

PENGARUH PAPARAN ASAP ROKOK ELEKTRIK (*VAPOUR*) DENGAN BERBAGAI VARIASI DOSIS TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI BRONKIOLUS MENCIT (*Mus musculus*)

THE EFFECT OF ELECTRIC CIGARRETE SMOKE EXPOSURE WITH A VARIETY OF DOSES TOWARDS BRONCHIOLUS HISTOLOGICAL IMAGE OF MICE (Mus musculus)

Oleh: Aprilia Nurul Aini, Tri Harjana, M.P.; Universitas Negeri Yogyakarta
aprilias74fmipa@student.uny.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh paparan asap rokok elektrik dengan berbagai variasi dosis terhadap gambaran histologi bronkiolus mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen rancangan acak lengkap satu faktor. Objek yang digunakan adalah enam belas mencit jantan berumur 2-3 bulan dengan berat rata-rata 29gram yang terbagi dalam empat kelompok yakni satu kelompok kontrol (K) yang tidak diberi pengasapan, dan tiga kelompok perlakuan yang terdiri dari kelompok P1(10 kali hisapan perhari), kelompok P2 (20 kali hisapan perhari), serta kelompok P3(30 hisapan perhari), yang setiap kelompok perlakuan terdiri dari empat ulangan. Data yang diamati adalah luas penutupan mukus bronkiolus. Analisis yang dilakukan adalah uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui pengaruh dosis asap rokok elektrik terhadap gambaran histopatologi paru-paru mencit yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc DMRT (Duncan's Multiple Range Test)* taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata (p -value<0,05) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Uji beda DMRT dilakukan selanjutnya dan diketahui bahwa kelompok perlakuan 30 kali hisapan per hari memberikan pengaruh yang paling besar terhadap luas penutupan mukus bronkiolus.

Kata kunci: Rokok elektrik, bronkiolus mencit, luas penutupan mukus

Abstract

This study was aimed to get information about the effect of electric cigarette (vapour) on the bronchial histology of mice (Mus musculus). This research is experimental research with random assesment sampling one factor test. Sixteen male mice of 2-3 months old were divided into four groups, that are group K or control received no smokes from electric cigarette and three treatment groups which is consisted of group P1 (received 10 times inhalation per day of smokes), group P2 (received 20 times inhalation per day of smokes) and group P3 (received 30 times inhalation per day of smokes) for a month. At the end of the experiment, the mice were euthanized to collect the lung sample. The lungs were processed to prepare the histopathology slides with Hematoxyllin-Eosin stain. The parameters observed include measuring the width of bronchial mucus coverage. Quantitative data were analyzed using analyzing software and ANOVA test continued by Post Hoc of DMRT (Duncan's Multiple Range Test) 5% test. The result showed that electric cigarette (vapour) smoke treatment really affect (p-value 0,05) the width of bronchus and bronchial mucus coverage from the result of ANOVA. The test is continued by the difference test (DMRT) which is known that P3 group (30 times inhalation per day of smokes) is the most significant group which is affect the coverage based on.

Keyword: Electric cigarette, mice bronchial, width mucus coverage

PENDAHULUAN

Salah satu jenis rokok yang tengah menjadi fenomena baru di tengah masyarakat Indonesia adalah rokok elektrik. Beberapa kalangan perokok mencoba beralih ke rokok elektrik karena dianggap lebih aman dan *stylish* tanpa mengurangi sensasi merokok seperti rokok konvensional. WHO tidak lagi merekomendasikan penggunaannya sebagai NRT mulai tahun 2010 karena beberapa studi menemukan kandungan zat yang dapat menjadi racun dan karsinogen sehingga dinyatakan tidak memenuhi unsur keamanan. Regulasi resmi yang mengatur mengenai peredaran dan penggunaan rokok elektrik di Indonesia hingga saat ini pun belum ada. (Direktorat Pengawasan Narkotika, Psikotropika dan Zat Adiktif, 2015: 3-5).

Cairan yang digunakan dalam rokok elektrik memiliki tingkatan kadar nikotin dari mulai 0mg hingga 9mg mengikuti pasar. Selain nikotin, ada pula *propylene glycol*, *glycerin*, dan *essence* (perasa) yang terkandung dalam cairan rokok elektrik. Semua bahan-bahan kimia tersebut dapat dikategorikan sebagai radikal bebas dan toksikan bila masuk ke tubuh manusia

Banyak orang yang merasa bahwa jenis rokok yang satu ini aman digunakan, namun kasus-kasus gangguan pernapasan akibat penggunaan rokok elektrik ini terus bermunculan.

Penelitian yang dilakukan oleh Triana, dkk. (2015: 5) mengenai gambaran histologi pulmo mencit jantan (*Mus musculus*) setelah dipapari asap rokok elektrik menggunakan jenis rokok elektrik *e-health cigarette* dengan kandungan rasa strawberry dan gudang garam secara kontinyu selama dua minggu, diperoleh

hasil bahwa terjadi kerusakan pada struktur mikroanatomi paru-parunya.

Brokiolus merupakan bagian terakhir dari zona konduksi saluran pernapasan sebelum memasuki zona respirasi yakni duktus dan sakus alveoli, sehingga peran bronkiolus sebagai benteng pertahanan untuk menghalau zat-zat berbahaya sangatlah penting. Banyak penyakit paru yang menimbulkan penyempitan bronkiolus, salah satunya adalah akibat produksi mukus yang berlebih dalam rangka pertahanan diri dari toksikan berukuran mikro seperti partikel pada asap rokok elektrik.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan perlakuan pemaparan asap rokok elektrik dengan berbagai dosis terhadap mencit (*Mus musculus*). Adapun pembagian perlakuan mengacu pada Rahmawati (2016: 71) dengan dimodifikasi adalah sebagai berikut.

- K : kontrol yaitu kelompok tanpa paparan asap rokok elektrik
- P1 : kelompok perlakuan dengan paparan asap rokok elektrik dosis 10 kali hisapan per hari
- P2 : kelompok perlakuan dengan paparan asap rokok elektrik dosis 20 kali hisapan per hari
- P3 : kelompok perlakuan dengan paparan asap rokok elektrik dosis 30 kali hisapan per hari.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada 5 Januari sampai 9 Maret 2018. Lokasi penelitian pemeliharaan dan pengasapan tikus dilakukan di Klebengan, Caturtunggal, Depok, Sleman. Pembuatan preparat

(awetan) histologi paru-paru mencit dilakukan di Fakultas Kedokteran UGM.

Objek Penelitian

Objek penelitian yang digunakan adalah mencit putih jantan galur Swiss berumur 2 bulan dengan rerata berat 29 gram.

Prosedur

1. Perlakuan pada Mencit

Mencit dipelihara dalam kandang berupa toples besar dan tutup kawat, alas tidur berupa sekam yang diganti secara berkala untuk menjaga kebersihan kandang mencit. Pemberian pakan dan minum dilakukan secara *ad libitum*. Perlakuan pada mencit dimulai dengan aklimatisasi mencit selama satu minggu. Dilanjutkan dengan pemeliharaan 16 ekor tikus yang dibagi dalam 4 kelompok, sesuai dengan penentuan variasi dosis asap rokok elektrik dengan kode K, P1, P2 dan P3. Setelah 30 hari, mencit siap untuk diambil organ paru-parunya. Pemaparan menggunakan metode Triana, dkk (2013: 2) dengan modifikasi. Pemaparan asap rokok setiap hari berturut-turut dengan dosis 10, 20, dan 30 kali hisapan selama 30 hari. Setiap 10 hisapan, ditunggu selama 3 menit yang kemudian dihilangkan dengan membuka tutup smoking box sebelum ditutup kembali untuk melakukan paparan selanjutnya.

2. Pembuatan Sediaan Histologi Paru-paru Mencit

Pembuatan sediaan histologis dilakukan menggunakan metode parafin (Suntoro, 1983: 48-72) dengan tahapan pengambilan contoh jaringan, fiksasi, dehidrasi, penjernihan, infiltrasi (penyusupan), pemancangan atau

embedding, pemotongan, pewarnaan hemaktosilin-eosin (HE) dan preparasi.

3. Pengukuran Luas Penutup Mukus Bronkiolus

Pengukuran luas penutupan mukus bronkiolus dilakukan menggunakan mikrometer yang telah dikalibrasi sesuai dengan perbesaran lensa mikroskop. Hasil kalibrasi lalu digunakan untuk mengukur luas penutupan mukus bronkiolus dengan mengikuti lajur penutupan mukus pada lapisan epitel bronkiolus yang terlihat. Data yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam tabel hasil pengamatan

Teknik Pengupulan Data

Data pada penelitian ini diperoleh dari pengukuran luas penutupan mukus bronkiolus (μm^2) dari sediaan histologis paru-paru mencit yang terpapar asap rokok elektrik dengan berbagai variasi dosis selama 30 hari dibandingkan luas penutupan mukus bronkiolus dari sediaan histologis paru-paru mencit normal (tanpa perlakuan).

Teknik Analisis Data

Dilakukan uji normalitas dan homogenitas data pada gambaran histologi bronkiolus mencit. Data terdistribusi normal dan homogen diuji dengan *One Way ANOVA*. Bila terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan *Post Hoc* analisis DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk melihat perlakuan mana yang memberikan pengaruh paling besar. Semua analisis data dilakukan dengan menggunakan bantuan aplikasi pengolahan data statistik.

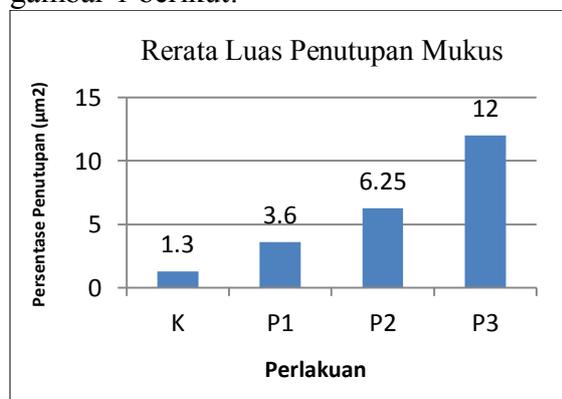
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian yang telah dilakukan tentang pengaruh paparan asap rokok elektrik (vapour) dengan berbagai variasi dosis terhadap gambaran histologi bronkiolus mencit (*Mus musculus*), diperoleh data hasil pengamatan pada setiap kelompok perlakuan sebagaimana disajikan pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Rerata Luas (μm^2) Penutupan Mukus Bronkiolus

Kode	Dosis	Ulangan	Rerata Penutupan Mukus (μm^2)	Rerata (μm^2)
K	0 kali hisapan/hari	1	3	1,3
		2	0	
		3	2,5	
		4	0	
P1	10 kali hisapan/hari	1	10	3,6
		2	2	
		3	2,5	
		4	0	
P2	20 kali hisapan/hari	1	6	6,25
		2	12	
		3	3	
		4	4	
P3	30 kali hisapan/hari	1	10,5	12
		2	9,5	
		3	15	
		4	13	

Perbandingan rerata luas penutupan mukus antar kelompok perlakuan tertuang dalam gambar 1 berikut.



Gambar 1. Diagram Perbandingan Luas Penutupan Mukus Bronkiolus (μm^2)

terhadap Dosis Pengasapan Rokok Elektrik

Data yang terdistribusi normal dan homogen dianalisis pengaruhnya menggunakan *One Way ANOVA*. Uji statistik ini dilakukan untuk mengetahui bahwa paling sedikit satu kelompok menunjukkan nilai yang lebih besar secara signifikan daripada kelompok lainnya kemudian untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna diantara dua kelompok perlakuan dilakukan uji statistik yang tertuang dalam tabel berikut

Tabel 2. Hasil Analisis *One Way ANOVA*

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	246,188	3	82,062	7,175	0,005
Within Groups	137,250	12	11,438		
Total	383,438	15			

Hasil perhitungan statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* pada tabel 6, didapatkan nilai probabilitas (*p-value*)=0,005. Oleh karena nilai probabilitas (*p-value*)<0,05, maka dapat diambil kesimpulan bahwa paling tidak terdapat satu kelompok menunjukkan nilai-nilai yang lebih besar daripada kelompok lainnya.

Dilakukan analisis DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) taraf 5%. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai nilai-nilai yang lebih besar

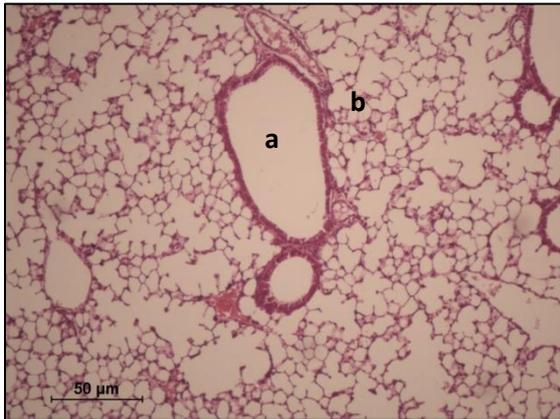
Tabel 3. Hasil Analisis DMRT

	Dosis	N	Subset for alpha = 0,05	
			1	2
Duncan ^a	0	4	1,250	
	10	4	3,500	
	20	4	6,250	
	30	4		11,7500
	Sig.			0,069

Hasil perhitungan uji statistik lanjut menggunakan metode DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) taraf 5%

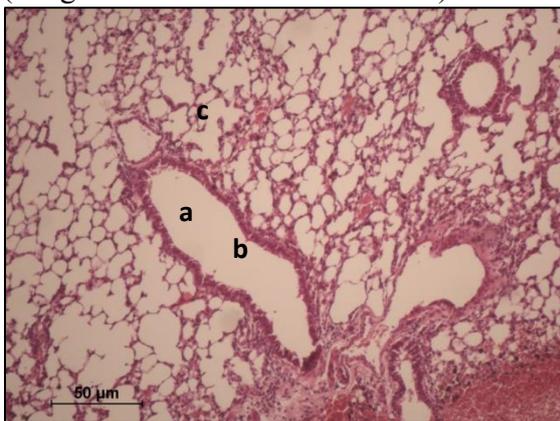
menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada perlakuan kontrol dengan P3 dilihat dari perbedaan subset antara kelompok kontrol dan kelompok P3. Dimana kelompok kontrol berada pada subset satu sedangkan kelompok P3 berada pada subset dua.

Hasil mikrofotograf dari masing-masing perlakuan dapat dilihat pada gambar berikut.



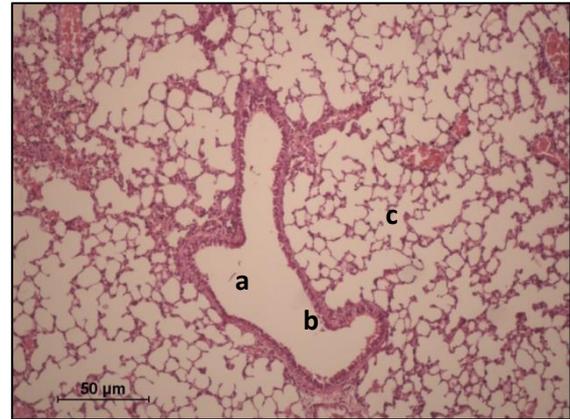
Gambar 2. Gambaran Histologik Irisan Paru-paru Mencit (*Mus musculus*) Kelompok Kontrol.

Keterangan: a.bronkiolus; b.alveolus. (Pengecatan HE. Perbesaran 100x).



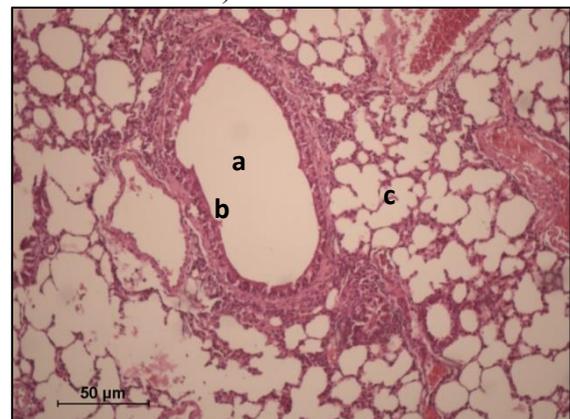
Gambar 3. Gambaran Histologi Irisan Paru-paru Mencit (*Mus musculus*) Kelompok Perlakuan 1 (P1).

Keterangan: a.lumen bronkiolus; b.lapisan mukus; c.alveolus. (Pengecatan HE. Perbesaran 100x).



Gambar 4. Gambaran Histologi Irisan Paru-paru Mencit (*Mus musculus*) Kelompok Perlakuan 2 (P2).

Keterangan: a.lumen bronkiolus; b.lapisan mukus; c.alveolus (Pengecatan HE. Perbesaran 100x).



Gambar 5. Gambaran Histologi Irisan Paru-paru Mencit (*Mus musculus*) Kelompok Perlakuan 3 (P3).

Keterangan: a.lumen bronkiolus; b.lapisan mukus; c.alveolus (Pengecatan HE. Perbesaran 100x).

Adanya penutupan mukus pada kelompok kontrol kemungkinan timbul akibat adanya partikel lain selain asap rokok elektrik yang diberikan. Seesuai dengan pernyataan Larasati (2010: 46) bahwa sekresi mukus oleh sel goblet dipengaruhi baik faktor endogen maupun eksogen. Gambaran ini disebabkan oleh adanya variabel luar yang tidak bisa dikendalikan, seperti patogenesis suatu zat yang dapat merusak paru selain radikal

bebas, yaitu reaksi hipersensitivitas dan imunitas menciit. Selain itu juga disebabkan oleh kondisi psikologik menciit yang dipengaruhi oleh lingkungan sekitar, seperti lingkungan yang terlalu gaduh, pemberian perlakuan berulang kali, dan perkelahian antar menciit serta daya regenerasi paru pada masing-masing menciit.

Secara fisiologis radikal bebas yang masuk ke dalam saluran napas bronkus akan didetoksifikasi oleh sel makrofag, neutrofil, dan eosinofil. Namun, peningkatan jumlah radikal bebas yang berlebih dalam saluran napas akan memicu pergerakan sel makrofag, neutrofil, dan eosinofil yang dapat menimbulkan reaksi inflamasi. Radikal bebas utama yang berperan terjadinya reaksi inflamasi adalah radikal superoxide dikarenakan memiliki waktu paruh yang lebih panjang sehingga jumlah sel target yang terkena menjadi lebih besar sehingga dapat menimbulkan kerusakan dan kematian sel yang lebih banyak (Gutowski and Kowalczyk, 2013: 1-16).

Inflamasi yang terjadi pada saluran napas akan membuat kerusakan sel-sel silia bronkus dan bronkiolus, yang secara fisiologis berfungsi sebagai pelindung paru melalui penyaringan berbagai partikel yang terhirup ke dalam saluran napas. Kerusakan sel-sel silia pada saluran napas akan mengakibatkan terjadinya hipersekresi mukus sehingga menyebabkan penyempitan saluran napas (Russi et al, 2013: 160-174).

Kegiatan menghisap asap rokok elektrik dengan dosis yang tinggi terbukti meningkatkan produksi sekresi lendir pada permukaan bronkiolus. Sumber utama sekresi lendir pada saluran pernapasan adalah sel goblet pada epitel permukaan

dan sel mukosa pada kelenjar submukosa. Pada paru normal, sel goblet terletak paling banyak pada saluran napas bagian atas seperti bronkus, semakin menuju ke bawah pada bagian bronkiolus jumlah sel goblet semakin menurun, sedangkan kelenjar sub mukosa hanya ada pada saluran napas atas dan tidak terdapat pada saluran bronkiolus. Dalam penyakit saluran pernapasan, terjadi pembesaran kelenjar sub mukosa (hipertrofi) dan peningkatan jumlah sel goblet (hiperplasia), sehingga terjadi penebalan saluran napas. Peningkatan rasio jumlah sel goblet dibanding sel silia dan peningkatan densitas sel goblet pada bronkiolus terminalis, menunjukkan terjadinya hiperplasi sel goblet dan memicu kerusakan clearance mukus melalui mekanisme mukosiliar atau reaksi batuk (Silva and Bercik, 2012: 937 – 948)

Hiperplasia sel goblet adalah peningkatan jumlah sel goblet pada epitel saluran napas (Hayashi, 2012). Inflamasi saluran napas akibat paparan zat alergen pada saluran napas yang dapat memicu terjadinya hipersekresi mukus dan merupakan konsekuensi dari peningkatan jumlah sel goblet. Banyaknya jumlah sel goblet yang dihasilkan mencerminkan hiperplasia (pembelahan sel) atau metaplasia (diferensiasi sel progenitor atau trans differentiation jalan napas epitel sel). Perubahan patologis ini, akan menyebabkan penyempitan saluran napas dan obstruksi saluran napas (Silva and Bercik, 2012: 937 – 948).

Mukus ini diangkut menuju faring dengan gerakan pembersihan normal silia yang melapisi saluran pernapasan. Kalau terbentuk mukus yang berlebihan, proses normal pembersihan mungki tak efektif

lagi, sehingga akhirnya mukus tertimbun (Price dan Wison, 2005: 774).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasar hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa dosis paparan asap rokok elektrik berpengaruh ($p\text{-value} < 0,05$) terhadap gambaran histologi bronkiolus mencit (*Mus musculus*) dengan pengaruh paling besar diberikan oleh kelompok P3 (dosis pengasapan 30 kali hisapan per hari).

Saran

1. Penelitian ini dapat dijadikan penelitian awal yang nantinya bisa digunakan untuk penelitian lanjutan
2. Dapat dilakukan penelitian untuk melihat pengaruhnya terhadap kerusakan histologis pada organ lain
3. Dapat dilakukan penelitian mengenai pengaruhnya variasi kadar nikotin atau perbandingan komposisi dalam e-liquid terhadap kerusakan histologis pada organ lain
4. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai bahan spesifik yang menyebabkan kerusakan struktur organ paru-paru

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (2012). Lendir di Saluran Napas Dapat Mengancam Nyawa. *Kompas.com*. Diambil pada tanggal 24 April 2018 pukul 20.00 WIB dari <https://lifestyle.kompas.com/read/2012/10/08/06261560/Lendir.di.Saluran.Napas.Dapat.Mengancam.Nyawa>.
- Anonim. (2016). Kandungan dan Komposisi Liquid Vapor. *Vaporterbaik.com*. Diakses pada 31

- Oktober 2017 pukul 05.00 WIB dari <http://www.vaporterbaik.com>.
- Direktorat Pengawasan Narkotika, Psikotropika dan Zat Adiktif. (2015). *InfoPOM Vol. 16 No. 5 September-Oktober 2015*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia
- Gartner, L.P., (1943). *Atlas of Histology*. Williams & Wilkins 428 East Preston Street Baltimore, MD 21202: U.S.A
- Gutowski M. and Kowalczyk S., (2013). *A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance*. Neurovascular Research Laboratory, Faculty of Health, Science and Sport, University of Glamorgan, UK and Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Poznan University of Medical Sciences, Poznań, Poland. Vol. 60, No 1/2013 1–16
- Judarwanto, W. (2013). 10 Jenis Radikal Bebas Ancam Manusia. *Kompas.com*. Diambil pada tanggal 24 April 2018 pukul 20.15 WIB dari <https://lifestyle.kompas.com/read/2013/08/05/1340331/10.Jenis.Radikal.Bebas.Ancam.Manusia>.
- Kurniasih, Niera Putri. (2016). Perancangan Sistem Akuisisi Data Berbasis Arduino untuk Pengenalan Ciri Sinyal Suara Paru Dan Jantung. *Skripsi Thesis*. Universitas Airlangga
- Maharani, D. (2017). Jangan Anggap "Vape" Sebagai Rokok yang Sehat!. *Kompas.com*. Diambil pada tanggal 24 April 2018 pukul 20.20 WIB dari <https://sains.kompas.com/read/2017/01/29/200347823/jangan.anggap.vape.sebagai.rokok.yang.sehat>.
- Price, S.A., dan Wilson, L.M. (2005). *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-proses Penyakit, Edisi 6, Vol 2*. Diterjemahkan oleh Pendit, B.U., Hartanto, H., Wulansari, P., Mahanani, D.A. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Russi E.W., Karrer W., Brutsche M., Eich C., Fitting J.W., Frey M., Geiser T., Kuhn M., Nicod L., Quadri F., Rochat T., Steurer-Stey C., and Stolz D. (2013). *Diagnosis and Management of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: The Swiss Guidelines*. *Respiration*. 85 : 160 – 174.
- Sartika, R.E.A. (2018). 3 Minggu Coba Vape, Gadis AS Kena Paru-paru Basah. *Kompas.com*. Diambil pada tanggal 24 Mei 2018 pukul 22.30 WIB dari <https://sains.kompas.com/read/2018/05/18/122000023/3-minggu-coba-vape-gadis-as-kena-paru-paru-basah>.
- Satia, D. (2016). Apa Itu Radikal Bebas dan Bagaimana Cara Menanganinya?. *Kangen.co.id*. Diambil pada tanggal 24 April 2018 pukul 20.10 WIB dari <http://kangen.co.id/blog/53-apa-itu-radikal-bebas-dan-bagaimana-cara-menanganinya>
- Silva M., and Bercik P. (2012). *Blood, Lymphatics, Immune System and Stem Cells. Macrophages are related to goblet cell hyperplasia and induce MUC5B but not MUC5AC in human bronchus epithelial cells*. *Laboratory Investigation*. 92 : 937 – 948.
- Tanuwihardja, R.K., Agus D.S.,(2012). *Rokok Elektronik (Electronic Cigarette)*. Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Rumah Sakit Persahabatan, Jakarta. *J Respir Indo* Vol. 32, No. 1, Januari 2012 hal 59
- Triana, Nanin., Syafruddin Ilyas., dan Salomo Hutahaean. (2013). *Gambaran Histologis Pulmo Mencit Jantan (Mus musculus L.) setelah Dipapari Asap Rokok Elektrik*. FMIPA Universitas Sumatera Utara
- Utami, Cahaya., Tri Harjana, Sukiya. (2017). Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap Gambaran Histologik Trakea dan Paru-Paru Mencit (*Mus Musculus*) yang Terpapar Asap Rokok. *Jurnal Prodi Biologi Vol 6 No 2 Tahun 2017*
- Veratamala, Arinda. (2017). Apa Kandungan di dalam Vape, dan Apakah Berbahaya Bagi Tubuh?. *Halosehat.com*. Diakses pada 30 Oktober 2017 pukul 21.15 WIB dari www.halosehat.com.