

PERBANDINGAN PENGARUH PAPARAN ASAP ROKOK KONVENSIONAL, NIKOTIN VAPE, DAN PEMBERIAN EKSTRAK DAUN TEMBAKAU SECARA INHALASI TERHADAP VOLUME OTAK *Rattus norvegicus*

Rafi Daffa Dzaky¹, Sudibjo²

¹ Mahasiswa Program Studi Kedokteran, Universitas Ciputra, Kota Surabaya,
Provinsi Jawa Timur

² Fakultas Kedokteran, Universitas Ciputra, Kota Surabaya, Provinsi Jawa Timur
Korespondensi rdaffa@student.ciputra.ac.id Telp/ HP 081259152727

Naskah Masuk : 28 Desember 2020 Revisi : 12 Mei 2021 Layak Terbit : 19 Juli 2021

Abstrak

Menurut WHO pada tahun 2016 terdapat 47 juta atau 5% dari orang tua di dunia yang menderita demensia. Demensia tersering adalah penyakit Alzheimer, dengan kerusakan khas pada sel neuron. Rokok memberikan sumbangsih dalam menyebabkan penurunan volume otak, namun bahan nikotin yang ada dalam tembakau ternyata memiliki efek neuroprotektif. Tujuan melakukan penelitian ini untuk mengetahui perubahan volume otak *Rattus norvegicus* akibat paparan asap rokok konvensional, nikotin vape, dan pemberian ekstrak daun tembakau yang diberikan secara inhalasi. Ada lima kelompok perlakuan yaitu KN (kelompok kontrol negatif, tidak diberi perlakuan), RK2 (kelompok paparan asap rokok 2 batang rokok perhari selama 2 minggu), RK1 (kelompok dengan pemberian rokok 2 batang rokok perhari selama satu minggu setelah itu diganti dengan pemberian ekstrak daun tembakau 3,78 mg/kgBB selama 1 minggu), NT (kelompok dengan pemberian ekstrak daun tembakau 3,78 mg/kgBB selama 2 minggu), dan NV (kelompok dengan pemberian nikotin vape 3,78 mg/kgBB selama 2 minggu). Pengukuran volume otak dilakukan dengan metode *liquid displacement*. Hasil menunjukkan rata-rata volume otak terkecil ditemukan pada kelompok RK2 (2,2 ml), kemudian diikuti kelompok NT dan RK 1 (2,6 ml), sedangkan volume otak terbesar ditemukan pada kelompok KN dan NV (2,8 ml). Meskipun demikian perbedaan volume otak tersebut tidak signifikan secara statistik. Penelitian selanjutnya diharapkan melakukan pemeriksaan yang lebih lanjut dan perlakuan hewan coba dilakukan lebih lama sehingga perubahan yang ada bisa nampak lebih jelas.

Kata kunci : Volume otak, rokok konvensional, ekstrak daun tembakau, nikotin

Abstract

*According to WHO in 2016 there were 47 million or 5% of the elderly people in the world who suffered from dementia. The most common dementia is Alzheimer's disease, with characteristic damage to neurons. Cigarettes contribute in causing a decrease in brain volume, but the nicotine in tobacco has a neuroprotective effect. The purpose of this study was to determine changes in brain volume of *Rattus norvegicus* due to exposure to conventional cigarette smoke, vape nicotine, and the administration of tobacco leaf extract given by inhalation. There were four treatment groups, namely KN (negative control group, not given treatment), RK2 (group exposure to cigarette smoke 2 cigarettes per day for 2 weeks), RK1 (group with giving 2 cigarettes per day for one week after that it was replaced with leaf extract 3.78 mg/kgBW of tobacco for 1 week), NT (group with 3.78 mg/kgBW of tobacco leaf extract for 2 weeks), and NV (group with 3.78 mg/kgBW of vape nicotine for 2 weeks). Brain volume measurement was done by liquid displacement method. The results showed that the smallest mean brain volume was found in the RK2 group (2.2 ml), followed by the NT and RK 1 groups (2.6 ml), while the largest brain volume was found in the KN and NV groups (2.8 ml). However, the difference in brain volume was not statistically significant. Future research is expected to carry out further examination and treatment of experimental animals is carried out longer so that the changes can be seen more clearly.*

Keyword: Brain volume, conventional cigarette smoke, tobacco leaf extract, nicotine

PENDAHULUAN

Terdapat 47 juta (5%) orang tua di dunia pada tahun 2016 yang menderita demensia. Angka ini diperkirakan akan terus meningkat sehingga pada tahun 2030 menjadi 75 juta, dan pada tahun 2050 menjadi 135 juta orang (WHO, 2016). Jumlah penderita demensia di Asia Tenggara pada tahun 2015 sebanyak 9,8 juta jiwa. Indonesia sendiri menduduki posisi ke-9 terbesar jumlah pengidap demensia di dunia dan ke-4 di Asia Pasifik (Prince, 2015). Menurut *Alzheimer's Disease International*, jumlah penderita demensia di

Indonesia pada tahun 2030 diperkirakan mencapai 2,3 juta orang (Prince *et al*, 2016).

Gambaran khas penyakit Alzheimer, bentuk demensia tersering, adalah kerusakan pada otak. Kerusakan ini spesifik menyerang sel neuron secara *degenerative* dan progresif. Hal ini akan menyebabkan gangguan memori, berpikir, dan tingkah laku (Price dan Wilson, 2016).

Merokok menyebabkan penurunan kadar NO (*Nitric Oxide*) sehingga aliran darah menuju otak menurun. Aliran darah yang menurun

akan menyebabkan pembentukan *beta amyloid* yang semakin menurunkan pembentukan NO sehingga penyakit Alzheimer semakin parah (Toda and Okamura, 2016). Merokok jangka panjang juga dapat menyebabkan sel-sel neuron menua lebih cepat sehingga terjadi penurunan volume otak (Durazzo *et al*, 2017). Penurunan volume otak disebutkan sebagai indikasi terjadinya penyakit Alzheimer (Hendrikse, 2017).

Data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia menunjukkan persentase perokok usia 15 tahun keatas sebanyak 65.9% pada laki-laki dan 4,2% pada wanita (Akaputra dan Prasanty, 2018).

Nikotin dapat menghambat inflamasi akibat paparan *beta amyloid* pada mikroglia. Nikotin berikatan pada reseptor *cannabinoid CB2* atau protein kinase C sehingga terjadi penurunan kadar *microglial 1*, *iNOS* (*inducible nitric oxide synthase*), *tumor nekrosis factor alfa* (TNF alfa), dan *interleukin 6* (IL-6) (Jia *et al*, 2016). Injeksi *beta amyloid* pada tikus yang diinjeksi lagi dengan nikotin menghasilkan perbaikan kognitif dan memori (Noshita *et al*, 2015). Nikotin mampu menghambat pembentukan *beta amyloid* dengan meningkatkan fosforilasi *Cyclin D1* melalui pengaktifan jalur MAPK/ERK/EGR-1 pada reseptor nAChR alfa 7 (Xue *et al*, 2015).

Penelitian ini akan membandingkan volume otak tikus putih *Rattus norvegicus* setelah pemberian asap rokok, nikotin vape, dan ekstrak daun tembakau secara inhalasi. Penelitian berlangsung

selama 4 minggu menggunakan dosis 3,78 mg/kgBB tikus (paling tinggi). Daun tembakau untuk penelitian ini adalah daun perut tembakau jenis kalituri Tulungagung jenis rajangan varietas rejab. Metode ini mengikuti penelitian Adeniyi dan Musa (Adeniyi and Musa, 2011). Tembakau jenis rajangan banyak dilakukan pengembangan sehingga jenis tersebut yang dipilih dalam penelitian ini (Ali dan Hariyadi, 2018).

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efek paparan asap rokok, ekstrak daun tembakau, dan nikotin vape terhadap otak, sehingga dapat menjadi referensi untuk penelitian Alzheimer lebih lanjut dalam rangka menemukan obat yang mampu menghambat perjalanan penyakit Alzheimer.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan metode *Post Test-Only Control Group Design*. Ada lima kelompok perlakuan yaitu KN (kelompok kontrol negatif, tidak diberi perlakuan), RK2 (kelompok paparan asap rokok 2 batang rokok perhari selama 2 minggu), RK1 (kelompok dengan pemberian rokok 2 batang perhari selama satu minggu setelah itu diganti dengan pemberian ekstrak daun tembakau 3,78 mg/kgBB selama 1 minggu), NT (kelompok dengan pemberian ekstrak daun tembakau 3,78 mg/kgBB selama 2 minggu), dan NV (kelompok dengan pemberian nikotin

vape 3,78 mg/kgBB selama 2 minggu).

Populasi penelitian adalah tikus *Rattus norvegicus* strain wistar. Tikus ditempatkan di laboratorium uji coba hewan Fakultas Kedokteran Universitas Ciputra (FKUC). Kriteria inklusi sampel adalah jenis kelamin jantan, usia 4-6 minggu, berat badan 175-200 gram, dan dalam kondisi sehat yang ditandai dengan bulu bersih, halus, mengkilap, tidak ada kutu di tubuhnya, hidung dan mulut tidak berlendir (mengeluarkan air liur terus-menerus), feses normal, serta tikus aktif bergerak). Kriteria eksklusi adalah hewan berperilaku agresif, memiliki cedera fisik, dan berpenyakit.

Alat untuk membuat ekstraksi adalah gelas ukur 250 ml, gelas ukur 500 ml, tabung soxhlet, batang pengaduk, *heating mantle*, *waterbath*, *rotary evaporator*, *blender* dan neraca analitik. Alat perlakuan adalah kandang tikus, selang dengan diameter 2 mm, aquarium perlakuan, dan spuit 50 ml. Alat untuk mengukur volume otak adalah gelas ukur 100 ml. Bahan pembuatan ekstraksi adalah *Nicotiana tabacum*, tembakau, methanol, dan kertas saring. Bahan perlakuan adalah nikotin vape, rokok dji sam soe, makanan dan air minum tikus.

Volume otak diukur menggunakan metode *liquid displacement*, setelah organ otak diambil dari tikus, otak direndam

kedalam larutan *formol calcium* 10% atau formalin selama minimal 2 hari agar organ otak terfiksasi, kemudian dilakukan pengukuran dengan air menggunakan tabung ukur milimeter (Gambar 1) (Adeniyi dan musa, 2011).

Analisis inferensial menggunakan aplikasi *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS).

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata – rata volume otak terbesar ada pada kelompok KN (kelompok tanpa pemberian perlakuan apapun) dan NV (kelompok dengan pemberian ekstrak nikotin daun tembakau 3,78 mg/kgBB selama dua minggu) dengan nilai sama yakni 2,8 ml. Sedangkan rata – rata terendah ada pada kelompok RK2 (kelompok dengan pemberian rokok konvensional dua batang perhari selama dua minggu) dengan volume otak sebesar 2,2 ml (Tabel 1).



Gambar 1. Gambar Otak Tikus

Tabel 1. Hasil Pengukuran Volume Otak Tikus

No	Volume otak(ml)				
	KN	RK2	RK1	NT	NV
1	3	2	2	2	3
2	3	1	3	3	3
3	3	3	3	3	3
4	3	3	3	3	3
5	2	2	2	2	2
Rata-rata	2,8	2,2	2,6	2,6	2,8

Hasil uji normalitas menunjukkan volume otak kelompok RK2 berdistribusi normal ($P>0,05$) sedangkan kelompok lainnya berdistribusi tidak normal (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a		
	Statistic	df	Sig.
KN	.473	5	.001
RK2	.231	5	.200
RK1	.367	5	.026
NT	.367	5	.026
NV	.473	5	.001

Uji Lavene test menunjukkan data volume otak yang diukur bersifat homogen ($P>0,05$) (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.258	4	20	.319

Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas di atas, maka analisa selanjutnya menggunakan uji *Kruskal–Wallis Test*.

Hasil uji *Kruskal–Wallis Test* menunjukkan $p>0.05$, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan data volume otak secara signifikan.

Tabel 4. Hasil Uji Kruskal – Wallis

	volume_otak
Kruskal-Wallis H	2.871
df	4
Asymp. Sig.	.580

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata volume otak terkecil ada pada kelompok RK2 dengan volume otak 2,2 ml. Kelompok RK1 dan NT memiliki volume otak sebesar 2,6 ml. Kelompok KN dan NV memiliki volume otak terbesar yaitu 2,8 ml. Namun hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan volume otak yang signifikan.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Adeniyi dan Musa menunjukkan bahwa pemberian nikotin secara oral dan paparan asap rokok menunjukkan bahwa volume otak tikus tidak terdapat perbedaan jika dilakukan uji statistik, namun pada pengujian histologi didapati perbedaan pada area hippocampus dan lapisan sel pyramid (Adeniyi and Musa, 2011).

Penelitian Gallinat dkk menunjukkan bahwa volume otak manusia perokok dan bukan perokok yang diukur dengan *MR volumetric* menunjukkan adanya perbedaan lebih spesifik pada area *frontal region* (*anterior cingulate, prefrontal dan orbitofrontal cortex*), *cortex occipital*, *cerebellum*, *cuneus* dan *precuneus*. Gangguan *neurocognitive* dapat ditemukan pada perokok yang mengalami penurunan volume area otak di atas (Gallinat *et al*, 2006). Penurunan volume otak pada perokok beberapa area otak akibat terjadinya peningkatan radikal bebas (Durazzo *et al*, 2018). Perubahan volume otak pada pemberian nikotin terjadi lebih

kecil dibandingkan pada paparan asap rokok. Hal ini karena penurunan kadar lipid peroksida (stres oksidatif) dan peningkatan enzim antioksidan pada hipokampus tikus oleh bahan hasil degradasi *6 hydroxy L (6 hln)* yang terkandung dalam nikotin menyebabkan peningkatan fungsi memori dan kemampuan belajar (Hritcu dkk, 2015). Selain itu, nikotin sendiri memiliki peran sebagai menghambat inflamasi dan menurunkan kadar *microglial 1*, *iNOS* (*inducible nitric oxide synthase*), *tumor necrosis factor alfa* (TNF alfa), dan *interleukin 6* (IL-6) (Jia dkk, 2016). Nikotin juga mampu menghambat pembentukan *beta amyloid* dengan meningkatkan fosforilasi *Cyclin D1* melalui pengaktifan jalur MAPK/ERK/EGR-1 pada reseptor nAChR alfa 7 (Xue dkk, 2015). Perbedaan hasil pada manusia dan tikus karena paparan asap rokok pada tikus tidak sepenuhnya menggambarkan bagaimana manusia merokok dan menggunakan nikotin. Hal ini terjadi karena pada tikus, paparan rokok yang diberikan adalah rokok pasif. Selain itu kecepatan bernafas tikus lebih tinggi dari manusia. Kadar nikotin yang diterima tikus menjadi lebih rendah pada pemberian inhaler yang bergantung pada NOE (*Nose Only Exposure*). Hal ini menunjukkan perbedaan bentuk mempengaruhi efek rokok dan nikotin (Harris dkk, 2010).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan tidak ditemukan perubahan volume otak yang signifikan secara statistik pada pemaparan asap rokok, ekstrak nikotin daun tembakau, dan nikotin vape. Namun demikian perubahan rerata volume otak menunjukkan volume otak terkecil (2,2 ml) ditemukan pada pemberian rokok dua minggu, sedangkan volume otak terbesar (2,8 ml) ditemukan pada pemberian nikotin vape dan kelompok kontrol. Pemberian daun tembakau dan rokok 1 minggu menunjukkan volume otak 2,6 ml.

SARAN

1. Melakukan pemeriksaan mikroskopis beberapa area otak untuk penelitian lanjut.
2. Waktu pemberian paparan yang lebih lama sehingga efek kerusakan lebih jelas.
3. Untuk mendapatkan hasil pengukuran volume yang lebih tepat sebaiknya menggunakan *MR volumetric*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih peneliti ucapkan kepada pihak-pihak yang telah membantu dan melancarkan penelitian ini, yaitu Dekan dan Ketua Program Studi Fakultas Kedokteran Universitas Ciputra yang telah memberi kesempatan peneliti untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Ciputra Surabaya. Para dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan dorongan dalam

menyelesaikan penelitian ini. Para laboran yang telah membantu menyediakan dan meminjam alat laboratorium selama penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeniyi PA, Musa AA. Comparative Effects Of Smoke And Ethanolic Extract Of Nicotiana Tabacum On Hippocampus And Neurobehaviour Of Mice. *Research In Pharmaceutical Biotechnology*. 2011; 3(6): 68-74.
- Akaputra R, Prasanty RHD. Hubungan Merokok Dan Pendidikan Terhadap Fungsi Kognitif Civitas Akademika Di Lingkungan Universitas Muhammadiyah Jakarta. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*. 2018; 14(1): 48-55.
- Ali M, Hariyadi BW. 2018. *Teknik Budidaya Tembakau*. Surabaya: Fakultas Pertanian Agroteknologi Universitas Merdeka.
- Durazzo TC, Meyerhoff DJ, Yoder KK. Cigarette Smoking Is Associated With Cortical Thinning In Anterior Frontal Regions, Insula And Regions Showing Atrophy In Early Alzheimer's Disease. *Drug And Alcohol Dependence*. 2018; 192: 277-284.
- Durazzo TC, Meyerhoff DJ, Yoder KK, Murray DE. Cigarette Smoking Is Associated With Amplified Age-Related Volume Loss In Subcortical Brain Regions. *Drug And Alcohol Dependence*. 2017; 177: 228-236.
- Gallinat J, Meisenzahl E, Jacobsen LK, Kalus P, Bierbrauer J, Kienast T, Staedtgen M, *et al*. Smoking and structural brain deficits: a volumetric MR investigation. *European Journal of Neuroscience*. 2006; 24(6): 1744-1750.
- Harris AC, Mattson C, LeSage MG, Keyler DE, Pentel PR. Comparison of the behavioral effects of cigarette smoke and pure nicotine in rats.

- Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2010; 96(2): 217-227.
- Hendrikse J. 2013. *Dementia And Alzheimer's Disease*. In *This Is Our Brain* (Pp. 110-113). Springer, Singapore.
- Hritcu L, Stefan M, Brandsch R, Mihasan M. Enhanced Behavioral Response By Decreasing Brain Oxidative Stress To 6-Hydroxy-L-Nicotine In Alzheimer's Disease Rat Model. *Neuroscience Letters*. 2015; 591: 41-47.
- Jia J, Peng J, Li Z, Wu Y, Wu Q, Tu W, Wu M. Cannabinoid CB2 Receptor Mediates Nicotine-Induced Anti-Inflammation In N9 Microglial Cells Exposed To B Amyloid Via Protein Kinase C. *Mediators Of Inflammation*. 2016; 1-10.
- Noshita T, Murayama N, Nakamura S. Effect Of Nicotine On Neuronal Dysfunction Induced By Intracerebroventricular Infusion Of Amyloid- β Peptide In Rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015; 19(2): 334-343
- Price SA, Wilson LM. 2006. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Jakarta: EGC.
- Prince MJ. World Alzheimer Report 2015: The Global Impact Of Dementia: An Analysis Of Prevalence, Incidence, Cost And Trends. *Alzheimer's Disease International*. 2015.
- Prince M, Comas-Herrera A, Knapp M, Guerchet M, Karagiannidou M. World Alzheimer Report 2016: Improving Healthcare For People Living With Dementia: Coverage, Quality And Costs Now And In The Future. *Alzheimer's Disease International*. 2016.
- Toda N, Okamura T. Cigarette Smoking Impairs Nitric Oxide-Mediated Cerebral Blood Flow Increase: Implications For Alzheimer's Disease. *Journal Of Pharmacological Sciences*. 2016; 131(4): 223-232.
- World Health Organization. 2016. Global Action Plan On The Public Health Response To Dementia 2017–2025.
- Xue M, Zhu L, Zhang J, Qiu J, Du G, Qiao Z, Zhang Q. Low Dose Nicotine Attenuates A β Neurotoxicity Through Activation Early Growth Response Gene 1 Pathway. *Plos One*. 2015; 10(3).