wabarokatuh

Semarang, 7 Febuari 2023

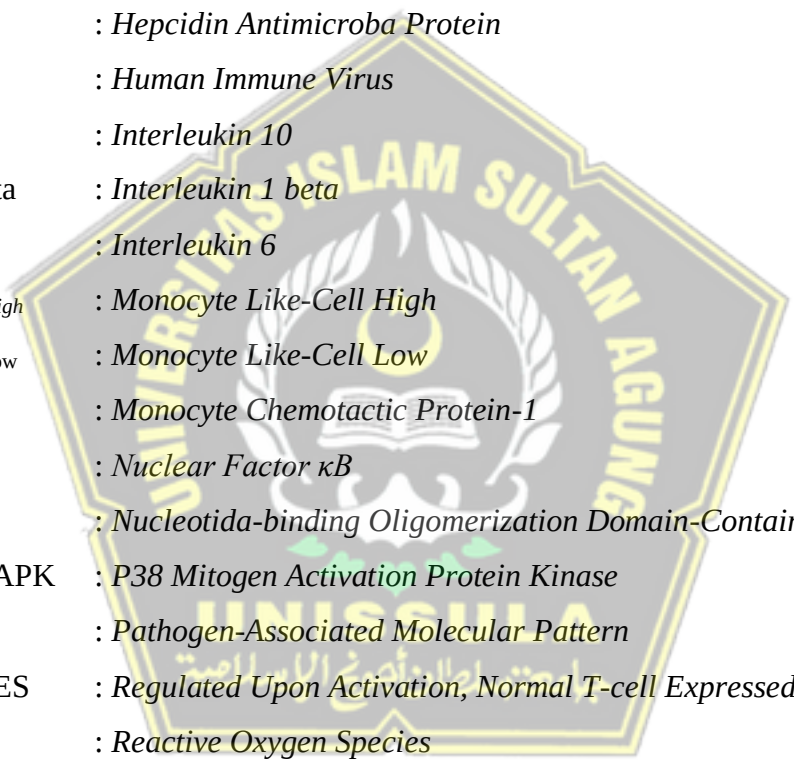
Nala Qothrunnadaa Azzahra

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iv
<u>s</u> PRAKATA	v
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus	3
1.4. Manfaat Penelitian	4
1.4.1. Manfaat Teoritis	4
1.4.2. Manfaat Praktis	4
BAB II.....	5
TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Jumlah Monosit	5
2.1.1. Definisi	5
2.1.2. Peran Monosit	5
2.1.3. Faktor Yang Memengaruhi Jumlah Monosit	7
2.2. Frekuensi Asap Rokok	8
2.2.1. Definisi	8
2.2.2. Dampak Asap Rokok terhadap Monosit	9
2.2.3. Dampak Asap Rokok terhadap Vitamin D.....	11
2.3. Vitamin D.....	12
2.3.1. Definisi.....	12
2.3.2. Bentuk	12
2.3.3. Peran Vitamin D pada Sistem Imun.....	13
2.4. Hubungan antara frekuensi paparan asap rokok antara jumlah monosit dan Vitamin D	14
2.5. Kerangka Teori.....	16
2.6. Kerangka Konsep	17
2.7. Hipotesis.....	17
BAB III.....	18

METODE PENELITIAN.....	18
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	18
3.2. Variabel dan Definisi Operasional.....	19
3.2.1. Variabel.....	19
3.2.2. Definisi Operasional.....	19
3.3. Subjek Uji.....	21
3.3.1. Kriteria Inklusi	21
3.3.2. Kriteria <i>Dropout</i>	21
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	21
3.4.1. Instrumen Penelitian.....	21
3.4.2. Bahan Penelitian.....	22
3.5. Cara Penelitian	22
3.5.1. Penyiapan Hewan Coba	22
3.5.2. Pemberian Suplemen Vitamin D.....	22
3.5.3. Perlakuan Hewan Coba.....	23
3.5.4. Pengukuran Variabel Penelitian.....	24
3.6. Tempat dan Waktu	24
3.6.1. Tempat Penelitian.....	24
3.6.2. Waktu Penelitian.....	25
3.7. Alur Penelitian	26
3.8. Analisis Data	27
BAB IV	28
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	28
4.1. Hasil Penelitian	28
4.2. Pembahasan Hasil	31
BAB V.....	37
KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
5.1. Kesimpulan	37
5.2. Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN.....	44

DAFTAR SINGKATAN



AP-1	: <i>Activator Protein 1</i>
CCL2	: <i>C-C Motif Chemokine Ligand 2</i>
CCR2	: <i>C-C Chemokine Reseptor Type 2</i>
CYP27B1	: <i>Cytochrome p450 27B1</i>
DEFB4	: <i>-defesin 2</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
HAMP	: <i>Hepcidin Antimicroba Protein</i>
HIV	: <i>Human Immune Virus</i>
IL-10	: <i>Interleukin 10</i>
IL-1beta	: <i>Interleukin 1 beta</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
LY6C _{high}	: <i>Monocyte Like-Cell High</i>
LY6C _{low}	: <i>Monocyte Like-Cell Low</i>
MCP-1	: <i>Monocyte Chemotactic Protein-1</i>
NF-κB	: <i>Nuclear Factor κB</i>
NOD2	: <i>Nucleotida-binding Oligomerization Domain-Containing protein 2</i>
P38 MAPK	: <i>P38 Mitogen Activation Protein Kinase</i>
PAMP	: <i>Pathogen-Associated Molecular Pattern</i>
RANTES	: <i>Regulated Upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SCO1	: <i>Cytochrome c Oxidase Assembly Protein 1</i>
STAT 3	: <i>Sinyal Transducer And Activator Of Trannscription 3</i>
TBC	: <i>Tuberculosis</i>
TGF beta	: <i>Tumor Growth Factor beta</i>
TLR	: <i>Toll-Like Reseptor</i>
TLR-4	: <i>Toll-Like Reseptor 4</i>
TNF alfa	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
VDR	: <i>Vitamin D Reseptor</i>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Waktu Paruh Monosit di Sirkulasi	6
Gambar 2. 2 Peran Monosit dalam Inflamasi.....	7
Gambar 2. 3 Interaksi Inflamasi dan Vitamin D.....	11
Gambar 2.4 Peran Vitamin D Terhadap Monosit	14
Gambar 3.1 Skema Penelitian.....	18
Gambar 3.2 Alur Penelitian.....	26



DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Kelompok Penelitian.....	28
Tabel 4. 2 Hasil uji normalitas dan homogenitas.....	29
Tabel 4. 3 Uji transformasi data.....	30
Tabel 4. 4 Uji kruskal wallis	30



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Penelitian.....	44
Lampiran 2. Data SPSS.....	46
Lampiran 3. Surat Ijin Penelitian	59
Lampiran 4. Ethical Clearance	61
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian	62
Lampiran 6 Surat Keterangan Pemakaian Laboratorium.....	64
Lampiran 7. Surat Pengantar Ujian Hasil Penelitian Skripsi	65



INTISARI

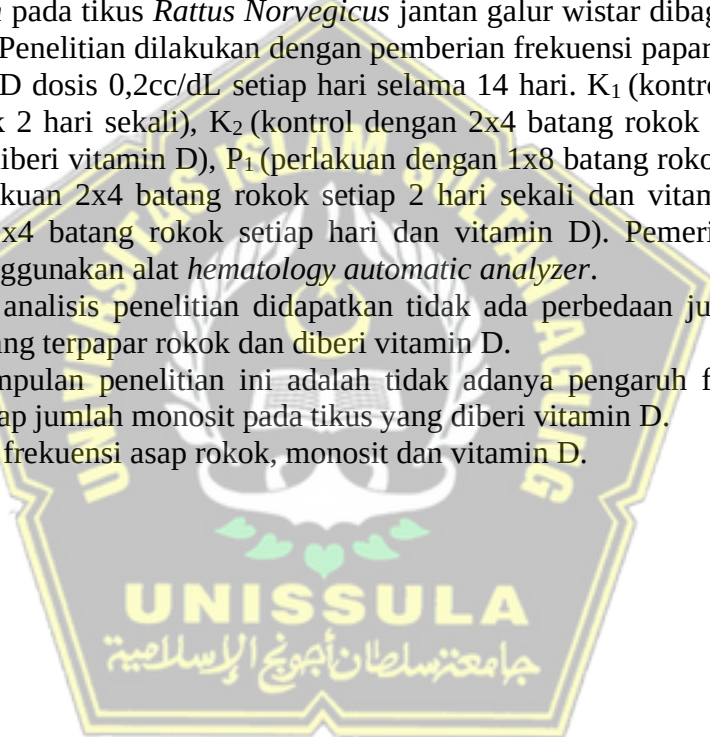
Jumlah perokok anak di Indonesia dari tahun ke tahun semakin meningkat. Prevalensi perokok anak ringan sekitar 15%, perokok anak sedang sekitar 53,3% dan perokok anak berat sekitar 31,7%. Tingkat inflamasi akibat rokok tergantung dari frekuensi paparan rokok, jumlah batang asap rokok yang dipaparkan dan respons kekebalan tubuh. Monosit merupakan salah satu sel yang berperan pada inflamasi. Penelitian lain menyebutkan lebih dari 40% penduduk Indonesia kekurangan vitamin D. Hal ini dapat menyebabkan respons imun untuk menghadapi inflamasi kurang optimal. Penelitian tentang pengaruh frekuensi merokok terhadap monosit disertai suplementasi vitamin D masih jarang dilakukan.

Penelitian eksperimen dengan rancangan penelitian *post-test only control group design* pada tikus *Rattus Norvegicus* jantan galur wistar dibagi 6 kelompok secara acak. Penelitian dilakukan dengan pemberian frekuensi paparan asap rokok dan vitamin D dosis 0,2cc/dL setiap hari selama 14 hari. K₁ (kontrol dengan 1x8 batang rokok 2 hari sekali), K₂ (kontrol dengan 2x4 batang rokok 2 hari sekali), K₃ (kontrol diberi vitamin D), P₁ (perlakuan dengan 1x8 batang rokok dan vitamin D), P₂ (perlakuan 2x4 batang rokok setiap 2 hari sekali dan vitamin D) dan P₃ (perlakuan 2x4 batang rokok setiap hari dan vitamin D). Pemeriksaan jumlah monosit menggunakan alat *hematology automatic analyzer*.

Data analisis penelitian didapatkan tidak ada perbedaan jumlah monosit pada tikus yang terpapar rokok dan diberi vitamin D.

Kesimpulan penelitian ini adalah tidak adanya pengaruh frekuensi asap rokok terhadap jumlah monosit pada tikus yang diberi vitamin D.

Kata kunci: frekuensi asap rokok, monosit dan vitamin D.



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Perokok anak pada awalnya termasuk perokok ringan, tetapi seiring berjalan waktu menjadi perokok berat karena kecanduan nikotin (Fauzi *dkk.*, 2017; Dartanto Rus'an *dkk.*, 2020). Tingkat inflamasi tergantung lama paparan asap rokok dan frekuensi asap rokok (Pérez-Rial *dkk.*, 2013). Klasifikasi perokok dibagi menjadi 3 yaitu perokok ringan, perokok sedang dan perokok berat (Riska Rositaa *dkk.*, 2012). Monosit merupakan salah satu sel yang berperan pada inflamasi (Abbas *dkk.*, 2020). Inflamasi paru akibat asap rokok dapat mengubah jumlah monosit berdasarkan perannya (Da Silva *dkk.*, 2017; Milasari *dkk.*, 2018). Kekurangan vitamin D dapat dikaitkan dengan penurunan sistem kekebalan imun (Ismailova dan White, 2022). Hal ini dapat menyebabkan respons imun untuk menghadapi inflamasi kurang optimal. Penelitian tentang pengaruh frekuensi paparan asap rokok pada perokok ringan disertai suplementasi vitamin D masih jarang dilakukan.

Menurut data Riskesdas 2018, prevalensi perokok usia 10 -18 tahun mengalami peningkatan dari 7,20% tahun 2013 menjadi 9,10% tahun 2018 atau naik sebesar duapuluh persen (Kemen PPPA, 2020). Prevalensi perokok ringan sekitar 15%, perokok sedang sekitar 53,3% dan perokok berat sekitar 31,7% (Risyaf, 2016). Perokok pasif meningkatkan jumlah monosit sekitar 4% (Pedersen *et al.*, 2019). Penduduk Indonesia yang mengalami

kekurangan vitamin D sekitar 45,1% hingga 49,3% sementara yang cukup kadar vitamin D hanya 5,6% (Ernawati *dkk.*, 2015). Sebagian besar penurunan vitamin D terjadi akibat kekurangan sinar matahari dan terpapar asap rokok (Nair dan Maseeh, 2012; Lee *dkk.*, 2015). Penelitian sebelumnya menyebutkan faktor resiko infeksi semakin meningkat pada paparan asap rokok, defisiensi vitamin D dan perubahan jumlah monosit (Rao Muvva *dkk.*, 2020). Pemberian vitamin D dapat membantu monosit mengaktifkan perannya (Mousa *dkk.*, 2021).

Asap rokok meningkatkan radikal bebas dengan mengaktifkan Nf-kB sehingga terjadi inflamasi (Lee *dkk.*, 2012). Selama inflamasi, monosit klasik menurun karena terjadi diferensiasi makrofag dan melepas sitokin inflamasi ke jaringan inflamasi (Wermuth dan Jimenez, 2015). Sedangkan monosit non klasik meningkat karena faktor pertumbuhan hematopoietik yang menginduksi proliferasi sumsum tulang sehingga terjadi inflamasi sistemik (Ramanathan *dkk.*, 2020). Vitamin D yang paling banyak ditemukan di sirkulasi yaitu 25-hydroxyvitamin D (Ernawati *dkk.*, 2015). Penelitian sebelumnya menyebutkan merokok dapat mempengaruhi kadar VDR yang dapat menurunkan fungsi monosit, walaupun kadar 25-hydroxyvitamin D tidak terpengaruh (Bouillon *dkk.*, 2008). Oleh karena itu diperlukan suplementasi vitamin D sehingga dapat meningkatkan peran monosit sebagai antiinflamasi.

Berdasarkan pembahasan diatas, diperlukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap jumlah monosit pada tikus yang diberi vitamin D.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap jumlah monosit pada tikus yang diberi Vitamin D?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap jumlah monosit pada tikus yang diberi vitamin D.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Untuk mengetahui perbedaan monosit antara kelompok kontrol dan perlakuan yang terpapar asap rokok 1 kali 8 batang dan 2 kali 4 batang dengan diberikan vitamin D.

1.3.2.2. Untuk mengetahui perbedaan monosit antara kelompok kontrol yang terpapar asap rokok 1 kali 8 batang dan 2 kali 4 batang yang diberi vitamin D dengan kelompok kontrol tidak terpapar asap rokok tetapi diberi vitamin D.

1.3.2.3. Untuk mengetahui perbedaan jumlah monosit antara kelompok dengan frekuensi paparan asap rokok dua kali empat batang pada frekuensi paparan dua hari sekali dan setiap hari.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini dapat menjadi acuan untuk pengembangan penelitian selanjutnya terkait pengaruh frekuensi asap rokok serta pengaruh vitamin D terhadap monosit.

1.4.2. Manfaat Praktis

1.4.2.1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengaruh frekuensi asap rokok terhadap jumlah monosit.

1.4.2.2. Memberikan informasi kepada masyarakat vitamin D dapat digunakan untuk mengatur tingkat inflamasi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Jumlah Monosit

2.1.1. Definisi

Monosit merupakan sel darah putih berfungsi sebagai sistem kekebalan tubuh (Abbas *dkk.*, 2020). Jumlah monosit darah normal adalah sekitar 2-8% dari jumlah sel darah putih (Lewar, 2018). Jumlah monosit ditentukan dengan *automatic hematology analyzer*. Berikut tabel monosit darah berdasarkan klasifikasi:

No.	Jenis Monosit	% monosit	Umur	Fungsi
1.	Klasik	80-95	0-1hari	Fagositosis
2.	Intermediet	2-11	3-4hari	Pro-inflamasi
3.	Non klasik	2-8	4-7hari	Patroli endotel
4.	Ly6Ctinggi	40-45	20jam	Fagositosis & Pro-inflamasi
5.	Ly6Csedang	5-32		Pro-inflamasi
6.	Ly6Crendah	26-50	2hari	Patroli endotel dan perbaikan jaringan

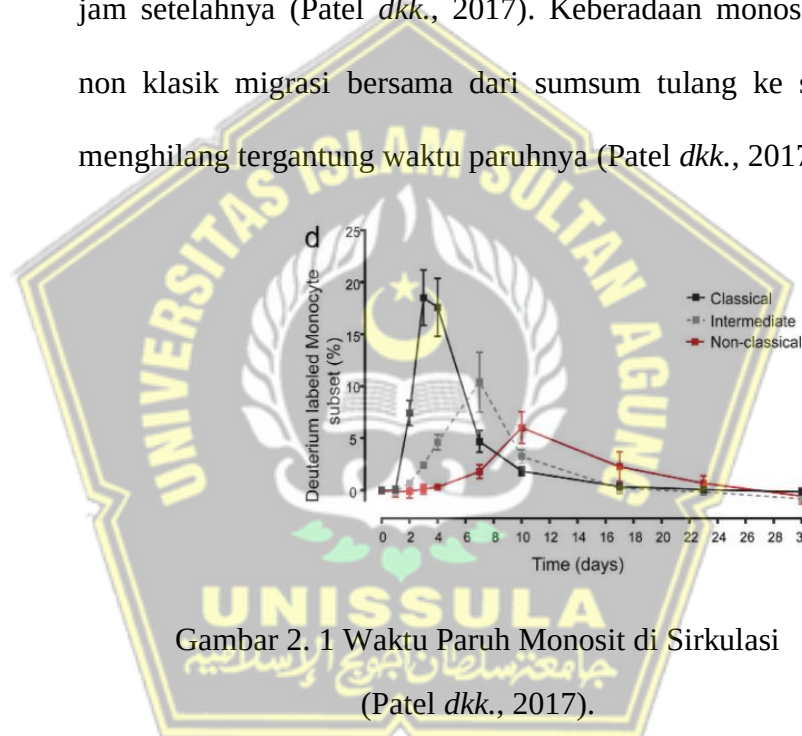
Tabel 2.1 Jumlah Monosit Berdasarkan Peran

(Shi dan Pamer, 2011; Patel *dkk.*, 2021)

2.1.2. Peran Monosit

Monosit berperan dalam inflamasi dan fagositosis (Cormican dan Griffin, 2020). Monosit terbagi menjadi 3 peran yaitu klasik, intermediet dan non klasik (Patel *dkk.*, 2021). Monosit memainkan peran dalam homeostasis dan inflamasi (Patel *dkk.*, 2017). Kondisi stabil, monosit klasik berada di sirkulasi selama sehari dan akan

meninggalkan sirkulasi (mati atau bermigrasi) begitupun dua monosit lainnya (Patel *dkk.*, 2017). Sedangkan monosit intermediet dan non klasik memiliki waktu bersirkulasi lebih lama sekitar 4 hingga 7 hari (Patel *dkk.*, 2017). Apabila waktu paruh monosit klasik atau intermediet habis, maka akan berdiferensiasi menjadi monosit intermediet atau non klasik kemudian akan kembali ke sirkulasi 4 jam setelahnya (Patel *dkk.*, 2017). Keberadaan monosit klasik dan non klasik migrasi bersama dari sumsum tulang ke sirkulasi dan menghilang tergantung waktu paruhnya (Patel *dkk.*, 2017).

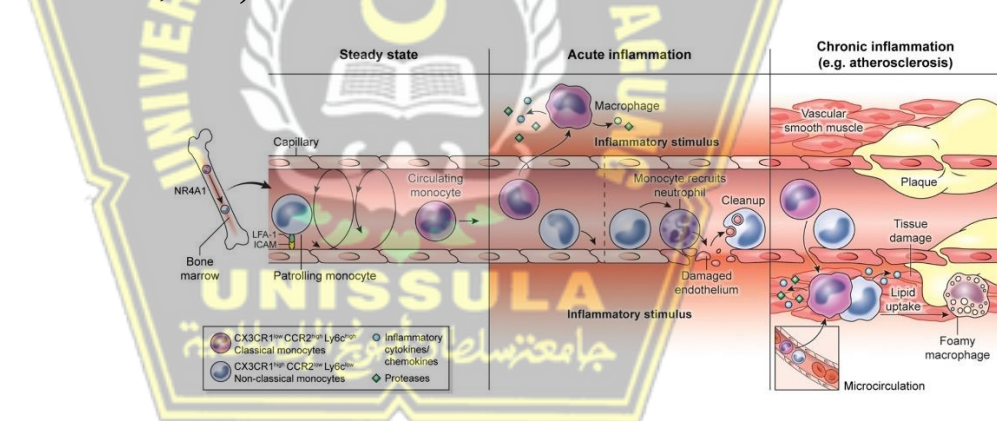


Gambar 2. 1 Waktu Paruh Monosit di Sirkulasi
(Patel *dkk.*, 2017).

Kondisi inflamasi, monosit klasik segera dilepas dari sumsum tulang menuju sirkulasi dan berdiferensiasi menjadi makrofag di jaringan inflamasi, kemudian mengeluarkan mediator inflamasi untuk merespons inflamasi tersebut (Patel *dkk.*, 2021). Mediator inflamasi tersebut menyebabkan peningkatan $\text{TNF-}\alpha$, IL-1, IL-6, IL-8, dan *haematopoietik growth factors* seperti GM-CSF dan G-CSF (Yang *dkk.*, 2014). Faktor pertumbuhan haematopoietik tersebut

meningkatkan proliferasi sumsum tulang untuk perekrutan monosit (Mazzone *dkk.*, 2010). Sehingga memicu inflamasi sistemik yang menyebabkan peningkatan jumlah monosit non klasik (Mazzone *dkk.*, 2010). Namun, jika tidak ada inflamasi maka monosit klasik kembali ke sumsum tulang untuk berdiferensiasi menjadi monosit non klasik (Shi dan Pamer, 2011).

Perekrutan monosit tergantung pada reseptor kemokin dan faktor pertumbuhan hematopoitik (Shi dan Pamer, 2011). Kekurangan reseptor kemokin maupun faktor pertumbuhan hematopoitik mampu mengurangi perekrutan monosit (Shi dan Pamer, 2011).



Gambar 2. 2 Peran Monosit dalam Inflamasi
(Rua dan McGavern, 2015)

2.1.3. Faktor Yang Memengaruhi Jumlah Monosit

Waktu paruh dan jumlah monosit di sirkulasi sesuai klasifikasi monosit. Monosit dapat bertahan dalam sirkulasi sekitar 1-7 hari (Patel dan Yona, 2019). Keberadaan monosit klasik dan non klasik di sirkulasi memiliki perbedaan waktu tergantung kondisi host, jenis

kelamin, golongan etnis, diet tinggi lemak, pola tidur, olahraga dan usia host tersebut (Patel *dkk.*, 2017). Faktor lain yang menyebabkan jumlah monosit menunjukkan kondisi patologis (Yang *dkk.*, 2021). Beberapa faktor yang menyebabkan monositosis atau jumlah monosit melebihi batas normal seperti kondisi rheumatoid arthritis, penyakit jantung koroner, aterosklerosis, keganasan hematologi, dll (Lewar, 2018). Sedangkan kondisi monositopenia atau jumlah monosit rendah melebihi batas normal ditemukan pada kondisi penyakit aterosklerosis dan anemia apalstik (Lewar, 2018).

2.2. Frekuensi Asap Rokok

2.2.1. Definisi

Frekuensi asap rokok merupakan jumlah paparan asap rokok yang terpapar dalam satuan batang rokok per hari (Ramadhan *dkk.*, 2017). Penelitian sebelumnya, menunjukkan adanya hubungan antara asap rokok dan frekuensi merokok yang tinggi dengan kecanduan nikotin (Greg Chido-Amajuoyi *dkk.*, 2017). Efek asap rokok tergantung karakteristiknya, adalah frekuensi asap rokok yang dapat digolongkan sebagai sering (hampir setiap hari) atau kadang-kadang (Riska Rositaa *dkk.*, 2012). Perokok ringan <10batang/hari, perokok sedang >10 batang/hari, dan perokok berat >25 batang/hari (Wilson *dkk.*, 1992; Husten, 2009).

2.2.2. Dampak Asap Rokok terhadap Monosit

Asap rokok memiliki kandungan yang menyebabkan stres oksidatif (Lee *dkk.*, 2012). Stres Oksidatif yang dimaksud adalah *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan glikoprotein kaya fenol (Lee *dkk.*, 2012). Stres oksidatif dimulai 30 menit setelah terpapar asap rokok (Van Der Vaart *dkk.*, 2004). Stres oksidatif akan menginduksi kerusakan DNA sehingga menyebabkan inflamasi dan sistem imun terganggu (Lee *dkk.*, 2012). Efek asap rokok tergantung beberapa faktor seperti jumlah batang/hari, lama tahun merokok, jenis rokok yang dikonsumsi, serta pengaruh lingkungan (Rahfiludin dan Ginandjar, 2013). Peningkatan frekuensi asap rokok dikaitkan dengan peningkatan inflamasi (Kianoush *dkk.*, 2017).

Proses inflamasi akut diawali dengan aktivasi Nf-kB yang mengaktifkan sel monosit dan sel lain (Madani *dkk.*, 2018). Monosit akan dilepas dari sumsum tulang dan berdiferensiasi menuju jaringan inflamasi berdasarkan *macrophage-colony stimulating factor* (M-CF) dan *granulocyte macrophage-colony stimulating factor* (GM-CF) (Kratofil *dkk.*, 2017). Terdapat peningkatan jumlah monosit di sirkulasi dan di sumsum tulang akibat terpapar asap rokok (Pedersen *dkk.*, 2019). Perbedaan jumlah monosit tergantung peran monosit (Da Silva *dkk.*, 2017). Menurut penelitian sebelumnya, jumlah

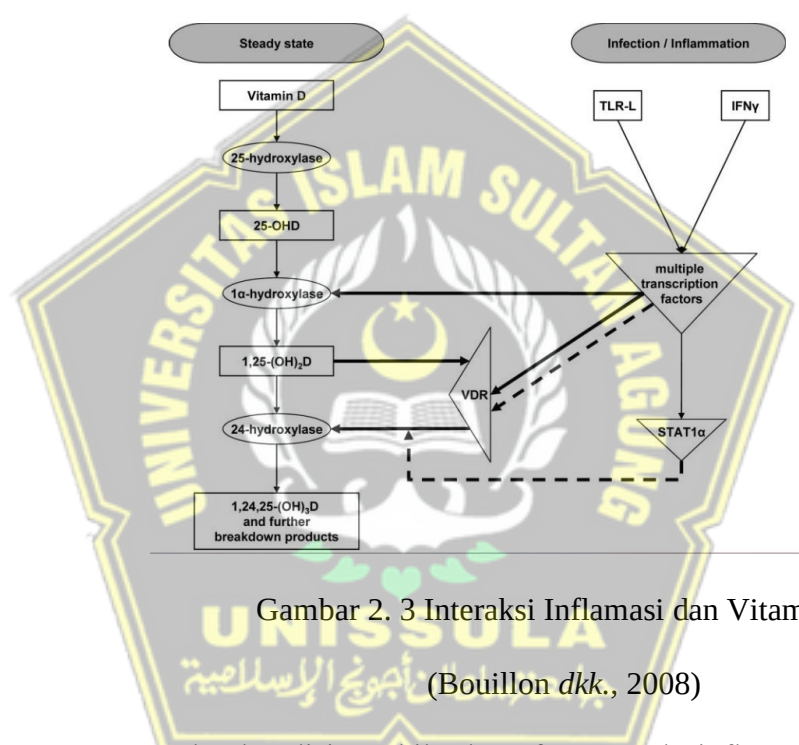
monosit klasik menurun dan monosit non klasik (Da Silva *dkk.*, 2017). Hal ini disebabkan karena monosit klasik harus berdiferensiasi ke jaringan inflamasi sehingga jumlah monosit klasik di sirkulasi berkurang (Wermuth dan Jimenez, 2015). Sedangkan jumlah monosit non klasik meningkat akibat peningkatan proliferasi sumsum tulang (Wermuth dan Jimenez, 2015). Tetapi, jika tidak terjadi inflamasi maka monosit klasik akan menjadi monosit non klasik (Wermuth dan Jimenez, 2015).

Peningkatan proliferasi sumsum tulang akibat peningkatan MCP-1 (Giebe *dkk.*, 2021). Menurut penelitian, meningkatnya MCP-1 tergantung banyaknya aktivitas NF-kB dan molekul adhesi (Giebe *dkk.*, 2021). Tingginya aktivitas adhesi meningkatkan kejadian arteriosklerosis (Giebe *dkk.*, 2021). Dengan demikian, asap rokok memengaruhi jumlah monosit baik klasik maupun non klasik. Penurunan monosit klasik di disirkulasi akibat peningkatan MCP-1 sehingga terjadi diferensiasi makrofag dan peningkatan produksi sitokin seperti IL-1 β , TNF- β serta nitrit oksidase untuk membantu melakukan fagositosis (Zuckerman *dkk.*, 1979; Yang *dkk.*, 2014). Namun akibat paparan asap rokok yang terlalu lama akan mengubah fenotip monosit sehingga peran fagositosis dapat menurun (Nielsen *dkk.*, 2020).

Paparan asap rokok juga dapat menghambat anti inflamasi dengan pengurangan faktor pertumbuhan seperti VEGF, yang

memperlambat penyembuhan luka melambat. Dengan demikian, perubahan VEGF juga dapat memengaruhi monosit karena migrasi monosit ke jaringan yang direduksi oleh VEGF (Kratofil *dkk.*, 2017; de Marcken *dkk.*, 2019).

2.2.3. Dampak Asap Rokok terhadap Vitamin D



Gambar 2. 3 Interaksi Inflamasi dan Vitamin D

(Bouillon *dkk.*, 2008)

Pada kondisi stabil dan fase awal inflamasi akut 1α-hydroxylase tidak ada atau rendah (Bouillon *dkk.*, 2008). Dalam kondisi tidak stabil, 1,25-hydroxyvitamin D akan aktif melalui peran VDR untuk menjaga keseimbangan tubuh (Bouillon *dkk.*, 2008). Namun kondisi inflamasi atau infeksi, 24-hydroxylase dan VDR dihambat oleh STAT1α sehingga 1,25-hydroxyvitamin D akan tinggi

untuk memainkan peran sebagai antiinflamasi dan antiinfeksi (Bouillon *dkk.*, 2008).

Asap rokok dikaitkan dengan rendahnya kadar vitamin D namun tidak signifikan (Lee *dkk.*, 2015; Ren *dkk.*, 2016). Aktivitas Nf-KB yang tinggi dapat menghambat VDR serta penurunan 1,25 Dehidroksivitamin D (Lange *dkk.*, 2012). Hal ini menandakan perbedaan teori pada penelitian sebelumnya, terkait penurunan kadar vitamin D pada asap rokok. Perbedaan hasil tersebut dapat dipengaruhi oleh pemberian dosis vitamin D dan tidak melakukan pengukuran awal kadar vitamin D (Ardiaria, 2020).

2.3. Vitamin D

2.3.1. Definisi

Vitamin D merupakan senyawa mirip steroid yang larut dalam lemak yang berperan dalam metabolisme mineral dan kesehatan tulang (Prieti *dkk.*, 2013).

2.3.2. Bentuk

Bentuk Vitamin D ada 2 yaitu, vitamin D₂ (*ergocalciferol*) dan D₃ (*cholecalciferol*) (Holick, 2010). Vitamin D₂ biasanya ditemukan saat berjemur dibawah paparan sinar matahari, sedangkan vitamin D₃ biasanya diaktifkan setelah manusia terpapar sinar matahari (Holick, 2010). Vitamin D dapat diperoleh dari konversi sinar ultraviolet menjadi 7-*dehydrocholesterol* di kulit, juga diperoleh dari makanan

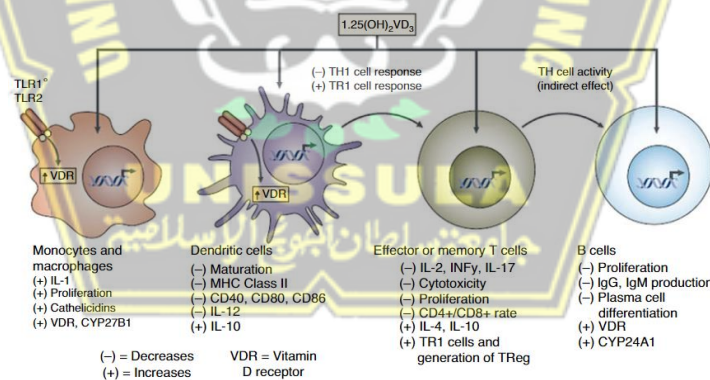
seperti telur, ikan, alpukat dan suplemen vitamin D (Holick, 2010). Suplemen vitamin D yang umum digunakan adalah vitamin D₃ (Holick, 2010).

2.3.3. Peran Vitamin D pada Sistem Imun

Vitamin D berperan pada respons stres oksidatif tubuh serta respons imun terutama untuk mengatasi inflamasi dan fagositosis (Heulens *dkk.*, 2016). Monosit dan vitamin D berinteraksi satu sama lain (Heulens *dkk.*, 2016). Interaksi tersebut melalui VDR atau vitamin D reseptor pada monosit (Almerighi *dkk.*, 2009). VDR sebagian besar ada di jaringan dan sel (Marcinkowska, 2020). Gen target monosit-vitamin D adalah *nucleotide-linked oligomerization domain protein 2* (NOD2), antibakteri protein hepcidin (HAMP), *cathelicidin* (CAMP) dan *defensin 2* (DEFB4) (Nurminen *dkk.*, 2019).

Vitamin D masuk ke sirkulasi dalam bentuk 25-hydroxyvitamin D yang berperan autokrin untuk sistem imun (Rosas-Peralta *dkk.*, 2017). Peran monosit sebagai kekebalan imun atas bantuan vitamin D (Nurminen *dkk.*, 2019). Vitamin D tersebut menuju gen monosit menjadi 1,25-dihidroksivitamin D₃ dan aktif melalui VDR dan ekspresi CYP27B1 untuk memberikan efek positif monosit (Rosas-Peralta *dkk.*, 2017). Efek positif tersebut dapat menginduksi diferensiasi dan proliferasi monosit menjadi makrofag, membantu stimulasi inflamasi melalui TLR atau *Toll-like receptor* serta

menghambat Nf-kB dengan aktifitas (Rosas-Peralta *dkk.*, 2017). Efek Nf-kB tersebut mampu menurunkan sitokin proinflamasi oleh monosit seperti TNF- α , IL-6 dan MCP-1 dan meningkatkan *cathelicidin* sebagai antimikroba (El-Sharkawy dan Malki, 2020). Sehingga menghambat respons inflamasi dan menginduksi autofagi ataupun ROS (Harrison *dkk.*, 2020). Oleh karenanya, vitamin D yang cukup mampu membantu monosit memperbaiki sistem imun melalui aktivasi VDR dan CYP27B1. Suplemen vitamin D dapat membantu kadar vitamin D dalam tubuh cukup tergantung dosis dan waktu pemberian vitamin D (Lee *dkk.*, 2015; Durrant *dkk.*, 2022). Hal ini membuktikan bahwa vitamin D dapat berperan sebagai anti inflamasi dan antioksidasi.



Gambar 2.4 Peran Vitamin D Terhadap Monosit

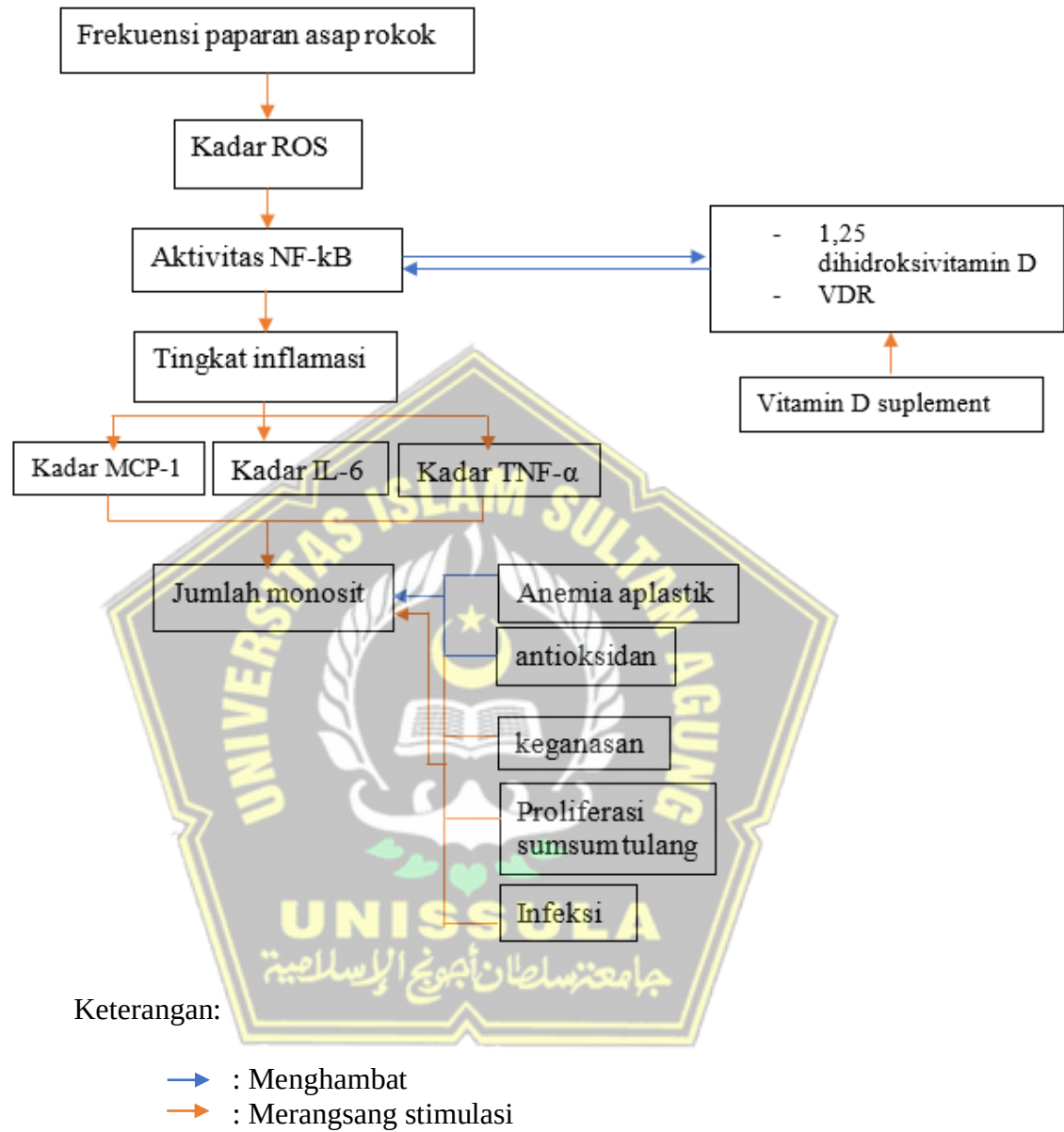
(Yin dan Agrawal, 2014)

2.4. Hubungan antara frekuensi paparan asap rokok antara jumlah monosit dan Vitamin D

Frekuensi asap rokok meningkatkan radikal bebas dan aktifkan monosit melalui mekanisme Nf-kB sehingga terjadi inflamasi. Semakin banyak asap rokok yang terpapar, maka semakin besar kemungkinan terjadi stress oksidatif. Akibatnya menyebabkan peningkatan jumlah monosit dan proliferasi sumsum tulang. Perubahan jumlah monosit secara peran klasifikasinya yaitu penurunan jumlah monosit klasik dan peningkatan jumlah monosit non klasik karena perubahan fenotipik monosit sebelum memulai migrasi atau rekrutmen. Kondisi ini diperburuk oleh monosit seperti MCP-1, IL-6, TNF- α dan ICAM-1, sehingga memicu inflamasi dan menyebabkan penyakit seperti aterosklerosis. Sementara faktor pertumbuhan seperti VEGF berkurang oleh paparan asap rokok yang akhirnya memperlambat penyembuhan luka.

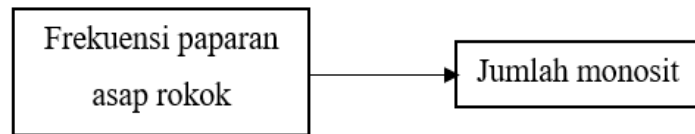
Kekurangan vitamin D disebabkan oleh asap rokok dengan ditandai penurunan 25(OH)D pada sirkulasi secara tidak signifikan. Pendapat lain, saat inflamasi vitamin D akan meningkatkan 1,25(OH) D sebagai respons antiinflamasi tetapi menurunkan VDR pada monosit. Tetapi Kekurangan VDR tidak memengaruhi jumlah monosit darah (Jeanson dan Scadden, 2010). Hal ini dikaitkan bahwa keberadaan vitamin D memperkuat fungsi monosit dalam kekebalan imun (Bouillon *dkk.*, 2008). Sehingga tanpa bantuan vitamin D maka monosit berada dalam kondisi proinflamasi ditandai dengan imun seseorang mudah rentan (Yin dan Agrawal, 2014; Yang *dkk.*, 2021).

2.5. Kerangka Teori



Gambar 2.3 Kerangka Teori

2.6. Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

2.7. Hipotesis

Terdapat pengaruh frekuensi paparan asap rokok dengan jumlah monosit pada tikus yang diberi vitamin D.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan *post-test only control group design* pada tikus *Rattus Norvegicus*. Perlakuan penelitian ini adalah paparan asap rokok dan pemberian vitamin D terhadap tikus *Rattus Norvegicus*, sedangkan keluarannya berupa jumlah monosit.

Secara skematis rancangan penelitian ini dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1 Skema Penelitian

Keterangan:

S : Sampel berupa tikus putih *Rattus Norvegicus*

R : Randomisasi

K₁ : kelompok kontrol diberi paparan asap rokok dengan frekuensi 2 kali dengan 4 batang rokok/ 2 hari, tanpa pemberian Vitamin D 0,2cc/dL

- K₂ : kelompok kontrol diberi paparan asap rokok dengan frekuensi 1 kali dengan 8 batang rokok/2 hari, tanpa pemberian Vitamin D 0,2 cc/dL
- K₃ : Kelompok Kontrol tanpa asap rokok dengan pemberian Vitamin D 0,2cc/dL
- P₁ : Perlakuan kelompok paparan asap rokok dengan frekuensi 1 kali dengan 8 batang rokok/ 2 hari + Vitamin D 0,2cc/dL
- P₂ : Perlakuan kelompok paparan asap rokok dengan frekuensi 2 kali dengan 4 batang rokok/ 2 hari + Vitamin D 0,2cc/dL
- P₃ : Perlakuan kelompok paparan asap rokok dengan frekuensi 2 kali dengan 4 batang rokok/hari + Vitamin D 0,2cc/dL
- OK₁ : Observasi jumlah monosit darah kelompok K₁
- OK₂ : Observasi jumlah monosit darah kelompok K₂
- OK₃ : Observasi jumlah monosit darah kelompok K₃
- OP₁ : Observasi jumlah monosit darah kelompok P₁
- OP₂ : Observasi jumlah monosit darah kelompok P₂
- OP₃ : Observasi jumlah monosit darah kelompok P₃

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel Bebas

Frekuensi paparan asap rokok, Vitamin D.

3.2.1.2. Variabel Tergantung

Jumlah monosit.

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Frekuensi Paparan Asap Rokok

Frekuensi Paparan Asap rokok adalah banyaknya jumlah asap rokok yang didapatkan dalam sehari/minggu pada tikus *rattus novergicus* yang secara sengaja diberi paparan melalui lubang pada kandang tikus.

Frekuensi paparan asap rokok yang diberikan setiap 2 hari sekali dilakukan pada jam 10.00 WIB dan 14.00 WIB yaitu 8 batang 1 kali, 4 batang 2 kali selama 14 hari yaitu hari 8 hingga 21.

Skala: ordinal.

3.2.2.2. Vitamin D

Vitamin D diperoleh dari suplemen yang diberikan melalui oral menggunakan sonde oral dengan dosis yang diberikan sebanyak 0,2cc/dL/100gr dengan menggunakan spuit 1 cc. Pemberian vitamin D dilakukan setiap jam 16.00 WIB, setiap hari selama 14 hari yaitu hari ke 8 hingga 21 dilakukan sebagai preventif pada hari yang sama dengan pemberian paparan asap rokok.

Skala: Nominal

3.2.2.3. Jumlah Monosit

Jumlah monosit adalah seberapa banyak sel monosit yang berada disirkulasi dan diperoleh melalui jenis hitung leukosit yang diperoleh dari pengambilan darah pada vena orbita tikus. Jumlah monosit dihitung pada hari ke 22 menggunakan sampel darah tepi kemudian dimasukkan tabung berisi EDTA.

Skala: rasio.

3.3. Subjek Uji

Subjek uji penelitian ini adalah uji tikus *Rattus Novergicus* galur wistar. Sampel penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus. Perhitungan menentukan sampel penelitian ini menggunakan standar WHO yaitu minimal jumlah sampel 5/kelompok.

3.3.1. Kriteria Inklusi

1. Tikus jantan
2. Tikus sehat (aktif bergerak, tidak cacat dan tidak terluka).
3. Berat badan tikus 170 gr
4. Usia tikus 3 bulan

3.3.2. Kriteria Dropout

1. Tikus mati dan sakit saat penelitian.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen Penelitian

1. Tikus

Kandang tikus tiap kelompok, Sonde lambung, Timbangan

2. Hitung Monosit

Hematology analyzer dan Tabung EDTA

3. Asap Rokok

Rokok kretek

3.4.2. Bahan Penelitian

1. Tikus jantan
2. Ransum pakan standar
3. Handscoon
4. Reagensia :
 - a. Reagen yang digunakan : *Dileunt Cellpak*.
 - b. WBC/HGB reagens : *Stromatolyser-WH*
5. Deterjen (Pembersih) : *Cellclean*
6. Bahan : Darah vena, tabung EDTA, kapas alkohol 70% dan Spoit 3 cc.
7. Alat: flow cytometri (*Hematology analyzer*).

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Penyiapan Hewan Coba

Subjek uji yang digunakan adalah 30 ekor tikus *Rattus Novergicus* dengan usia 3-4 bulan dan berat badan 100 hingga 200 gram. Setiap kelompok berisi 5 tikus *Rattus Novergicus*. Setiap kelompok dialokasikan secara random dan diadaptasi selama 7 hari dengan diberi pakan standar dan air standar.

3.5.2. Pemberian Suplemen Vitamin D

Pemberian Vitamin D dilakukan setiap hari pada jam 16.00 WIB selama 14 hari yaitu hari ke-8 hingga 21. Tujuan pemberian vitamin D yaitu sebagai preventif terpapar asap rokok. Suplemen vitamin D menggunakan vitamin D liquid dengan dosis sebanyak

0,2cc/ekor menggunakan spuit 1 cc. Pemberian vitamin D melalui oral menggunakan sonde oral menuju lambung tikus dengan cara menempelkan ke langit-langit mulut tikus kemudian perlahan masuk keesofagus hingga menuju ke lambung tikus. Tikus yang diberikan vitamin D sebanyak 30 ekor. Penelitian sebelumnya mengatakan dosis Vitamin D yang lazim pada manusia adalah 500-600 mg (Rimbawan *dkk.*, 2019). Pada penelitian ini, pemberian dosis vitamin D merujuk pada penelitian Rusmini *dkk* yaitu 0,2 μ gr/ekor (Rusmini *dkk.*, 2019).

3.5.3. Perlakuan Hewan Coba

a. Pemaparan Asap rokok pada tikus *Rattus Novergicus*

Tikus yang dipapar asap rokok akan diberikan kandang tikus dari wadah kotak terbuat dari plastik yang bagian tutupnya diberikan 8 lubang sebagai jalan masuknya asap rokok dan sekaligus sebagai jalan untuk bernafas. Rokok akan dinyalakan menggunakan alat penyala rokok dengan diberikan selang yang terhubung ke salah satu lubang kandang rokok tersebut. Pengasapan dilakukan setelah adaptasi hingga 14 hari dengan cara memberikan rokok setiap hari dan dua hari sekali. Pengikatan batang rokok dilakukan pada jam 10.00 WIB dan 14.00 WIB dengan jumlah batang rokok yaitu tidak pengasapan rokok, 1x8 batang 2 hari sekali, 2x4 batang 2 hari sekali, serta 2x4 batang setiap hari dengan durasi masing-masing 30 menit.

Kandang tikus saat dilakukan adaptasi dan memberi paparan asap rokok berbeda, sehingga tikus yang tidak diberikan paparan tetap berada dikandang adaptasi dan tikus yang terkena asap rokok harus dipindahkan kekandang yang telah disediakan. Rokok kretek adalah jenis rokok yang digunakan.

3.5.4. Pengukuran Variabel Penelitian

Pengukuran jumlah monosit dengan *metode automatic Hematology Analyzer* dengan mengambil darah Edta dari vena sinus retro orbital tikus dan pastikan sampel darah dalam tabung berwarna ungu sudah homogen dengan antikoagulan. Siapkan alat *flow cytometer* kemudian tekan tombol *Whole Blood “WB”* pada layer 3. Tekan bagian atas dari tempat sampel (tabung berwarna ungu) untuk membuka dan letakkan sampel dalam adaptor kemudian tutup tempat sampel dan tekan “Run”. Hasil akan muncul dilayar secara otomatis dan catat hasil pemeriksaan.

3.6. Tempat dan Waktu

3.6.1. Tempat Penelitian

- a. Tempat penelitian untuk pemberian paparan rokok dan vitamin D pada tikus dilakukan di *Integrated Biomedical Laboratory (IBL)* Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Islam Sultan Agung Semarang.

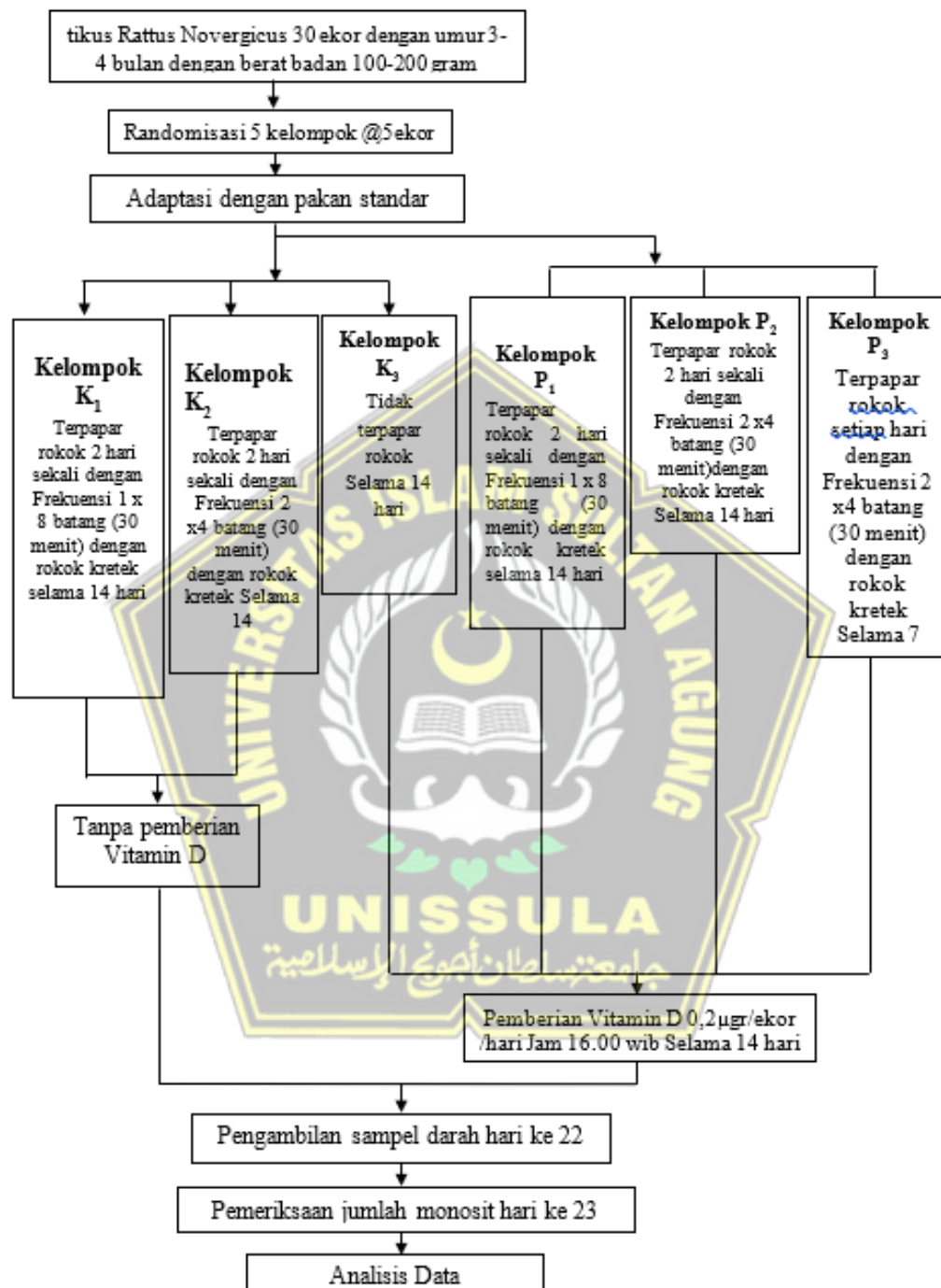
- b. Tempat penelitian untuk Pemeriksaan Jumlah Monosit dilakukan di Laboratorium Klinik IBL Tentara Pelajar Semarang.

3.6.2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan selama 4 minggu mulai dari bulan Desember 2022 – Januari 2023.



3.7. Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian

3.8. Analisis Data

Analisis data menggunakan software SPSS E.26.0 for Windows. Data diuji normalitas menggunakan *Uji Kolmogorov Smirnov* (sampel >30) dan uji homogenitas menggunakan *uji Lave* *test* karena data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen ($p\text{-Value} \leq 0,05$) kemudian dilakukan transformasi data dengan log 10. Uji beda dilakukan dengan uji non parametrik yaitu *Kruskal Wallis*.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

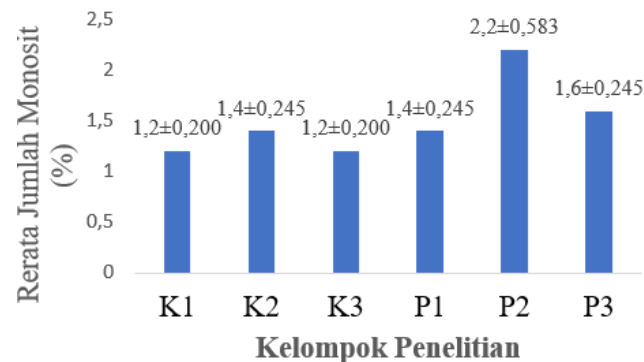
4.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan di IBL FK Unissula mulai bulan Desember 2022 hingga Januari 2023. Penelitian ini menggunakan subjek uji tikus *rattus novergicus* galur wistar jantan sebanyak 30 ekor dibagi 6 kelompok secara acak. Tikus dilakukan adaptasi selama 7 hari, kemudian dilanjutkan dengan pemaparan asap rokok pada jam 10.00 WIB dan/ 12.00 WIB dan diberi vitamin D 0.2cc/dL/KgBB pada jam 16.00 WIB selama 14 hari.

Sampel darah tikus diambil dari sinus orbita, kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan jumlah monosit pada hari ke-15 di IBL Tentara Pelajar Semarang. Selama penelitian berlangsung tidak didapatkan adanya tikus yang sakit dan mati.

Tabel 4.1 Kelompok Penelitian

Kelompok	Mean $\pm$ SD	Median
Kelompok K ₁	1.20 $\pm$ 0.200	1.00
Kelompok K ₂	1.40 $\pm$ 0.245	1.00
Kelompok K ₃	1.20 $\pm$ 0.200	1.00
Kelompok P ₁	1.40 $\pm$ 0.245	1.00
Kelompok P ₂	2.20 $\pm$ 0.583	2.00
Kelompok P ₃	1.60 $\pm$ 0.245	2.00

Gambar 4.1 Rerata Jumlah Monosit

Pada Gambar 4.1 didapatkan bahwa rerata jumlah monosit pada kelompok K₁ hingga P₁ adalah 1, sedangkan kelompok P₂ dan P₃ adalah 2.

4.1.1 Uji normalitas data dan homogenitas

Tabel 4.2 Hasil Uji Normalitas Dan Homogenitas

Kelompok Penelitian	Uji Kolmogorov-Smirnov		Uji Lavene's test	
	Statistik	Sig.	statistik	Sig.
Kelompok K1	0.473	0.001	4.036	0.006
Kelompok K2	0.367	0.026		
Kelompok K3	0.473	0.01		
Kelompok P1	0.367	0.026		
Kelompok P2	0.243	0.200*		
Kelompok P3	0.367	0.026		

Hasil uji normalitas dan homogenitas dengan uji Kolmogorov-smirnov dan Lavene's test menunjukkan data $p < 0.05$ sehingga menunjukkan distribusi data tidak normal dan tidak homogen maka dilakukan transformasi log₁₀.

4.1.2 Uji Transformasi Data

Tabel 4.3 Uji Transformasi Data

Kelompok Penelitian	Uji Kolmogorov-Smirnov		Uji Lvene's test	
	Statistik	Sig.	statistik	Sig.
Kelompok K1	0.473	0.001	2.060	0.106*
Kelompok K2	0.367	0.026		
Kelompok K3	0.473	0.01		
Kelompok P1	0.367	0.026		
Kelompok P2	0.243	0.200*		
Kelompok P3	0.367	0.026		

Hasil uji transformasi menunjukkan data tetap tidak terdistribusi normal dan homogen, maka dilaknjut dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis* karena tidak memenuhi syarat uji parametrik.

4.1.3 Uji Beda Kruskal Wallis

Tabel 4.4 Uji kruskal wallis

Kelompok Penelitian	Rata-Rata jumlah monosit $\pm$ SD	P
Kelompok K1	1.20	0.510**
Kelompok K2	1.40	
Kelompok K3	1.20	
Kelompok P1	1.40	
Kelompok P2	2.20	
Kelompok P3	1.60	

Hasil uji *Kruskal Wallis* pada masing-masing tikus jantan yaitu sebesar 0,510 menunjukkan bahwa nilai $p > 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan rerata secara signifikan jumlah monosit antara kelompok K₁, K₂, K₃, P₁, P₂, dan P₃.

4.2. Pembahasan Hasil

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap jumlah monosit tikus yang diberi vitamin D. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah monosit pada semua kelompok adalah normal sekitar 1-2%, tidak ada perbedaan rerata yang signifikan antar kelompok. Jumlah monosit normal pada tikus sekitar 1-6% dari total darah putih (McMichael, 2022). Jumlah monosit dipengaruhi oleh jumlah batang rokok yang dipaparkan, frekuensi paparan asap rokok dan rentang waktu merokok serta vitamin D. Inflamasi karena paparan asap rokok tergolong akut, subakut dan kronik (Lugg *dkk.*, 2022). Rentang waktu inflamasi paparan asap rokok yaitu inflamasi akut terjadi <2 minggu paparan, inflamasi subakut 2-8 minggu, inflamasi kronik >8 minggu (Hepworth *dkk.*, 2019; Pahwa *dkk.*, 2022). Penelitian sebelumnya menemukan bahwa jumlah monosit di sirkulasi tidak berpengaruh terhadap inflamasi akut (Van Der Vaart *dkk.*, 2004; Kastelein *dkk.*, 2017). Penelitian lain yang memaparkan 12 batang rokok/hari selama 5 dan 14 hari akan mengalami inflamasi akut (Da Silva *dkk.*, 2017). Paparan asap rokok akan menurunkan jumlah monosit klasik dan meningkatkan jumlah monosit non klasik (Da Silva *dkk.*, 2017). Sedangkan penelitian lain, menyebutkan perokok 10 batang/hari menyebabkan peningkatan jumlah monosit setelah 6 bulan merokok (Baluku *dkk.*, 2022). Paparan rokok 4 batang diberikan 3 kali/hari selama 30 hari menyebabkan inflamasi subakut, ditandai dengan diferensiasi monosit ke jaringan inflamasi (Da Silva *dkk.*, 2017). Penelitian

lain yang memaparkan asap rokok 3 kali berturut-turut menunjukkan penurunan monosit disirkulasi pada 48 jam dan mulai bermigrasi ke jaringan inflamasi pada 72 jam (Pérez-Rial *dkk.*, 2013). Sementara penelitian ini memberikan frekuensi <3 kali/hari yang diduga mengalami diferensiasi monosit dan migrasi monosit ke jaringan inflamasi. Frekuensi paparan asap rokok yang rendah menyebabkan jumlah monosit normal dikaitkan dengan inflamasi akut (Anandha Lakshmi *dkk.*, 2014).

Adanya selang waktu antar paparan menyebabkan perbaikan sel, radikal bebas masuk pada 6 jam paparan dan akan kembali normal 24 jam setelahnya (Van Der Vaart *dkk.*, 2004). Jika paparan rokok berlangsung lama maka akan mengganggu perbaikan sel (Heijink *dkk.*, 2012; Pedersen *dkk.*, 2019). Selaras dengan penelitian B. Thaler 2016 bahwasanya monosit mengalami perbaikan setelah 24 jam pada inflamasi akut (Thaler *dkk.*, 2016). Penelitian ini memiliki waktu yang cukup untuk perbaikan sel sekitar 20 hingga 45 jam pada kelompok kontrol maupun perlakuan. Semua kelompok kontrol dan perlakuan memiliki 45 jam, kecuali kelompok perlakuan dengan frekuensi 2 kali 4 batang setiap hari memiliki waktu 20 jam untuk perbaikan monosit.

Jumlah monosit juga dipengaruhi oleh jenis kelamin, pola makan, olahraga dan usia memengaruhi sistem kekebalan (Patel *dkk.*, 2021). Laki-laki dan perempuan memiliki jumlah monosit sama (Patel dan Yona, 2019). Pola makan dengan jumlah yang banyak dan tinggi lemak meningkatkan jumlah monosit (Patel dan Yona, 2019). Pola tidur memengaruhi jumlah

monosit yaitu menurun di pagi hari dan meningkat di malam hari sesuai pola diurnal (Patel dan Yona, 2019). Olahraga meningkatkan jumlah monosit karena vasodilatasi sirkulasi (Patel dan Yona, 2019). Penelitian ini menggunakan tikus jantan dengan pemberian pakan standar tanpa adanya olahraga selama adaptasi maupun perlakuan serta pengambilan sampel darah pada pagi hari.

Asap rokok memiliki pengaruh jumlah monosit berdasarkan kekebalan imun, rekrutmen monosit, fenotip monosit dan homeostasis (Lugg *dkk.*, 2022). Monosit memiliki peran saat keadaan normal dan inflamasi (Tay *dkk.*, 2020). Saat tubuh normal monosit akan dipertahankan selama homeostasis sebagai prekursor makrofag (Lugg *dkk.*, 2022). Penelitian sebelumnya mengatakan saat inflamasi akut maka jumlah monosit di sirkulasi tidak terpengaruh sementara akan meningkat saat inflamasi kronik (Van Der Vaart *dkk.*, 2004; Da Silva *dkk.*, 2017; Lugg *dkk.*, 2022). Asap rokok mengubah fenotip monosit darah dan sumsum tulang, monosit klasik menurun dan monosit non klasik meningkat (Lin *dkk.*, 2022). Penurunan monosit klasik karena akan berdiferensiasi menjadi makrofag ke jaringan inflamasi dan peningkatan monosit non klasik akibat pelepasan sitokin proinflamasi makrofag seperti M-CSF dan GM-CSF sehingga terjadi proliferasi sumsum tulang dan menyebabkan peningkatan monosit dalam rekrutmen ke sirkulasi (Da Silva *dkk.*, 2017; Lin *dkk.*, 2022). Sistem imun yang rentan lebih mudah meningkatkan jumlah monosit karena peningkatan sitokin proinflamasi sehingga mudah terjadi penyakit inflamasi paru (Pérez-

Rial *dkk.*, 2013). Akan tetapi karena penelitian ini mengalami kondisi inflamasi akut sehingga homeostasis, sistem imun, fenotip monosit dan rekrutmen monosit belum terjadi sehingga kondisi inflamasi kronik belum terpenuhi serta belum diketahui secara pasti monosit ini berasal dari monosit klasik atau monosit non klasik.

Penelitian sebelumnya menyebutkan merokok dapat mempengaruhi kadar VDR yang dapat menurunkan fungsi monosit, walaupun kadar 25-*hydroxyvitamin D* tidak terpengaruh (Bouillon *dkk.*, 2008). Pemaparan asap rokok pada hari ke 7 dan 14 menyebabkan penurunan VDR (Okrit *dkk.*, 2021). Pemberian suplementasi vitamin D mampu meningkatkan aktivitas VDR dan CYP27B1 pada monosit sehingga membantu menginduksi diferensiasi makrofag serta menurunkan respon inflamasi di sirkulasi (Meireles *dkk.*, 2016). Pemberian vitamin D selama 2 minggu mampu membantu migrasi monosit dengan bantuan VEGF yang membaik (Stadler *dkk.*, 2007).

Pada kelompok kontrol dengan frekuensi asap rokok 1 kali 8 batang dan 2 kali 4 batang dalam 2 hari sekali memiliki jumlah monosit 1% disebabkan karena terjadi inflamasi akut. Selain itu, dengan faktor rokok yang memengaruhi seperti jumlah batang rokok yang dipaparkan, frekuensi paparan asap rokok, serta waktu selang merokok membantu monosit lebih cepat melakukan *recovery* sehingga jumlah monosit normal. Hal ini sama dengan kelompok P₁ karena faktor rokok dan pemberian vitamin D selama 14 hari membantu diferensiasi monosit ke jaringan inflamasi (Bouillon *dkk.*,

2008). Namun untuk mengetahui fenotip monosit pada penelitian ini belum diketahui secara pasti.

Pada kelompok kontrol dengan pemberian vitamin D memiliki jumlah monosit 1% disebabkan karena tidak ada stimulasi yang merangsang monosit untuk mengubah vitamin D menjadi aktif, sehingga interaksi vitamin D dengan monosit tidak terjadi karena monosit hanya ditemukan saat inflamasi (Zhang *dkk.*, 2022). Penurunan kadar vitamin D tidak hanya disebabkan oleh asap rokok, tetapi juga kurang terpapar sinar matahari maupun faktor lain (Mangin *dkk.*, 2014). Penelitian ini sesuai dengan Bouillon *et al.*, 2008, orang sehat kadar 1α -hydroxylase tidak ada atau rendah karena keterbatasan mendapat sinar matahari akibat terhalang bulu tikus yang tebal (Marcinkowska, 2001).

Pada kelompok perlakuan dengan frekuensi paparan asap rokok 2 kali 4 batang dalam 2 hari sekali dan setiap hari mengalami peningkatan jumlah monosit, namun pada kelompok perlakuan dengan frekuensi paparan asap rokok 2 kali 4 batang setiap hari mengalami penurunan diduga monosit berdiferensiasi ke paru karena pengaruh vitamin D. Suplementasi vitamin D memperkuat fungsi monosit dalam kekebalan imun (Bouillon *dkk.*, 2008). Pemberian vitamin D pada tikus yang terpapar asap rokok membantu perekrutan monosit ke jaringan inflamasi (Heulens *dkk.*, 2016). Sehingga pada kelompok perlakuan dengan frekuensi 2 kali 4 batang dalam dua hari sekali memiliki jumlah monosit yang lebih rendah dibanding kelompok perlakuan dengan frekuensi 2 kali 4 batang setiap hari karena monosit telah

berdiferensiasi ke jaringan inflamasi dengan bantuan vitamin D.

Penelitian ini menyimpulkan bahwa pada paparan rokok fase akut sudah ditemukan inflamasi terlebih bila paparannya sering maka ditandai dengan peningkatan jumlah monosit walaupun hasilnya tidak berbeda signifikan dengan kelompok yang tidak dipapar asap rokok, jumlah monosit yang normal karena faktor pengambilan darah, fase inflamasi rokok, serta pengaruh vitamin D yang meningkatkan peran monosit dalam diferensiasi monosit (Manion *dkk.*, 2017; Bikle dan Schwartz, 2019).

Penelitian ini memiliki keterbatasan yaitu tidak diperiksanya diferensiasi makrofag di paru.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

5.2.1. Tidak terdapat pengaruh frekuensi paparan asap rokok terhadap jumlah monosit pada tikus yang diberi vitamin D.

5.2.2. Tidak terdapat perbedaan monosit antara kelompok kontrol dan perlakuan yang terpapar asap rokok 1 kali 8 batang dan 2 kali 4 batang dengan diberikan vitamin D.

5.2.3. Tidak terdapat perbedaan monosit antara kelompok kontrol yang terpapar asap rokok 1 kali 8 batang dan 2 kali 4 batang yang diberi vitamin D dengan kelompok kontrol tidak terpapar asap rokok tetapi diberi vitamin D.

5.2.4. Tidak terdapat perbedaan jumlah monosit antara kelompok dengan frekuensi paparan asap rokok dua kali empat batang pada frekuensi paparan dua hari sekali dan setiap hari.

5.2. Saran

5.2.1. Perlu dilakukan penelitian terhadap peran monosit dan diferensiasi makrofag pada paru sehingga menyempurnakan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K. dkk. (2020) *Basic Immunology Functions and Disorders of The Immune System*. Sixth Edition. Diedit oleh Elsevier. China: Eddy, Julie.
- Almerighi, C. dkk. (2009) “1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits CD40L-induced pro-inflammatory and immunomodulatory activity in Human Monocytes,” *Cytokine*, 45(3), hal. 190–197. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2008.12.009>.
- Anandha Lakshmi, S. dkk. (2014) “Effect of intensity of cigarette smoking on haematological and lipid parameters,” *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(7). Tersedia pada: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/9545.4612>.
- Ardiaria, M. (2020) “Peran Vitamin D dalam Pencegahan Influenza dan Covid-19,” *Jurnal Nutrisi dan Kesehatan*, Vol.8 No.2.
- Baluku, J.B. dkk. (2022) “Cigarette smoking is associated with an increase in blood monocytes in people with tuberculosis: A cross-sectional study,” *Medicine (United States)*, 101(37), hal. E30737. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000030737>.
- Bikle, D.D. dan Schwartz, J. (2019) “Vitamin D binding protein, total and free Vitamin D levels in different physiological and pathophysiological conditions,” *Frontiers in Endocrinology*. Frontiers Media S.A. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00317>.
- Bouillon, R. dkk. (2008) “Vitamin D and Human Health: Lessons from Vitamin D Receptor Null Mice,” *Endocrine Reviews*, 29(6), hal. 726–776. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1210/er.2008-0004>.
- Cormican, S. dan Griffin, M.D. (2020) “Human Monocyte Subset Distinctions and Function: Insights From Gene Expression Analysis,” *Frontiers in Immunology*, 11. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01070>.
- Dartanto Rus'an, T. dkk. (2020) *Tackling Smoking among Children: Price and Peer Effects in Indonesia*.
- Durrant, L.R. dkk. (2022) “Vitamins D2 and D3 Have Overlapping But Different Effects on the Human Immune System Revealed Through Analysis of the Blood Transcriptome,” *Frontiers in Immunology*, 13. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.790444>.
- El-Sharkawy, A. dan Malki, A. (2020) “Vitamin D signaling in inflammation and cancer: Molecular mechanisms and therapeutic implications,” *Molecules*. MDPI AG. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3390/molecules25143219>.
- Ernawati, F. dkk. (2015) “Status Vitamin D Terkini Anak Indonesia Usia 2,0-12,9 Tahun,” *Jurnal Gizi* [Preprint].
- Fauzi, R. dkk. (2017) *Hubungan Terpaan Iklan, Promosi, Sponsor Rokok dengan Statis Merokok di Indonesia*.
- Giebe, S. dkk. (2021) “Comparative study of the effects of cigarette smoke versus next generation tobacco and nicotine product extracts on endothelial function,” *Redox Biology*, 47. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102150>.

- Greg Chido-Amajuoyi, O. *dkk.* (2017) "Cigarette Smoking Frequency, Quantity, Dependence, and Quit Intentions during Adolescence: Comparison of Menthol and Non-Menthol Smokers."
- Harrison, S.R. *dkk.* (2020) "Vitamin D, Autoimmune Disease and Rheumatoid Arthritis," *Calcified Tissue International*. Springer, hal. 58–75. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s00223-019-00577-2>.
- Heijink, I.H. *dkk.* (2012) "Cigarette smoke impairs airway epithelial barrier function and cell-cell contact recovery," *European Respiratory Journal*, 39(2), hal. 419–428. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1183/09031936.00193810>.
- Hepworth, M.L. *dkk.* (2019) "Losartan does not inhibit cigarette smoke-induced lung inflammation in mice," *Scientific Reports*, 9(1). Tersedia pada: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51504-2>.
- Heulens, N. *dkk.* (2016) "1,25-dihydroxyvitamin D modulates antibacterial and inflammatory response in human cigarette smoke-exposed macrophages," *PLoS ONE*, 11(8). Tersedia pada: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160482>.
- Holick, M.F. (2010) *Vitamin D, Second Edition: Physiology, Molecular Biology, and Clinical Applications (Nutrition and Health)*. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-303-9>.
- Husten, C.G. (2009) "How should we define light or intermittent smoking? Does it matter?," *Nicotine and Tobacco Research*, 11(2), hal. 111–121. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1093/ntr/ntp010>.
- Ismailova, A. dan White, J.H. (2022) "Vitamin D, infections and immunity," *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. Springer, hal. 265–277. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s11154-021-09679-5>.
- Jeanson, N.T. dan Scadden, D.T. (2010) "Vitamin D receptor deletion leads to increased hematopoietic stem and progenitor cells residing in the spleen," *Blood*, 116(20), hal. 4126–4129. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1182/blood-2010-04-280552>.
- Kastelein, T. *dkk.* (2017) "Human in situ cytokine and leukocyte responses to acute smoking," *Journal of Immunotoxicology*, 14(1), hal. 109–115. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1080/1547691X.2017.1332699>.
- Kemen PPPA (2020) "Profil Anak Indonesia 2020."
- Kianoush, S. *dkk.* (2017) "Associations of Cigarette Smoking With Subclinical Inflammation and Atherosclerosis: ELSA-Brasil (The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health)," *Journal of the American Heart Association*, 6(6). Tersedia pada: <https://doi.org/10.1161/JAHA.116.005088>.
- Kratofil, R.M. *dkk.* (2017) "Monocyte conversion during inflammation and injury," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. Lippincott Williams and Wilkins, hal. 35–42. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.116.308198>.
- Lange, N.E. *dkk.* (2012) "Vitamin D Deficiency, Smoking, and Lung Function in the Normative Aging Study," *Am J Respir Crit Care Med*, Volume 186, hal. 616–621. Tersedia pada:

1868OC.

- Lee, H. dkk. (2015) "Interaction of Vitamin D and smoking on inflammatory markers in the urban elderly," *Journal of Preventive Medicine and Public Health*, 48(5), hal. 249–256. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3961/jpmph.15.042>.
- Lee, J. dkk. (2012) "Cigarette smoking and inflammation: Cellular and molecular mechanisms," *Journal of Dental Research*, hal. 142–149. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1177/0022034511421200>.
- Lewar, L. subanraya (2018) *Perbedaan Jumlah Monosit dan Laju Endap Darah pada Penderita Tuberkulosis Paru Lesi Luas, Lesi Minimal dan Pasien Sehat di RSUD dr. Saiful Anwar Malang*.
- Lin, C.H. dkk. (2022) "Blood monocyte levels predict the risk of acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: a retrospective case-control study," *Scientific Reports*, 12(1). Tersedia pada: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25520-8>.
- Lugg, S.T. dkk. (2022) "Cigarette smoke exposure and alveolar macrophages: Mechanisms for lung disease," *Thorax*, 77(1), hal. 94–101. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2020-216296>.
- Madani, A. dkk. (2018) "Immune-regulating effects of exercise on cigarette smoke-induced inflammation," *Journal of Inflammation Research*. Dove Medical Press Ltd, hal. 155–167. Tersedia pada: <https://doi.org/10.2147/JIR.S141149>.
- Mangin, M. dkk. (2014) "Inflammation and vitamin D: the infection connection," *Inflammation Research*. Birkhauser Verlag AG, hal. 803–819. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1007/s00011-014-0755-z>.
- Manion, M. dkk. (2017) "Vitamin D deficiency is associated with IL-6 levels and monocyte activation in HIV-infected persons," *PLoS ONE*, 12(5). Tersedia pada: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175517>.
- Marcinkowska, E. (2001) "A run for a membrane vitamin d receptor," *NeuroSignals*, 10(6), hal. 341–349. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1159/000046902>.
- Marcinkowska, E. (2020) "The Vitamin D System in Humans and Mice: Similar but Not the Same," *Reports — Medical Cases, Images, and Videos*, 3(1), hal. 1. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3390/reports3010001>.
- de Marcken, M. dkk. (2019) "TLR7 and TLR8 activate distinct pathways in monocytes during RNA virus infection," *Science Signaling*, 12(605). Tersedia pada: <https://doi.org/10.1126/scisignal.aaw1347>.
- Mazzone, P. dkk. (2010) "Pathophysiological impact of cigarette smoke exposure on the cerebrovascular system with a focus on the blood-brain barrier: Expanding the awareness of smoking toxicity in an underappreciated area," *International Journal of Environmental Research and Public Health*. MDPI, hal. 4111–4126. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3390/ijerph7124111>.
- McMichael, M.A. (2022) "Overview of Hemostasis," in *Schalm's Veterinary Hematology*. Wiley, hal. 763–786. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1002/9781119500537.ch87>.

- Meireles, M.S. *dkk.* (2016) “Effect of cholecalciferol on vitamin D-regulatory proteins in monocytes and on inflammatory markers in dialysis patients: A randomized controlled trial,” *Clinical Nutrition*, 35(6), hal. 1251–1258. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2016.04.014>.
- Milasari, S.N. *dkk.* (2018) “Korelasi Antara Jumlah Monosit dan Neutrofil Perokok dan NonPerokok di Warung Kopi Kawasan Wonocolo, Surabaya,” *Jurnal ERGASTERIO*, Volume 05, No.02.
- Mousa, H. *dkk.* (2021) “Serum 25-hydroxyvitamin d is inversely associated with monocyte percentage to hdl cholesterol ratio among young healthy adults in qatar,” *Nutrients*, 13(1), hal. 1–11. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3390/nu13010127>.
- Nair, R. dan Maseeh, A. (2012) “Vitamin D: Vitamin ‘Sinar Matahari,’” *Journal Pharmacol Pharmacother*, hal. 118–126.
- Nielsen, M.C. *dkk.* (2020) “Monocyte isolation techniques significantly impact the phenotype of both isolated monocytes and derived macrophages in vitro,” *Immunology*, 159(1), hal. 63–74. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1111/imm.13125>.
- Nurminen, V. *dkk.* (2019) “Primary Vitamin D target genes of human monocytes,” *Frontiers in Physiology*, 10(MAR). Tersedia pada: <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00194>.
- Okrit, F. *dkk.* (2021) “Changes of vitamin D receptors (VDR) and MAPK activation in cytoplasmic and nuclear fractions following exposure to cigarette smoke with or without filter in rats,” *Heliyon*, 7(1). Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e05927>.
- Pahwa, R. *dkk.* (2022) *Chronic Inflammation*. StatPearls Publishing LLC. Tersedia pada: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493173/#!po=84.0909> (Diakses: 3 Februari 2023).
- Patel, A.A. *dkk.* (2017) “The fate and lifespan of human monocyte subsets in steady state and systemic inflammation,” *Journal of Experimental Medicine*, 214(7), hal. 1913–1923. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1084/jem.20170355>.
- Patel, A.A. *dkk.* (2021) “Monocytes, macrophages, dendritic cells and neutrophils: an update on lifespan kinetics in health and disease,” *Immunology*. John Wiley and Sons Inc, hal. 250–261. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1111/imm.13320>.
- Patel, A.A. dan Yona, S. (2019) “Inherited and Environmental Factors Influence Human Monocyte Heterogeneity,” *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02581>.
- Pedersen, K.M. *dkk.* (2019) “Smoking and Increased White and Red Blood Cells: A Mendelian Randomization Approach in the Copenhagen General Population Study,” *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 39(5), hal. 965–977. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.118.312338>.
- Pérez-Rial, S. *dkk.* (2013) “Role of Recently Migrated Monocytes in Cigarette Smoke-Induced Lung Inflammation in Different Strain of Mice,” *PLoS*

- ONE, 8(9). Tersedia pada: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072975>.
- Prietl, B. dkk. (2013) "Vitamin D and immune function," *Nutrients*, 5(7), hal. 2502–2521. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3390/nu5072502>.
- Rahfiludin, M.Z. dan Ginandjar, P. (2013) "Tidak ada perbedaan respon imun perokok berat dan perokok ringan karena asupan mikronutrien," *Jurnal Gizi Indonesia*, Vol. 2, No. 1, hal. 12–14.
- Ramadhan, K. dkk. (2017) *Hubungan Tingkat Stres dengan Frekuensi Merokok Mahasiswa Kedokteran Universitas Lampung*.
- Ramanathan, G. dkk. (2020) "E-cigarette exposure decreases bone marrow hematopoietic progenitor cells," *Cancers*, 12(8), hal. 1–15. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3390/cancers12082292>.
- Rao Muvva, J. dkk. (2020) "Polarization of Human Monocyte-Derived Cells With Vitamin D Promotes Control of Mycobacterium tuberculosis Infection," *Frontiers in Immunology*, 10. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03157>.
- Ren, W. dkk. (2016) "The effect of cigarette smoking on vitamin D level and depression in male patient with acute ischemic stroke," *Compr Psychiatry* [Preprint]. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.comppsy.2015.09.006>.
- Rimbawan dkk. (2019) *Pedoman Evaluasi Mutu Gizi dan Non Gizi Pangan*.
- Riska Rositaa dkk. (2012) "Penentu Keberhasilan Berhenti Merokok Pada Mahasiswa," *Jurnal Kesehatan Masyarakat* [Preprint]. Tersedia pada: <http://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/kemas>.
- Risyaf, F. (2016) "Perilaku Merokok Masyarakat Indonesia."
- Rosas-Peralta, M. dkk. (2017) "Dysfunctional immunometabolic effects of vitamin D deficiency, increased cardiometabolic risk. Potential epidemiological alert in America?," *Endocrinología, Diabetes y Nutrición (English ed.)*, 64(3), hal. 162–173. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.endien.2017.04.006>.
- Rua, R. dan McGavern, D.B. (2015) "Elucidation of monocyte/macrophage dynamics and function by intravital imaging," *Journal of Leukocyte Biology*, 98(3), hal. 319–332. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1189/jlb.4ri0115-006rr>.
- Rusmini, H. dkk. (2019) "Pengaruh Vitamin D3 Terhadap Kadar Hemoglobin Tikus Wistar yang Dipapar Asap Rokok," *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 1(1), hal. 22–28.
- Shi, C. dan Pamer, E.G. (2011) "Monocyte recruitment during infection and inflammation," *Nature Reviews Immunology*, hal. 762–774. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1038/nri3070>.
- Da Silva, C.O. dkk. (2017) "Time course of the phenotype of blood and bone marrow monocytes and macrophages in the Lung after cigarette smoke exposure in vivo," *International Journal of Molecular Sciences*, 18(9). Tersedia pada: <https://doi.org/10.3390/ijms18091940>.
- Stadler, N. dkk. (2007) "Smoking-induced monocyte dysfunction is reversed by vitamin C supplementation in vivo," *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27(1), hal. 120–126. Tersedia pada:

- <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000250614.97896.4c>.
- Tay, H.M. *dkk.* (2020) "Increased monocyte-platelet aggregates and monocyte-endothelial adhesion in healthy individuals with vitamin D deficiency," *The FASEB Journal*, 34(8), hal. 11133–11142. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1096/fj.202000822R>.
- Thaler, B. *dkk.* (2016) "Differential in vivo activation of monocyte subsets during low-grade inflammation through experimental endotoxemia in humans," *Scientific Reports*, 6. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1038/srep30162>.
- Van Der Vaart, H. *dkk.* (2004) "Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: A review," *Thorax*, hal. 713–721. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1136/thx.2003.012468>.
- Wermuth, P.J. dan Jimenez, S.A. (2015) "The significance of macrophage polarization subtypes for animal models of tissue fibrosis and human fibrotic diseases," *Clinical and Translational Medicine*, 4(1). Tersedia pada: <https://doi.org/10.1186/s40169-015-0047-4>.
- Wilson, D. *dkk.* (1992) "Characteristics of heavy smokers," *Preventive Medicine*, 21(3), hal. 311–319. Tersedia pada: [https://doi.org/10.1016/0091-7435\(92\)90030-L](https://doi.org/10.1016/0091-7435(92)90030-L).
- Yang, J. *dkk.* (2014) "Monocyte and macrophage differentiation: Circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases," *Biomarker Research*, 2(1). Tersedia pada: <https://doi.org/10.1186/2050-7771-2-1>.
- Yang, L. *dkk.* (2021) "Smoking behavior and circulating vitamin D levels in adults: A meta-analysis," *Food Science and Nutrition*, 9(10), hal. 5820–5832. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1002/fsn3.2488>.
- Yin, K. dan Agrawal, D.K. (2014) "Vitamin D and inflammatory diseases," *Journal of Inflammation Research*. Dove Medical Press Ltd, hal. 69–87. Tersedia pada: <https://doi.org/10.2147/JIR.S63898>.
- Zhang, Wenji *dkk.* (2022) "Nicotine in Inflammatory Diseases: Anti-Inflammatory and Pro-Inflammatory Effects," *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.826889>.
- Zuckerman, S.H. *dkk.* (1979) "Long-term human peripheral blood monocyte cultures: establishment, metabolism and morphology of primary human monocyte-macrophage cell cultures," *Immunology*, 38, hal. 401.