

## Pengaruh asap rokok terhadap biometrik sel pada sistem respirasi tikus *Sprague-Dawley*

David David<sup>1</sup>, Mauritius Lambertuis Edy Parwanto<sup>2</sup>, Husnun Amalia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Histology, Faculty of Medicine, Universitas Trisakti; <sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Medicine, Universitas Trisakti; <sup>3</sup>Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Universitas Trisakti.

### Abstract

#### Latar belakang:

Asap rokok diketahui terdiri atas gas dan bahan padat atau partikulat, keduanya disalurkan ke alveoli. Asap rokok berkontribusi terhadap kondisi umum non kanker dalam saluran pernafasan, termasuk *chronic obstructive pulmonary disease* (COPD), asthma dan hipertensi pulmoner. Perlu dikembangkan untuk memperlihatkan perubahan biometrik sel pada sistem pernafasan. Perlakuan asap rokok terhadap sistem pernafasan pada tikus dapat dijadikan model untuk memperlihatkan perubahan biometrik sel.

#### Tujuan:

Mengetahui pengaruh asap rokok kretek terhadap perubahan biometrik sel pada sistem respirasi tikus *Sprague-Dawley*.

#### Metode:

Tikus *Sprague-Dawley* 200-250 gram sebanyak 20 ekor dikelompokkan menjadi 2 kelompok yaitu kelompok 1 sebagai kelompok kontrol dan kelompok 2 sebagai kelompok perlakuan. Perlakuan terhadap tikus menggunakan asap rokok kretek 1 batang/hari selama 3 bulan. Pengamatan dilakukan terhadap perubahan biometrik sel pada sistem respirasi tikus meliputi trakea, bronkus, bronkiolus dan alveolus. Data yang diperoleh selain data kualitatif perubahan histologi sel tersebut juga data kuantitatif tentang biometrik sel yang menyusun trakea, bronkus, bronkiolus dan alveolus.

#### Hasil:

Paparan asap rokok kretek 1 batang/hari selama 3 bulan terhadap tikus *Sprague-Dawley* mengubah warna rambut menjadi kuning kotor dan lebih jarang. Bronchioles length, bronchioles width, bronchioles area dan bronchioles perimeter pada kelompok I masing-masing  $40.55 \pm 1.57$ ,  $14.82 \pm 0.41$ ,  $494.61 \pm 5.62$  dan  $233.87 \pm 4.51$  dan pada kelompok II masing-masing  $30.76 \pm 0.78$ ,  $9.28 \pm 0.40$ ,  $297.32 \pm 2.53$  dan  $177.84 \pm 5.15$ . Area dan perimeter pada respiratory-bronchioles pada kelompok I masing-masing  $17.68 \pm 0.49$  dan  $26.60 \pm 0.52$ , sedangkan pada kelompok II  $19.28 \pm 0.35$  dan  $29.28 \pm 0.35$ . Eksudat terlihat pada ruang bronchioles, respiratory-bronchioles maupun saccus alveolaris pada kelompok II, tetapi pada kelompok I tidak ada eksudat.

#### Kesimpulan:

Berdasar hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa paparan asap rokok kretek 1 batang/hari selama 3 bulan terhadap tikus *Sprague-Dawley* ternyata menurunkan ukuran ruang bronchioles, meningkatkan ukuran ruang respiratory-bronchioles dan saccus alveolaris. Eksudat diproduksi di dalam ruang bronchioles, respiratory-bronchioles dan saccus alveolaris.

#### Kata kunci:

Asap rokok, biometrik sel, trakea, bronkus, bronkiolus, alveolus.

#### Corresponding author:

Parwanto MLE, Department of Biology, Faculty of Medicine, Universitas Trisakti  
Jl. Kyai Tapa, Kampus B, No.260 Grogol 11440, Jakarta-Indonesia. Tel: +62-21-565 5786, Fax: +62-21-566 0706. Email: [edyparwanto@trisakti.ac.id](mailto:edyparwanto@trisakti.ac.id)

## INTRODUCTION

Rokok termasuk masalah dunia yang menyebabkan gangguan kesehatan. Sekitar 2.5 milyar orang didunia menjadi perokok dan  $\frac{2}{3}$  dari jumlah tersebut berada di negara dunia ketiga. Penduduk Indonesia termasuk yang kedalam kelompok negara dunia ketiga, berarti banyak penduduknya yang mengkonsumsi rokok.<sup>1</sup>

Asap rokok diketahui terdiri atas gas (92%) dan bahan padat atau partikulat (8%).<sup>2,3</sup> Gas dan partikulat dari rokok disalurkan ke alveoli.<sup>4</sup> Asap rokok berkontribusi terhadap kondisi umum non kanker dalam saluran pernafasan, termasuk *chronic obstructive pulmonary disease* (CPOD), asthma dan hipertensi pulmoner.<sup>5</sup> Peneliti lain memperlihatkan bahwa kecepatan morbiditas disebabkan oleh pengaruh stres pada sistem pernafasan. Sudah ada penelitian tentang kondisi stres pada bronkopulmoner dan juga penelitian lain yang memperlihatkan perbedaan bermakna struktur anatomi pada sistem respirasi karena pengaruh asap rokok.<sup>6</sup>

Sistem respirasi secara umum terdiri atas hidung, faring, laring, trakea, bronki primer dan paru (bronkiolus dan alveolus).<sup>7</sup> Ada perbedaan struktur anatomi pada system respirasi karena pengaruh asap rokok.<sup>8</sup> Trakea merupakan penyalur udara yang terletak antara laring dan bronkus. Berbentuk buluh yang semifleksibel dan semikolaps, terletak di bagian ventral leher, terbentang mulai laring sampai rongga dada. Penampang lintang trakea tersusun atas lapis mukosa (epitel silindris banyak baris bersilia dan lamina propria, lapis submukosa (daerah ujung kelenjar), cincin tulang rawan dan lapisan otot (*musculus transversus trachealis*) dan lapis adventitia.<sup>9</sup>

Secara histologis, penampang melintang trake pada tikus memperlihatkan 3 bagian, yaitu: bagian terluar berupa epitel pernafasan (*respiratory epithelium*), bagian tengah berupa lamina propria dan bagian terdalam yaitu kartilago hialin. Epitel respirasi pada trakea tikus mengandung sel epitelkolumner pseudostratified bersilia dan sel basal.<sup>5</sup>

Histologi paru tersusun atas sistem alveolus, yang berlokasi pada dinding dari bronkiolus respiratorius, saluran alveoler dan sakulus. Alveolus merupakan jaringan kapiler yang membentuk beberapa fleksus. Alveoli dipisahkan satu dengan yang lain oleh septa alveoler tipis, yang di dalamnya mengandung porus alveoler. Alveoli pada tikus diselimuti oleh lapisan sel epitel. Lapisan sel epitel pada alveoli tersebut terletak pada membran basal, berbatasan dengan membran basal endotelium pada beberapa bagian dipisahkan oleh fisura. Umumnya fisura mengandung serat retikuler, serat elastis dan sel. Seluruh sel epitel menutupi alveoli, sebagian besar merupakan alveolosit respiratorius tipe 1 (*Type I respiratory alveolocyttes*) dan sebagian kecil tersusun atas alveolosit sekretorius tipe 2. Sebagian dari sel tersebut merupakan alveoler makrofage dan alveolosit brush tipe 3.<sup>10</sup>

Penelitian kami terakhir memperlihatkan pentingnya biometrik sel sebagai karakteristik yang perlu dikembangkan untuk membantu diagnosis dini pada tingkat sel maupun jaringan.<sup>11</sup> Hal ini perlu dilakukan sehingga diagnosis yang berkaitan dengan abnormalitas sel ditentukan secara lebih obyektif berdasar data kuantitatif yang diperoleh dan bukan hanya data yang bersifat kualitatif.

## MATERIALS AND METHODS

### Jenis penelitian

Jenis penelitian ini yaitu eksperimental menggunakan hewan coba tikus *Rattus novergicus* galur *Sprague-Dawley* yang dipapari dengan asap rokok kretek filter, sedangkan kelompok kontrol adalah kelompok tikus yang tidak dipapari oleh asap rokok (*experimental and control group design*). Pemilihan tikus kedalam kelompok kontrol dan perlakuan dilakukan secara random (*randomize controle trial*).

### Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti-Jakarta, Laboratorium RSHF Fakultas Kedokteran Hewan IPB-Bogor, Laboratorium Anatomi FKK Universitas Gadjah Mada-Yogyakarta.

### Waktu penelitian

Penelitian dilakukan antara bulan Maret-Oktober 2020.

### Sampel Penelitian

Tikus *Rattus novergicus* galur *Sprague-Dawley* jantan yang berumur sekitar 2-3 bulan dengan berat badan 200-250 gram sebagai kriteria inklusi, sedangkan kriteria eksklusinya apabila tikus mati saat perlakuan.

### Besar sampel

Jumlah tikus per kelompok dihitung dengan rumus  $(n - 1) (t - 1) \geq 15$ . Besar sampel yang digunakan sebanyak minimal 16 ekor tikus jantan *Rattus novergicus* galur *Sprague-dawley* yang dibagi menjadi 2 kelompok. Dalam penelitian ini digunakan sebanyak 20 ekor tikus yang dikelompokkan menjadi 2 kelompok, masing-masing 10 ekor. Jumlah sampel dihitung berdasarkan ketentuan dari WHO (2000) yang menyebutkan bahwa dalam penelitian eksperimental minimal menggunakan hewan coba sebanyak 5 ekor.

### **Perlakuan terhadap tikus Wistar**

Tikus ditempatkan dalam kandang secara individual. Tikus diberi makan dan minum pada *libitum* sesuai standar. Ruang perlakuan dilengkapi AC dengan suhu  $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , kelembaban  $55 \pm 5\%$ , dan lampu *artificial fluorescent* (12:12 jam, siklus terang dan gelap). Penelitian ini akan diusahakan untuk memperoleh lolos kaji etik. Pemaparan asap rokok dilakukan pada tikus jantan *Rattus norvegicus* galur *Sprague-Dawley* dengan dosis 1 batang/ekor/hari yang dilakukan di dalam *smoking chamber*. Katup oksigen dibuka, kemudian rokok dipasangkan pada pipa yang dihubungkan dengan pompa, selanjutnya rokok dibakar dan pompa dinyalakan sehingga asap akan masuk ke dalam *smoking chamber* dan terhirup tikus. Kelompok 1 merupakan kelompok tikus yang tidak diberi asap rokok. Kelompok 2 merupakan kelompok tikus yang diberi asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan perlakuan.

### **Pembuatan Preparat Histologi sistem respirasi tikus**

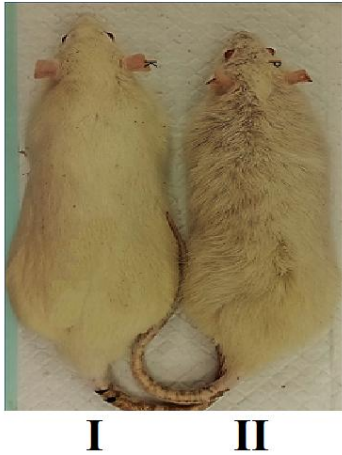
Jaringan direndam ke dalam netral buffer formalin 10% dan dibiarkan dalam suhu kamar selama 24 jam. Jaringan dipotong dengan ukuran  $1 \times 1 \times 1$  cm, kemudian dimasukkan dalam cassette jaringan. Kemudian jaringan dipindahkan untuk dehidrasi dengan alkohol secara berturut-turut dengan konsentrasi alkohol 70%, 80%, 90%, 96% dengan lamanya waktu masing-masing perendaman adalah 2 jam. Tahap selanjutnya adalah clearing dan setelah itu jaringan siap untuk dimasukkan ke dalam blok parafin. Selanjutnya dilakukan embedding dan blocking. Setelah itu organ dipotong (*cutting*) dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 mikron. Kemudian diwarnai dengan pewarnaan Harris Hematoksilin-Eosin<sup>12</sup> dan juga trichomasson. Slide preparat yang dibuat meliputi: trakea, bronkus, bronkiolus dan alveolus. Dokumentasi gambar menggunakan optilab plus dan image raster 3.

### **Analisis data**

Uji statistik yang dipilih pada penelitian ini adalah uji statistik T-test independen untuk membandingkan biometrik sel pada sistem respirasi tikus antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, dengan tingkat kepercayaan ( $\alpha = 0,05$ ).

## RESULTS

Tampilan tubuh tikus setelah dipapari asap rokok disajikan pada gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Perbandingan kondisi rambut punggung tikus.

Tikus pada kelompok I merupakan kontrol, tidak dipapari asap rokok memperlihatkan warna rambut lebih putih, lebih bersih dan lebih rapat dibanding kelompok perlakuan. Tikus pada kelompok II merupakan kelompok perlakuan yang dipapari asap rokok memperlihatkan warna rambut kuning kusam, kurang bersih dan lebih jarang dibanding kelompok kontrol.



Gambar 2. Tampilan tubuh tikus setelah dipapari asap rokok

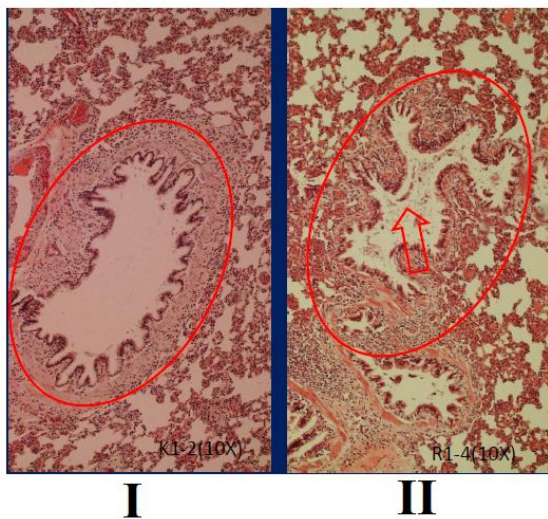
Pada gambar 2 memperlihatkan bahwa tikus yang dipapari asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan ternyata warna rambutnya kuning kusam, kurang bersih dan lebih jarang dibanding kelompok kontrol.



Gambar 3. Perbandingan kondisi rambut abdomen tikus

Pada gambar 3 memperlihatkan bahwa tikus yang dipapari asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan ternyata warna rambut abdomen kuning kusam, kurang bersih dan lebih jarang dibanding kelompok kontrol.

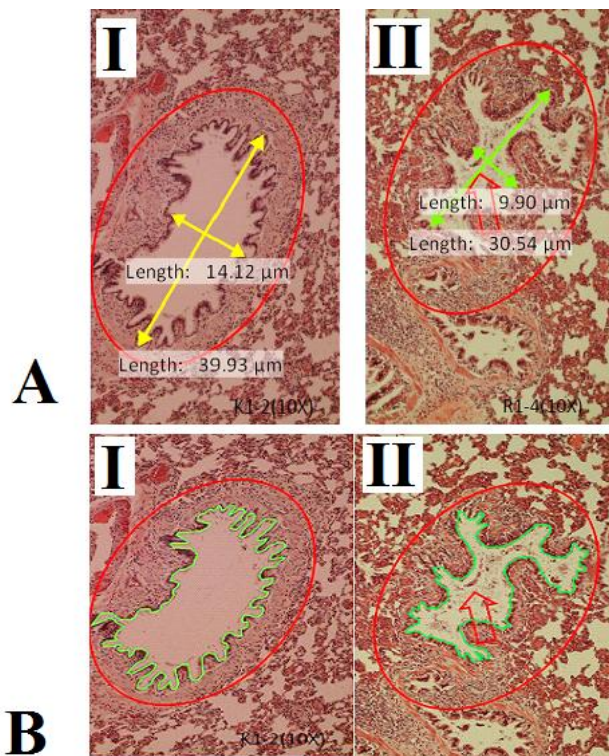
Perbandingan histologi bronchioles tikus disajikan pada gambar 4.



Gambar 4. Perbandingan histologi bronchioles tikus. I=histologi broncheolus tikus yang tidak dipapari asap rokok. II=histologi broncheolus tikus yang dipapari asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan. Anak panah menunjukkan adanya eksudat pada kelompok II, tetapi tidak ditemukan pada kelompok I.

Pada gambar tersebut memperlihatkan pengaruh asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan menimbulkan eksudat di ruang bronchioles tikus kelompok perlakuan, sedangkan pada kelompok kontrol eksudat tersebut tidak ditemukan.

Biometrik bronchioles tikus meliputi panjang, lebar, area dan perimeter bronchioles disajikan pada gambar 5.



Gambar 5. Biometric bronchioles tikus. A. Panjang dan lebar bronchioles tikus. B. Area dan perimeter bronchioles. I=kelompok kontrol; II=kelompok perlakuan.

Biometric bronchioles tikus disajikan pada tabel 3.

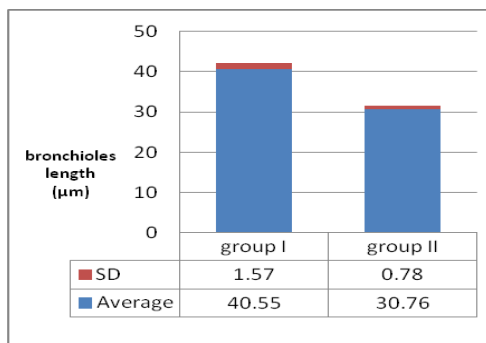
Tabel 3. Biometric bronchioles tikus

| KELOMPOK      | bronchioles length<br>μm | bronchioles width<br>μm | bronchioles area<br>μm <sup>2</sup> | bronchioles perimeter<br>μm |
|---------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| I             |                          |                         |                                     |                             |
| 1             | 39.93                    | 14.12                   | 495.43                              | 231.02                      |
| 2             | 42.49                    | 15.22                   | 482.98                              | 230.48                      |
| 3             | 37.86                    | 14.97                   | 497.81                              | 235.81                      |
| 4             | 39.21                    | 15.32                   | 494.29                              | 230.89                      |
| 5             | 40,28                    | 15.11                   | 501.27                              | 241.59                      |
| 6             | 41.77                    | 14.69                   | 499.23                              | 239.38                      |
| 7             | 39,76                    | 14.52                   | 494.31                              | 231.92                      |
| 8             | 42.02                    | 14.62                   | 491.58                              | 229.85                      |
| <b>Rerata</b> | <b>40.55</b>             | <b>14.82</b>            | <b>494.61</b>                       | <b>233.87</b>               |
| <b>SD</b>     | <b>1.57</b>              | <b>0.41</b>             | <b>5.62</b>                         | <b>4.51</b>                 |

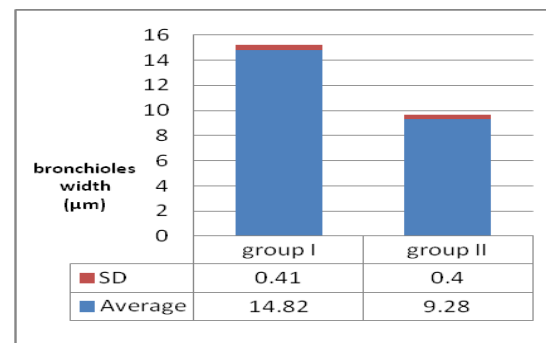
| II            |              |             |               |               |
|---------------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| 1             | 30.54        | 9.90        | 295.58        | 173.01        |
| 2             | 29.83        | 9.40        | 296.99        | 178.28        |
| 3             | 31.92        | 9.72        | 299.81        | 182.91        |
| 4             | 30.28        | 9.35        | 295.69        | 172.79        |
| 5             | 31.26        | 9.21        | 298.63        | 181.28        |
| 6             | 30.09        | 8.99        | 294.89        | 170.82        |
| 7             | 30.47        | 8.71        | 295.11        | 178.81        |
| 8             | 31.76        | 8.96        | 301.82        | 184.82        |
| <b>Rerata</b> | <b>30.76</b> | <b>9.28</b> | <b>297.32</b> | <b>177.84</b> |
| <b>SD</b>     | <b>0.78</b>  | <b>0.40</b> | <b>2.53</b>   | <b>5.15</b>   |

Keterangan: Kelompok I=tikus tidak dipapari asap rokok; kelompok II=tikus yang dipapari asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan; SD=strandard of deviation.

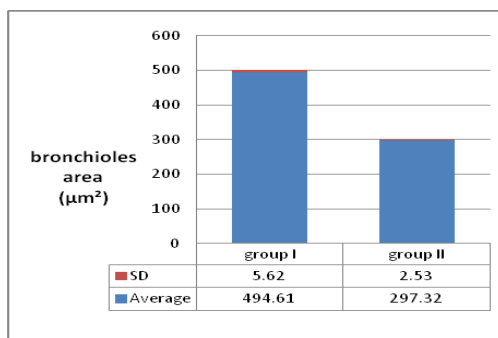
Perbandingan biometric bronchioles tikus disajikan pada gambar 6.



A.



B.



C.



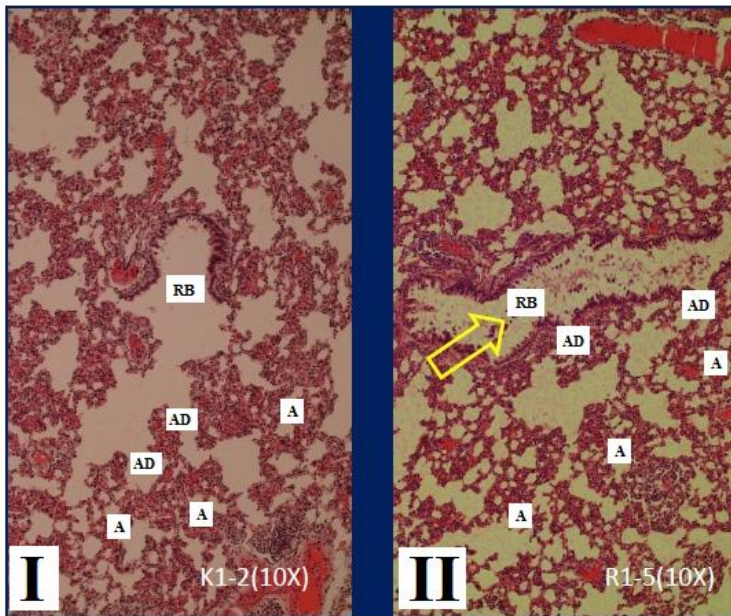
D.

Gambar 6. Perbandingan biometric bronchioles tikus. Bronchioles length (A), bronchioles width (B), bronchioles area (C) dan bronchioles perimeter (D). A, B, C dan D antara kelompok I berbeda dengan kelompok II ( $p < 0.05$ ).

Berdasar data pada tabel 3 dan gambar 6, bronchioles length, bronchioles width, bronchioles area dan bronchioles perimeter kelompok I berbeda dengan kelompok II ( $p < 0.05$ ). Biometrik bronchioles tikus kelompok perlakuan < dibanding kontrol.



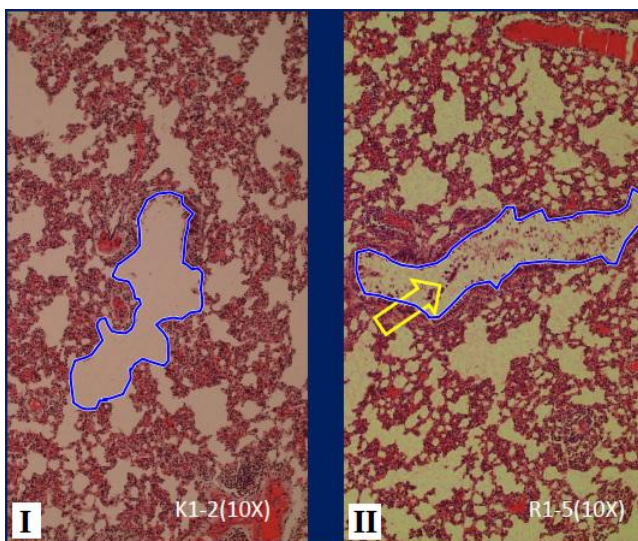
Perbandingan histologi respiratory-bronchioles tikus disajikan pada gambar 7.



Gambar 7. Perbandingan histologi respiratory-bronchioles tikus. I=histologi respiratory-broncheolus tikus yang tidak dipapari asap rokok. II=histologi respiratory-broncheolus tikus yang dipapari asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan. Anak panah menunjukkan adanya eksudat pada kelompok II, tetapi tidak ditemukan pada kelompok I. RB= respiratory-bronchioles; AD= alveolar ducts; A=alveoli.

Pada gambar tersebut memperlihatkan pengaruh asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan menimbulkan eksudat di ruang respiratory-bronchioles, sedangkan pada kelompok kontrol eksudat tersebut tidak ditemukan.

Pengukuran area dan perimeter respiratory-bronchioles pada tikus disajikan pada gambar 8.



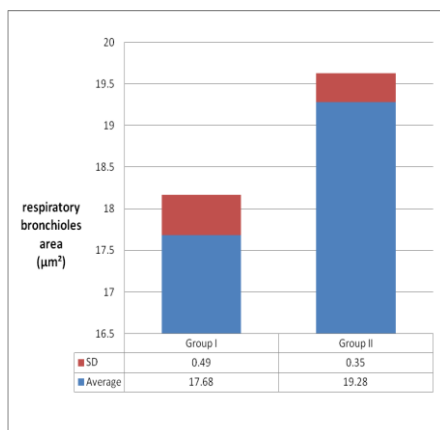
Gambar 8. Perbandingan area dan perimeter respiratory-bronchioles tikus. I=respiratory-broncheolus tikus yang tidak dipapari asap rokok. II=respiratory-broncheolus tikus yang dipapari asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan.

Biometric respiratory-bronchioles tikus disajikan pada tabel 4.

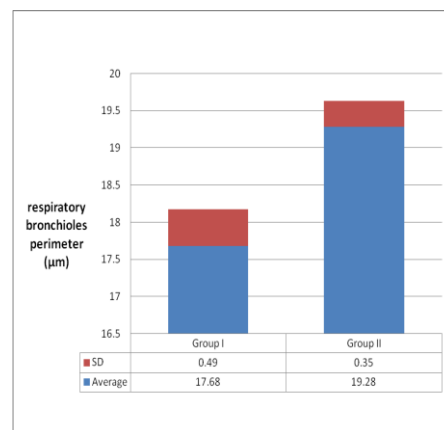
Tabel 4. Biometric respiratory-bronchioles tikus

| KELOMPOK      | rb area         | rb perimeter  |
|---------------|-----------------|---------------|
| I             | $\mu\text{m}^2$ | $\mu\text{m}$ |
| 1             | 17.51           | 26.49         |
| 2             | 18.64           | 27.29         |
| 3             | 17.19           | 25.91         |
| 4             | 17.92           | 26.31         |
| 5             | 17.28           | 26.34         |
| 6             | 17.31           | 27.08         |
| 7             | 17.53           | 27.21         |
| 8             | 18.05           | 26.19         |
| <b>Rerata</b> | <b>17.68</b>    | <b>26.60</b>  |
| <b>SD</b>     | <b>0.49</b>     | <b>0.52</b>   |
| II            |                 |               |
| 1             | 19.68           | 29.59         |
| 2             | 19.41           | 28.91         |
| 3             | 19.88           | 29.79         |
| 4             | 18.97           | 28.88         |
| 5             | 19.22           | 28.91         |
| 6             | 19.08           | 29.23         |
| 7             | 18.95           | 29.42         |
| 8             | 19.04           | 29.53         |
| <b>Rerata</b> | <b>19.28</b>    | <b>29.28</b>  |
| <b>SD</b>     | <b>0.35</b>     | <b>0.35</b>   |

Keterangan: rb=respiratory-bronchioles; Kelompok I=tikus tidak dipapari asap rokok; kelompok II=tikus yang dipapari asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan; SD=standard of deviation.



A.

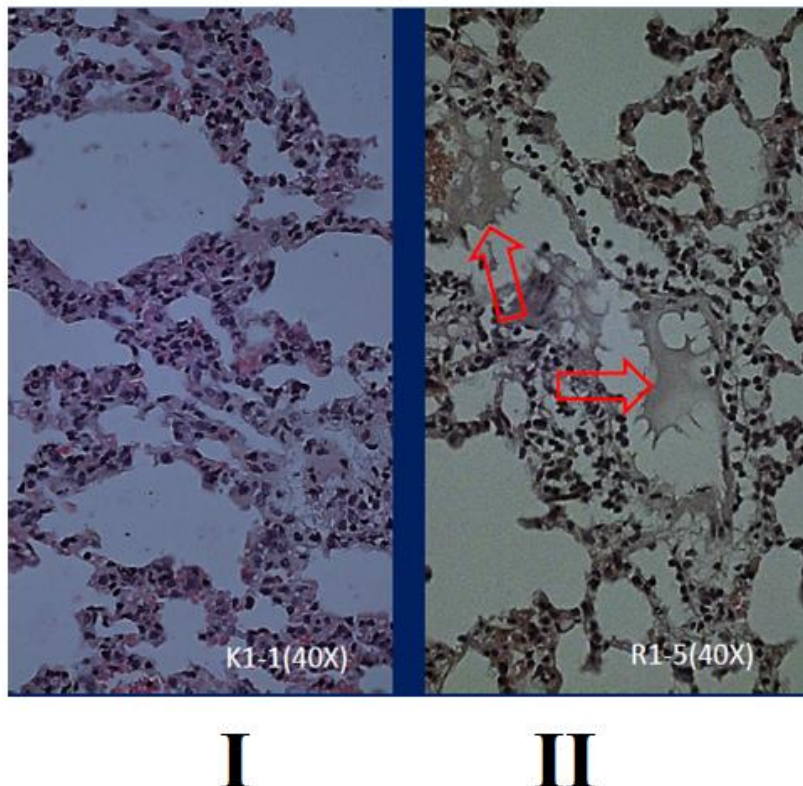


B.

Gambar 9. Perbandingan biometric respiratory-bronchioles tikus. Respiratory-bronchioles area (A) dan respiratory-bronchioles perimeter (B). A dan B antara kelompok I berbeda dengan kelompok II ( $p < 0.05$ ).

Berdasar data pada tabel 4 dan gambar 7 respiratory-bronchioles area dan respiratory-bronchioles perimeter kelompok I < kelompok II ( $p < 0.05$ ) atau terjadi pembesaran ruang respiratory-bronchioles untuk menampung eksudat.

Pengaruh asap rokok terhadap saccus alveolaris tikus disajikan pada gambar 10.



Gambar 10. Pengaruh asap rokok terhadap alveolus tikus. I=histologi alveolus tikus yang tidak dipapari asap rokok. II=histologi alveolus tikus yang dipapari asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan. Anak panah menunjukkan adanya eksudat pada kelompok II, tetapi tidak ditemukan pada kelompok I.

Pada gambar tersebut memperlihatkan pengaruh asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan menimbulkan eksudat di saccus alveolaris, sedangkan pada kelompok kontrol eksudat tersebut tidak ditemukan.

## DISCUSSION

Penelitian ini memperlihatkan bahwa asap merokok menyebabkan rambut berubah warna dari putih bersih menjadi kuning kusam. Asap rokok mengandung nikotin yang terhirup oleh tikus menyebabkan perubahan warna, kebersihan dan kerapatan rambut. Fakta tersebut sesuai dengan

peneliti terdahulu yang menggunakan dasar bahwa nikotin rambut digunakan sebagai biomarker untuk menilai paparan kronis *environmental tobacco smoke* (ETS) maupun perokok aktif.<sup>13</sup> Nikotin dalam asap rokok secara inhalasi masuk ke dalam tubuh, menembus membran sel sampai ke sistem sirkulasi sistemik. Sebagian besar nikotin (80%) dimetabolisme di dalam hati oleh enzim p450 menjadi nicotinine.<sup>14</sup> Kandungan nikotin rambut maternal juga dipakai untuk menentukan tingkat paparan asap rokok selama kehamilan. Lebih rinci diperoleh hasil bahwa kadar nikotin rambut maternal berkorelasi negatif dengan antropometri bayi yang dilahirkan. Selain data tersebut juga diperoleh hasil bahwa kandungan nikotin rambut pada bagian proksimal lebih tinggi dibanding bagian distal.<sup>15</sup> Hasil penelitian yang lain juga memperlihatkan bahwa intensitas merokok, merupakan faktor penting yang bertanggung jawab terjadinya androgenetic alopecia (AGA) pada pria. Juga dikonfirmasi bahwa status merokok, jumlah rokok, dan intensitas merokok memainkan peran penting dalam perkembangan AGA.<sup>16</sup> Selain itu juga diperoleh hasil penelitian yang menyatakan bahwa asap rokok dapat menjadi sumber stress oksidatif yang mempengaruhi serat rambut (hair fiber).<sup>17</sup>

Pada penelitian ini memperlihatkan pengaruh asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan menimbulkan eksudat di ruang bronchioles, sedangkan pada kelompok kontrol eksudat tersebut tidak ditemukan. Pada penelitian ini, eksudat yang timbul hampir memenuhi sebagian besar ruang bronchioles. Eksudat yang terbentuk dimaksudkan untuk menetralkan asap rokok sebagai benda asing yang bersifat toksik. Selain di dalam ruang bronchioles, eksudat juga ditemukan di ruang respiratory-bronchioles maupun di dalam saccus alveolus. Timbulnya eksudat tersebut yang diinduksi oleh asap rokok sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa paparan asap rokok 5 hari pada tikus Fischer 344 untuk mengidentifikasi perubahan protein paru. Lebih terinci didemonstrasikan bahwa histositis alveolar sedikit meningkat baik pada tikus betina maupun jantan. Selain peningkatan histositis alveolar, juga terjadi peningkatan siklooksigenase-2, matriks metalloproteinase-12, makrofag alveolar dan epitel bronkiolar, protein kinase C. Lebih jauh dinyatakan bahwa perubahan kadar protein yang diidentifikasi berperan dalam peradangan, transformasi, proliferasi, aktivasi stres, dan apoptosis.<sup>18</sup> Selain eksudat yang timbul di dalam ruang bronchioles, juga terjadi perubahan biometrik bronchioles pada kelompok perlakuan.

Kelompok tikus yang dipapari asap rokok memperlihatkan perubahan biometrik yaitu penurunan ukuran panjang, lebar, area dan perimeter bronchioles. Penurunan ukuran tersebut untuk merespons asap rokok yang tidak dikehendaki, karena pada kondisi normal udara pernafasan tidak mengandung asap rokok. Tikus melakukan respons negatif terhadap asap rokok berupa penurunan ukuran biometrik bronchioles. Penurunan biometrik bronchioles tersebut dimaksudkan untuk mengurangi paparan asap rokok, sehingga memperkecil volume asap rokok yang sampai ke ruang

alveoli. Keadaan tersebut memungkinkan obstruksi aliran udara yang tidak dapat mengalir balik secara sempurna. Tempat obstruksi terletak di saluran napas kecil, yaitu, bronkiolus dengan diameter 2 mm. Perubahan anatomis pada saluran udara tersebut termasuk kelainan struktural dari saluran udara penghantar misalnya fibrosis peribronchiolar dan penyumbatan lendir. Hal tersebut dapat mengakibatkan destabilisasi saluran udara di dalam bronchioles.<sup>19</sup> Hasil penelitian lain memperlihatkan adanya abnormalitas bronchioles karena faktor yang lain.

Abnormalitas bronchioles juga dapat terjadi karena degenerasi bronchioles, termasuk desquamasi epitel bronchioles dan debris sel dalam lumen, nukleus menjadi gelap baik pada sel epitel bronchioles bersilia maupun yang tidak bersilia. Keadaan tersebut menyebabkan infiltrasi inflammatory cells pada dinding sel bronchioles dan meningkatnya myofibroblasts. Peningkatan myofibroblast mengakibatkan terjadinya deposit kolagen pada bronchioles sampai menghasilkan obstruksi aliran udara kronik.<sup>20</sup> Gangguan asap rokok bukan hanya pada bronchioles, tetapi juga mempengaruhi respiratory-bronchioles maupun alveoles yang menyebabkan keterbatasan aliran udara pernafasan.

Mekanisme terjadinya keterbatasan aliran udara karena pengaruh asap rokok telah diteliti sebelumnya. Asap rokok menimbulkan stres oksidatif yang mempengaruhi sel epitel yang berbatasan dengan udara pernafasan maupun alveolar macrophage. Sel epitel maupun alveolar macrophage menghasilkan chemokines untuk mempengaruhi inflammatory cells (neutrophile, macrophage, sel T CD 8, sel T CD 4, B cells, mast cells dan dendritic cells). Selanjutnya inflammatory cells menghasilkan protease autoimmunity yang menyebabkan destruksi alveoler. Selain menghasilkan protease autoimmunity, inflammatory cells juga memproduksi mucus yang berlebihan (mucus hypersecretion). Produksi mucus juga dilakukan oleh epithel permukaan yang berbatasan dengan udara pernafasan. Destruksi alveoler dan mucus hypersecretion mengakibatkan pengerasan dinding sel epitel dan hilangnya elatisitas sehingga aliran udara menjadi terbatas.<sup>19</sup> Hasil penelitian lain juga mengungkapkan peran radikal bebas pada asap rokok terhadap kelainan paru.

Radikal bebas yang terdapat di dalam asap rokok dalam jumlah yang sangat tinggi dan memiliki sifat yang tidak stabil sehingga dapat merusak jaringan. Kelainan paru yang diakibatkan radikal bebas yang ada di dalam rokok akan menyebabkan gangguan atau kelainan pada saluran pernafasan, mulai dari trakea, bronkus, dan bronkiolus sampai pada alveoli paru.<sup>21</sup> Untuk menekan jumlah alveolar macrophage pada tikus yang dipapar asap rokok telah dicoba dengan memberikan antioksidan.<sup>22</sup>

Rat airway morphometry telah dilakukan,<sup>23</sup> tetapi belum ditemukan data bronchioles biometric pada tikus. Bronchioles length, bronchioles width, bronchioles area dan bronchioles

perimeter kelompok I > dibanding kelompok II ( $p < 0.05$ ). Hal tersebut berarti bahwa biometrik bronchioles pada kelompok tikus yang dipapari asap rokok lebih kecil dibanding kelompok kontrol. Hal tersebut terjadi sebagai mekanisme pertahanan untuk mengurangi volume paparan asap rokok. Selain memperkecil biometrik bronchioles untuk mengurangi paparan asap rokok, juga dilakukan dengan hipersekresi mucus. Pernyataan tersebut didukung data bahwa mucus ditemukan di ruang bronchioles tikus yang terpapar asap rokok, sedangkan pada ruang bronchioles tikus kontrol tidak ditemukan mucus. Mucus yang diproduksi oleh epitel di bronchioles ternyata juga diproduksi oleh epitel yang ada di respiratory bronchioles.

Pengaruh asap rokok mempersempit ruang bronchioles tetapi ruang respiratory-bronchioles menjadi lebih lebar. Kemungkinan melebarnya ruang respiratory-bronchioles untuk memperlebar ruang absorpsi oksigen. Pada gambar tersebut memperlihatkan pengaruh asap rokok 1 batang/hari selama 3 bulan menimbulkan eksudat di ruang respiratory-bronchioles, sedangkan pada kelompok kontrol eksudat tersebut tidak ditemukan. Asap rokok juga menyebabkan area dan perimeter respiratory-bronchioles kelompok I < kelompok II ( $p < 0.05$ ). Selain di dalam bronchioles dan respiratory-bronchioles, eksudat juga ditemukan di ruang saccus alveolaris.

Pengaruh asap rokok yang menimbulkan eksudat di dalam saccus alveolaris memperlihatkan adanya gangguan fungsi paru. Hasil penelitian tersebut sesuai dengan penelitian yang menunjukkan adanya perubahan histopatologi paru. Perubahan histologi paru tersebut memperlihatkan tingkat kerusakan jaringan paru yang semakin tinggi. Lebih dari itu juga diperlihatkan bahwa makrofag alveolar menutupi alveoli setelah diberi paparan asap rokok.<sup>24</sup> Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa tikus yang dipapar asap rokok, jumlah makrofag alveolar secara signifikan lebih banyak dibanding dengan yang tidak terpapar asap rokok. Paparan asap rokok pada hewan coba tikus menyebabkan terjadinya kerusakan paru-paru berupa kerusakan pada dinding alveolus.<sup>25</sup>

Partikel asing dalam alveolus menyebabkan respon peradangan. Peradangan (inflamasi) adalah suatu reaksi kompleks terhadap agen atau bahan yang merugikan. Respon peradangan berkaitan erat dengan proses perbaikan. Peradangan berfungsi untuk menghancurkan, mengencerkan, atau membatasi agen yang merugikan, dan memicu terjadinya serangkaian proses yang mencoba untuk memulihkan dan mengganti jaringan yang rusak. Saat terjadi peradangan, proses aktivasi dan fagositosis sel leukosit membebaskan juga ROS tidak hanya dalam fagolisosom melainkan ke dalam ruang ekstrasel. Produk tersebut mampu menimbulkan cedera endotel dan kerusakan jaringan sehingga dapat memperkuat cedera awal. Serangkaian proses tersebut menyebabkan pada perokok terjadi akumulasi makrofag dan neutrofil di alveolus.<sup>26</sup>

## CONCLUSION

Berdasar hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa paparan asap rokok kretek 1 batang/hari selama 3 bulan terhadap tikus *Sprague-Dawley* menurunkan ukuran ruang bronchioles, meningkatkan ukuran ruang respiratory-bronchioles, saccus alveolaris. Eksudat diproduksi di dalam ruang bronchioles, respiratory-bronchioles dan saccus alveolaris.

## SIGNIFICANCE STATEMENT

This study discovered that paparan asap rokok merubah biometrik bronchioles, respiratory-bronchioles dan saccus alveolaris pada tikus *Sprague-Dawley*.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Faculty of Medicine, Universitas Trisakti, Indonesia. This research was funded in the budget year 2019-2020.

## REFERENCES

1. WHO. WHO report on the global tobacco epidemic. World Health Organization: New York.
2. Stephen, M. 2010. The toxicological of cigarette smoke and environmental tobacco. Report Assignment-Biochemical Toxicology, BC4927.
3. Ding Y, Zhang L, Jain R, jain N, Wang R, Ashley D and Watson C. 2008. Levels of tobacco-specific nitrosamines and polycyclic aromatic hydrocarbons in mainstream smoke from different tobacco varieties. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 17: 3366-71.
4. Sahu SK, Tiwari M, Bhangare RC, Pandit GG. Particle size distributions of mainstream and exhaled cigarette smoke and predictive deposition in human respiratory tranct. *Aerosol Air Qual Res*, 2013, 13:324-332.
5. Ziad S, Wajdy AA and Darwish B. 2013. Effects of cigarette smoking on histology of trachea and lungs of albino rat. *Res. Opin. Anim. Vet. Sci.* 3(10), 356-362.
6. Bryndina IG and Ye DG. Substansia P kak factor, povyshayuschiy ustoichivost surfaktnoi sistemy lyegkikh k khronicheskomy immobilizatsionnomy stressu, Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal. 2002, 1:84-89.
7. Danilov LN, Ye LS, Yu KA. Modelirovaniye zabolyevaniy lyegkikh, Posobiye dlya nauchnykh rabotnikov. S-Pb, 2005, 31.
8. Zaitseva KK, Simonenkova VA, Yu KA. Ultrastrukturnaya organizatsiya aerogematischeskogo baryera legkikh laboratornykh zhyvotnykh. *Arkh. Anat Gist i Embriol.* 1985, 9: 59-66.

9. Widodo E. Panajanan asap rokok kretek pada tikus putih sebagai model untuk manusia. (thesis). Bogor: Institut Pertanian Bogor.
10. Koptyev MM, Pronina OM, Danyichenko SI, Avetikov DS and Stavitskly. Histological features of rats normal lung tissue. *European International Journal of Science*. 2014, 3(3):33-38.
11. Parwanto MLE, Wratsangka R, Guyansyah A and Kirana A. Mutation of the fas-promoter-670 gene, AA to GA in the normal cervix-epithelial-cells of high risk Indonesian mother: A case report. *Bali Medical Journal* 2019, 8(1):360-364. DOI: 10.15562/bmj.v8i1.1313
12. Kiernan JA. 1990. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. Oxford: Pergamon Press.
13. Jaakkola J.J.K., Jaakkola N., and Zahlsen K. Fetal growth and length of gestation in relation to prenatal exposure to environmental tobacco smoke assessed by hair nicotine concentration. *Env Health Perspect* 2001; 109: 557–561.
14. Benowitz NL, Jacop PI. Metabolism of nicotine to cotinine studies by a dual stable isotope method. *Clin Pharmacol Ther* 1994;56:483–93.
15. Pichini S, Garcia-algar O, Muñoz L, Vall O, Pacifici R, Figueroa C, Pascual JA, Diaz D and Sunyer J . Assessment of chronic exposure to cigarette smoke and its change during pregnancy by segmental analysis of maternal hair nicotine. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology* (2003) 13, 144–151
16. Su LH, Chen THH. Association of Androgenetic Alopecia With Smoking and Its Prevalence Among Asian Men. A Community-Based Survey. *Arch Dermatol*. 2007;143(11):1401-1406
17. Trüeb RM. The impact of oxidative stress on hair. *International Journal of Cosmetic Science*, 2015, 37 (Suppl. 2), 25–30. doi: 10.1111/ics.12286
18. Carter CA, Misra M. Effects of Short-Term Cigarette Smoke Exposure on Fischer 344 Rats and on Selected Lung Proteins. *Toxicologic Pathology*, 38: 402-415, 2010. DOI: 10.1177/0192623310364028
19. Martin C, Frija J, Burgel PR. Dysfunctional lung anatomy and small airways degeneration in COPD. *International Journal of COPD* 2013;8 7–13.
20. Chookliang A , Sricharoenvej S, Lanlua P, Apichaya Niyomchan A, Baimai S. Alterations in the Bronchioles of Rat Lungs with Chronic Diabetes. *Proceedings of International Conference on Technology and Social Science 2019 (ICTSS 2019)*.  
[http://conf.ejikei.org/ICTSS/2019/proceedings/materials/proc\\_files/GS/ICTSS2019\\_GS\\_A007/CameraReady ICTSS2019\\_GS\\_A007\\_Ms.Chookliang.pdf](http://conf.ejikei.org/ICTSS/2019/proceedings/materials/proc_files/GS/ICTSS2019_GS_A007/CameraReady ICTSS2019_GS_A007_Ms.Chookliang.pdf)



21. Nurliani, A., Santoso, dan Rusmiati. 2012. Efek antioksidan ekstrak bulbus bawang dayak (*Eleutherine palmifolia*) pada gambaran histopatologi paru-paru tikus yang dipapar asap rokok. *Jurnal Bioscientiase*. 2012, 9(1):60-69.
22. Lee, SG., Bohkyung K., Yue Y., Tho XP., Youngki P., Jose M., Sung IKI., Oek KC and Ji-Young L. Berry anthocyanins suppress the expression and acretion of proinflammatory mediators in macrophages by inhibiting nuclear translocation of NFkB independent of NRF2-mediated mechanism. *Journal Of nutritional Biochemistry* 2014, 25, 404-411.
23. Oakes JM, Scadeng M, Breen EC, Marsden AL, Darquenne C. Rat airway morphometry measured from in situ MRI-based geometric models. *J Appl Physiol* 2012, 112:1921–1931.
24. Herdiani N & Putri EBP. Gambaran histopatologi paru tikus wistar setelah diberi paparan asap rokok. *Medical and Health Science Journal* 2018, 2(2):7-14.
25. Lopez AG, Thiago SF, Renata TN, Manuella L, Karla MPP, Ari MS, Ricardo MB, Antonio JRS, Samuel SV, and Luis CP. Antioxidant Action Of Propolis On Mouse Lungs Exposed To Short-term Cigarette Smoke, *Bioorganic And Medicinal Chemistry*. 2013, 21(24):7570-7577.
26. El-saify GH; Nadia Said Badawy Khair NSB and Eldien NMN. Role of Tumor Necrosis Factor-alpha and Interleukin-6 in Nutmeg Induced Pulmonary Injury in Adult Albino Rats: A Light Microscopic and Molecular Study. *Journal of American Science* 2017,13(3):146-153.

---\*\*\*---