

PENGARUH PERBEDAAN WAKTU PAPARAN ASAP ROKOK KRETEK NON FILTER TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PARU MENCIT (*Mus musculus*)

Janet Edrina Ung, I Nyoman Sasputra, Debora S. Liana

ABSTRAK

Rokok kretek merupakan rokok yang berasal dari Indonesia dan diminati oleh berbagai konsumen. Paparan asap rokok kretek non filter mengandung berbagai radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan paru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan waktu paparan asap rokok kretek non filter terhadap gambaran histopatologi paru mencit (*Mus musculus*). Metodologi penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan post test only control group design. Subjek penelitian ini menggunakan 28 ekor mencit (*Mus musculus*) yang diberi perlakuan selama 14 hari. Hewan uji dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok K yang tidak diberi paparan asap rokok kretek non filter, P1, P2, P3 merupakan kelompok perlakuan yang diberi paparan asap rokok kretek non filter selama 15 menit, 30 menit, dan 45 menit. Tepat pada hari ke 15 hewan uji diterminasi. Derajat kerusakan jaringan paru hewan uji dinilai menggunakan skoring derajat kerusakan Marianti. Semua data diuji secara statistik menggunakan uji *Anova*. Hasil pada penelitian ini diperoleh skoring rata-rata kerusakan jaringan paru kelompok K yaitu 3,7. Pada kelompok perlakuan diperoleh skoring rata-rata kerusakan jaringan paru kelompok P1 yaitu 5, P2 yaitu 6 dan P3 yaitu 6,8. Pada uji statistik diperoleh nilai probabilitas 0,000 ($p < 0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini terdapat pengaruh perbedaan waktu paparan asap rokok kretek non filter terhadap gambaran histopatologi paru mencit (*Mus musculus*).

Kata kunci : rokok kretek non filter, kerusakan jaringan paru , skoring Marianti

Rokok adalah salah satu produk tembakau yang dimaksudkan untuk dibakar, dihisap dan atau dihirup asapnya yang dihasilkan dari tanaman *nicotiana tabacum*, *nicotiana rustica*, dan spesies lainnya⁽¹⁾. Produk rokok khas dari Indonesia memberikan tambahan cengkeh untuk mendapatkan efek rasa dan aroma tertentu. Ketika dibakar rokok ini akan menghasilkan bunyi kerutuk sehingga disebut rokok kretek⁽²⁾.

Indonesia menempati urutan keempat sebagai negara dengan konsumen rokok terbanyak. Berdasarkan *global adult tobacco survey* (GATS) 2011 dilaporkan jumlah perokok dewasa adalah 59,9 juta penduduk.⁽³⁾ Nusa Tenggara Timur sendiri memiliki persentase perokok harian aktif sejumlah 19,7 %. Dengan kota Kupang memiliki persentase perokok harian aktif sebesar 14,6 %⁽⁴⁾. Persentase pilihan jenis rokok terbanyak yaitu rokok kretek sebesar 67,4 %, disusul rokok liting tangan yaitu 7,1 % dan rokok putih yaitu 7,1%⁽⁵⁾.

Rokok mengandung lebih dari 4000 bahan zat organik berupa gas maupun partikel yang telah diidentifikasi dari daun tembakau maupun asap rokok. Bahan tersebut umumnya bersifat toksik, karsinogenik, dan adiktif⁽⁵⁾. Desain filter pada pangkal rokok bertujuan untuk menyaring partikel asap rokok sebelum dihisap perokok. Sehingga lebih sedikit partikel yang dihirup perokok dan efek yang dapat ditimbulkan⁽⁶⁾. Paparan asap rokok secara terus menerus dapat meningkatkan angka kejadian penyakit paru obstruksi kronis (PPOK), kanker paru, dan kanker laring. Selain ini juga dapat menyebabkan atherosclerosis yang pada tahap lanjut dapat bermanifestasi menjadi penyakit jantung koroner⁽⁵⁾⁽⁷⁾.

Paparan asap menyebabkan terjadinya aktivasi mediator inflamasi pada saluran pernapasan. Lebih lanjut paparan asap rokok secara terus menerus dapat menyebabkan inaktivasi enzim anti protease suatu enzim protektif paru yang mencegah terjadinya kerusakan akibat

enzim protease. Ketidakseimbangan protease dan anti-protease menyebabkan remodelling jaringan paru karena destruksi matriks ekstraseluler⁽⁸⁾.

Derajat kerusakan jaringan paru bergantung pada lamanya paparan asap rokok. Paparan asap rokok akut dapat dilakukan pada hewan uji dalam rentangan waktu 24 jam- 2 minggu. Paparan asap rokok akut dapat menyebabkan destruksi matriks ekstrasel yang bersifat reversibel⁽⁹⁾. Degradasi matriks ekstrasel menyebabkan terjadinya perubahan secara mikroskopis pada paru hewan uji⁽¹⁰⁾.

Penelitian yang dilakukan oleh Marianti pada tahun 2009 menilai kerusakan jaringan paru mencit yang diberi paparan asap rokok secara deskriptif kualitatif dan dibuat skor derajat kerusakan dari membran alveolus, lumen alveolus, dan hubungan antar alveolus. Paparan asap rokok kretek dengan kandungan tar 39 mg dan nikotin 2,3 mg selama 54 hari yang dilakukan oleh Marianti pada mencit menunjukkan rerata skor derajat kerusakan paru adalah 2,89 dibandingkan kelompok kontrol dengan rerata skor derajat kerusakan jaringan paru sebesar 1,16⁽¹⁰⁾. Dari hasil penelitian tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian yang sama, namun dengan waktu pemaparan yang dilakukan secara lebih singkat yaitu selama 14 hari.

Berdasarkan uraian di atas peneliti tertarik melakukan penelitian mengenai pengaruh perbedaan waktu paparan asap rokok kretek non filter terhadap gambaran histopatologi paru mencit (*Mus musculus*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan waktu paparan asap rokok kretek non filter terhadap gambaran histopatologi paru mencit (*Mus musculus*).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilakukan di Laboratorium hewan Fakultas Kedokteran Universitas Nusa Cendana Kupang. Penelitian ini menggunakan 28 ekor mencit (*Mus musculus*). Subjek penelitian ini menggunakan 28 ekor mencit (*Mus musculus*), yang dibagi menjadi 4

kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor tikus. Kelompok kontrol merupakan kelompok yang tidak diberi paparan asap rokok, kelompok pertama merupakan kelompok perlakuan yang diberi paparan asap rokok kretek non filter selama 15 menit, kelompok kedua merupakan kelompok perlakuan yang diberi paparan asap rokok kretek non filter selama 30 menit, dan kelompok tiga merupakan kelompok perlakuan yang diberi paparan asap rokok kretek non filter selama 45 menit.

Hewan coba diadaptasi selama tujuh hari untuk mengamati kondisi umum mencit dan menjaga berat badan mencit agar tetap stabil. Setelah masa adaptasi terlewati, peneliti melakukan pemaparan asap rokok kretek non filter kepada hewan uji selama 2 minggu. Lama pemaparan ini berbeda terhadap setiap kelompok perlakuannya. Pada saat akan dilakukan pemaparan asap rokok, setiap kelompok perlakuan dimasukkan ke dalam kotak isolasi yang berbeda.

Pemaparan hewan uji menggunakan rokok kretek non filter dengan kandungan 39 mg tar dan 2,3 mg nikotin. Rokok yang telah dibakar kemudian dihisap asapnya menggunakan spuit 50 ml sebanyak 30 ml per menit. Tepat pada hari ke 15 perlakuan hewan uji diterminasi. Kemudian dilakukan bedah *thoraks* untuk mengambil paru hewan uji. Sampel paru difiksasi menggunakan formalin 10% dan dibuat sediaan hematoksilin eosin. Gambaran mikroskopis jaringan paru dilihat dengan pembesaran 400x dalam 5 lapangan pandang yang dipilih secara acak. Derajat kerusakan jaringan paru hewan uji dinilai menggunakan skoring derajat kerusakan jaringan paru oleh Marianti. Setelah data terkumpul, data diuji secara statistik menggunakan uji parametric *one way anova*. Apabila data tidak terdistribusi dengan normal maka dilakukan uji alternatif nonparametrik yaitu Kruskal-Wallis.

Tabel 1. Derajat kerusakan jaringan paru oleh Marianti

Gambaran Histologis	Skor		
	1	2	3
Membran alveolus	Membran alveolus utuh, berinti dan lengkap dengan sel endotelium > 75 %	Membran alveolus utuh, berinti dan lengkap dengan sel endotelium 75-25%	Membran alveolus utuh, berinti dan lengkap dengan sel endotelium < 25%
Lumen alveolus	Membulat ukuran proposional > 75%	Membulat ukuran proposional 75 - 25%	Membulat ukuran proposional < 25%
Hubungan antar alveolus	Rapat > 75 %	Rapat 75 - 25 %	Rapat < 25 %

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran berat badan tikus selama masa adaptasi

Pengukuran berat badan tikus putih selama masa adaptasi dilakukan setiap dua hari sekali guna menghindari terjadinya stress pada hewan uji. Dalam proses adaptasi ini, peneliti juga melakukan pengamatan kondisi umum mencit dan pengukuran berat badan mencit setiap dua hari sekali guna menghindari terjadinya stress pada hewan uji. Berdasarkan hasil pengamatan kondisi umum mencit selama 7 hari tidak didapatkan adanya penampakan rambut kusam, rambut rontok, aktivitas kurang, serta eksudat yang abnormal dari mata, mulut, anus dan genital. Hal ini menegaskan bahwa sampel memiliki kondisi umum yang baik selama proses adaptasi. Berat badan mencit selama masa adaptasi untuk kelompok control, kelompok perlakuan satu, kelompok perlakuan dua dan kelompok perlakuan tiga dapat dilihat pada tabel 2 dibawah ini.

Tabel 2. Berat badan mencit selama masa adaptasi

Mencit	Hari pengamatan berat badan mencit				
	Hari ke-1	Hari ke-3	Hari ke-5	Hari ke-7	
Kontrol	K-1	22 gram	26 gram	24 gram	25 gram
	K-2	23 gram	21 gram	22 gram	22 gram
	K-3	21 gram	23 gram	20 gram	23 gram
	K-4	20 gram	20 gram	22 gram	24 gram
	K-5	23 gram	24 gram	25 gram	26 gram
	K-6	29 gram	31 gram	33 gram	31 gram
	K-7	26 gram	27 gram	27 gram	29 gram
Perlakuan 1 (15 menit/hari)	P1-1	21 gram	23 gram	24 gram	25 gram
	P1-2	26 gram	26 gram	26 gram	26 gram
	P1-3	21 gram	24 gram	24 gram	24 gram
	P1-4	21 gram	23 gram	24 gram	24 gram
	P1-5	23 gram	25 gram	26 gram	26 gram
	P1-6	20 gram	23 gram	24 gram	23 gram
	P1-7	21 gram	22 gram	23 gram	23 gram
Perlakuan 2 (30 menit/hari)	P2-1	20 gram	23 gram	25 gram	26 gram
	P2-2	26 gram	29 gram	29 gram	29 gram
	P2-3	22 gram	24 gram	26 gram	27 gram
	P2-4	21 gram	25 gram	26 gram	27 gram
	P2-5	21 gram	22 gram	20 gram	22 gram
	P2-6	23 gram	27 gram	28 gram	28 gram
	P2-7	22 gram	25 gram	26 gram	27 gram
Perlakuan 3 (45 menit/hari)	P3-1	23 gram	30 gram	31 gram	32 gram
	P3-2	21 gram	25 gram	25 gram	26 gram
	P3-3	24 gram	26 gram	26 gram	27 gram
	P3-4	23 gram	25 gram	26 gram	27 gram
	P3-5	25 gram	24 gram	23 gram	23 gram
	P3-6	23 gram	25 gram	26 gram	26 gram
	P3-7	24 gram	26 gram	26 gram	27 gram

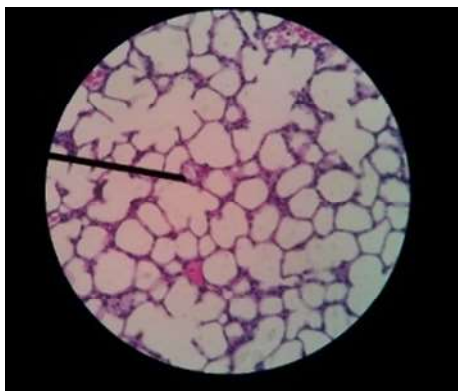
Dari tabel tentang masa adaptasi mencit dapat disimpulkan bahwa rata-rata berat badan mencit saat masa adaptasi berada pada kisaran 22 gram sampai 32 gram. Tidak terjadi penurunan berat badan yang disebabkan karena mencit stress selama masa adaptasi melebihi 10% pada hari terakhir masa adaptasi, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada sampel yang dieksklusikan selama masa adaptasi.

Hasil pengamatan mikroskopik paru mencit

Preparat jaringan paru dinilai tingkat kerusakannya menggunakan skor derajat kerusakan paru oleh Marianti. Dilakukan interpretasi dari derajat kerusakan membran

alveolus, lumen alveolus dan hubungan antar alveolus kemudian dilakukan penjumlahan skoring untuk setiap sampel dalam suatu kelompok perlakuan.

Kelompok yang tidak diberi paparan asap rokok yaitu kelompok kontrol menunjukkan struktur yang normal ditandai dengan sel-sel epitelium penyusun membran alveolus masih normal dengan sel endoteliumnya tampak jelas di seputar alveolus, hubungan antar alveolus rapat, dan lumen alveolusnya relatif membulat. Dari interpretasi gambaran mikroskopis paru kelompok kontrol didapatkan skoring rata-rata derajat kerusakan paru yaitu 3,7. Gambaran mikroskopis kelompok kontrol dapat dilihat pada gambar 1 di bawah ini.



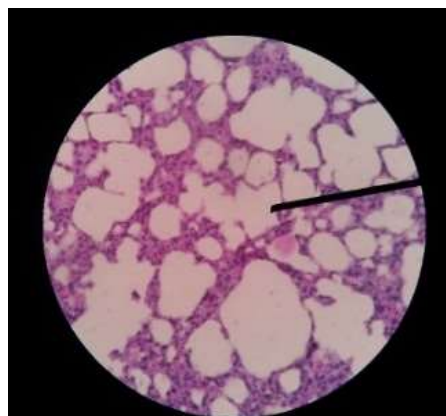
Gambar 1. Gambaran mikroskopis jaringan paru kelompok kontrol

Pada kelompok yang diberi paparan asap rokok selama 15 menit per hari yaitu kelompok perlakuan 1 menunjukkan struktur paru dengan membran alveolus masih normal dengan sel endotelium tampak jelas di seputar alveolus, hubungan antar alveolus relatif rapat, lumen alveolusnya mulai melebar. Dari interpretasi gambaran mikroskopis paru kelompok perlakuan 1 didapatkan skoring rata-rata derajat kerusakan paru yaitu 5. Gambaran mikroskopis kelompok perlakuan 1 dapat dilihat pada gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Gambaran mikroskopis kelompok perlakuan 1

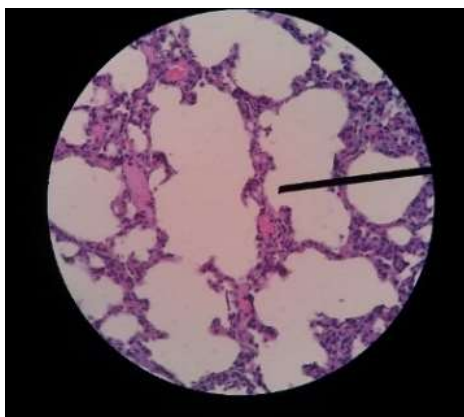
Pada kelompok yang diberi paparan asap rokok selama 30 menit per hari yaitu kelompok perlakuan 2 menunjukkan struktur paru dengan membran alveolus mulai mengalami perubahan struktur dengan sel endoteliumnya di seputar alveolus agak berkurang, hubungan antar alveolus merenggang, lumen alveolusnya melebar. Dari interpretasi gambaran mikroskopis paru kelompok perlakuan 2 didapatkan skoring rata-rata derajat kerusakan paru yaitu 6. Gambaran mikroskopis kelompok perlakuan 2 dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Gambaran mikroskopis kelompok perlakuan 2

Pada kelompok yang diberi paparan asap rokok selama 45 menit per hari yaitu kelompok perlakuan 3 menunjukkan perubahan terbesar ditandai dengan membran alveolus mengalami perubahan

struktur dengan sel endoteliumnya di seputar alveolus berkurang, hubungan antar alveolus merenggang, lumen alveolusnya berbentuk tidak beraturan. Dari interpretasi gambaran mikroskopis paru kelompok perlakuan 3 didapatkan skoring rata-rata derajat kerusakan paru yaitu 6,8. Gambaran mikroskopis kelompok perlakuan 3 dapat dilihat pada gambar 4 di bawah ini.



Gambar 4. Gambaran mikroskopis kelompok perlakuan 3

Uji hipotesis yang digunakan untuk menilai kemaknaan perubahan histopatologi jaringan paru adalah *One way anova*. Nilai probabilitas yang didapatkan dari uji ini adalah 0,000 ($p < 0,5$), sehingga H_0 ditolak dan dapat disimpulkan terdapat pengaruh paparan asap rokok kretek non filter terhadap gambaran histopatologi paru mencit (*Mus musculus*). Kemudian dilakukan analisis menggunakan *Post hoc test*, untuk mengetahui variabel mana yang memiliki perbedaan signifikan. Hasil uji *Post hoc test* dapat dilihat pada tabel 3. Berdasarkan hasil uji *Post hoc* tersebut, didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan 2 dengan kelompok perlakuan 3.

Tabel 3. *Post hoc test* kerusakan jaringan paru

		Sig.
Kontrol	Perlakuan 1	,000
	Perlakuan 2	,000
	Perlakuan 3	,000
Perlakuan 1	Kontrol	,000
	Perlakuan 2	,000
	Perlakuan 3	,000
Perlakuan 2	Kontrol	,000
	Perlakuan 1	,000
	Perlakuan 3	,001
Perlakuan 3	Kontrol	,000
	Perlakuan 1	,000
	Perlakuan 2	,001

PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Marianti pada tahun 2009 hubungan antar alveolus yang rapat pada kelompok yang tidak diberi paparan asap rokok menunjukkan bahwa matriks ekstra seluler yang tersusun dari serabut elastin dan kolagen masih utuh. Lumen alveolus nampak normal tidak membesar. Hal ini disebabkan paru-paru tersebut tidak terpapar dengan toksikan yang terkandung dalam asap rokok, sehingga sel-selnya tidak mengalami kerusakan⁽¹⁰⁾.

Hasil interpretasi dari derajat kerusakan jaringan paru kemudian dianalisis menggunakan uji *One way anova*. Berdasarkan hasil analisis tersebut didapatkan nilai probabilitas 0,000 ($p < 0,05$). Sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan signifikan antara keempat kelompok perlakuan dalam penelitian ini. Analisis dilanjutkan menggunakan *Post hoc test*, untuk mengetahui variabel mana yang memiliki perbedaan signifikan. Berdasarkan hasil uji *Post hoc* tersebut, didapatkan perbedaan yang paling signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 3. Hasil uji *Post hoc*

test tersebut dapat dilihat pada tabel 3 diatas.

Asap rokok terdiri dari fase partikel dan fase gas. Pada rokok kretek yang digunakan dalam penelitian ini tidak terdapat filter pada ujung rokok yang berfungsi menyaring partikel asap rokok. Sehingga asap rokok yang dihirup oleh hewan uji memiliki kandungan partikel yang lebih banyak⁽⁶⁾. Partikel asap rokok yang masuk ke paru akan difagositosis oleh makrofag alveolar. Ikatan yang terbentuk antara reseptor pada permukaan makrofag dengan partikel asap rokok akan mengaktifasi pelepasan mediator inflamasi. Pelepasan mediator inflamasi akan menyebabkan migrasi PMN seperti neutrofil dan monosit perifer ke alveolar dan septum alveolar. Makrofag dan neutrofil akan menghasilkan enzim protease dan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan paru⁽¹¹⁾.

Di dalam tubuh terdapat enzim alfa₁-antiproteinase yang dapat mencegah terjadinya kerusakan paru melalui penghambatan aktivitas enzim protease. Namun pemaparan asap rokok secara terus menerus dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara jumlah protease dan anti protease di dalam paru hewan uji. Sehingga terjadi kerusakan matriks ekstraseluler dan destruksi dinding alveolus. Matriks ekstraseluler paru terutama elastin merupakan komponen utama yang menjaga keutuhan membran alveolus. Akibatnya terjadi kerusakan pada membran alveolus sehingga turut mempengaruhi ukuran dari lumen alveolus menjadi tidak membulat proposional, serta hubungan antar alveolus menjadi merenggang⁽⁸⁾.

Durasi pemaparan asap rokok akan mempengaruhi banyaknya konsentrasi asap rokok yang dihirup oleh hewan uji. Semakin banyak konsentrasi asap rokok yang dihirup akan mempengaruhi banyaknya enzim protease dan radikal bebas yang terdapat dalam paru hewan uji. Kelompok perlakuan dengan waktu

pemaparan asap rokok terlalu lama akan memiliki kerusakan jaringan paru lebih berat⁽¹²⁾.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh perbedaan waktu paparan asap rokok kretek non filter terhadap gambaran histopatologi paru mencit (*Mus musculus*), dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat pengaruh terhadap perbedaan waktu paparan asap rokok kretek non filter terhadap gambaran histopatologi paru mencit (*Mus musculus*).

SARAN

Adapun saran untuk penelitian lebih lanjut

1. Perlu dilakukan analisa kandungan zat yang terdapat dalam rokok kretek non filter yang digunakan.
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai perbandingan paparan asap rokok pada hewan uji menggunakan rokok kretek dengan kandungan tar dan nikotin yang berbeda.
3. Perlu dilakukan penelitian mengenai dosis asap rokok yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan paru.
4. Perlu dilakukan paparan asap rokok pada hewan uji secara kronis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2013 Tentang Pencantuman Peringatan Kesehatan dan Informasi Kesehatan Pada Kemasan Produk Tembakau. Indonesia; 2013 p. 5.
2. Roemer E, Dempsey R, Schorp MK. Toxicological assesment of kretek cigarettes : Part 1 : Background, assesment approach, and summary of

- findings. *Regul Toxicol Pharmacol* 2014;70:1-14.
3. WHO. Global adult tobacco survey: Indonesia report 2011. Jakarta: WHO; 2012.
 4. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Riset kesehatan dasar dalam angka Provinsi Nusa Tenggara Timur. Jakarta; 2013.
 5. U.S. Department of Health and Human Services. How tobacco smoke causes disease: The biology and behavioral basis for smoking-attributable disease: A report of the surgeon general. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevent and Health Promotion, Office on Smoking and Health;2010.
 6. Church DF, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect* 1985;64:11-26
 7. March T, wilder J, Esparza D. Modulators of cigarette smoke-induced pulmonary emphysema in A/J mice. *Toxicol sci.* 2006;92(2):545-59.
 8. Nasar IM, Himawan S, Marwanto W. *Buku Ajar Patologi II (Khusus)*. Edisi pertama. Jakarta: CV. Sagung Seto; 2010: h. 116-8.
 9. Laberl M, Kratzer A, Taraseviciene-Stewart L. Tobacco smoke induced COPD / emphysema in the animal model: are we all in the same page. *Frontier in physiology* 2013;4:1-23.
 10. Aditya M. Aktivitas antioksidan jus tomat pada pencegahan kerusakan jaringan paru-paru menciit yang dipapar asap rokok. *Biosaintifika J Biol Biol Educ* 2009;1:1-7.
 11. Church DF, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect* 1985;64:11-26.
 12. March T, wilder J, Esparza D. Modulators of cigarette smoke-induced pulmonary emphysema in A/J mice. *Toxicol sci.* 2006;92(2):545-59.