

PERUBAHAN JUMLAH SEL GOBLET PADA CAVUM NASI TIKUS WISTAR JANTAN AKIBAT ROKOK ELEKTRIK

Azka Nadya Mifta ¹, Hudi Winarso ², Etha Rambung ², Priangga Adi Wiratama ³

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

²Fakultas Kedokteran, Universitas Ciputra, Kota Surabaya, Provinsi Jawa Timur

³Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Kota Surabaya, Provinsi Jawa Timur

Korespondensi etha.rambung@ciputra.ac.id, Telp/HP 081343717753

Naskah Masuk : 10 Juli 2020 Revisi : 08 Oktober 2020 Layak Terbit : 19 Juli 2021

Abstrak

Nikotin, karbonil, TSNA (*Tobacco-Spesific Nitrosamine*), dan metal adalah beberapa zat yang terkandung dalam asap rokok elektrik. Zat-zat ini dapat menyebabkan hiperplasia, metaplasia, apoptosis sampai nekrosis sel. Penelitian eksperimental *post-test only control design* ini mengamati perubahan jumlah sel goblet pada mukosa respiratori *cavum nasi* tikus wistar jantan setelah pemaparan asap rokok elektrik dengan dosis bervariasi. Penelitian menggunakan 40 ekor tikus wistar jantan berusia 2-2,5 bulan dan berat antara 250-300 gram yang terbagi dalam empat kelompok yakni kelompok K- (kontrol negatif) tidak dipapari asap dan tidak dimasukkan ke dalam *smoking chamber*, kelompok K+ (kontrol positif) tidak dipapari asap tetapi dimasukkan ke *smoking chamber*, kelompok P1 diberikan paparan 15 kali/hari dan kelompok P2 diberikan paparan 30 kali/hari. Paparan asap diberikan selama 54 hari. Tikus di *euthanasia* hari ke-55, dan diambil sampel *cavum nasi* kemudian diproses menjadi sediaan histopatologi. Analisis menggunakan uji *One Way ANOVA* untuk menghitung perubahan jumlah sel goblet. Hasil yang diperoleh selanjutnya dianalisa dengan uji *Tukey HSD*. Hasil yang diperoleh menunjukkan perbedaan jumlah sel goblet yang bermakna ($p < 0.000$ dan 0.004) antara kelompok tikus yang dipapari dengan kelompok yang tidak dipapari asap rokok. Kesimpulan penelitian adalah terjadi penurunan jumlah sel goblet akibat paparan asap rokok elektrik.

Kata kunci: Rokok elektrik, sel goblet, mukosa respiratori

Abstract

Nicotine, carbonyl, TSNA (Tobacco-Specific Nitrosamine), and metals are some of the substances contained in e-cigarette smoke. These substances can cause hyperplasia, metaplasia, apoptosis to cell necrosis. This post-test only control design experimental study observed changes in the number of goblet cells in the respiratory mucosa of the nasal cavity of male wistar rats after exposure to various doses of e-cigarette smoke. The study used 40 male wistar rats aged 2-2.5 months and weighing between 250-300 grams which were divided into four groups, group K- (negative control) not exposed to smoke and not put into the smoking chamber, group K+ (positive control) were not exposed to smoke but were put into a smoking chamber, group P1 was exposed to 15 times/day and group P2 was exposed to 30 times/day. Smoke exposure was given for 54 days. Rats were euthanized on the 55th day, and samples of the nasal cavity were taken and then processed into histopathological preparations. The analysis used the One Way ANOVA test to calculate the change in the number of goblet cells. The results obtained were then analyzed by the Tukey HSD test. The results obtained showed a significant difference in the number of goblet cells (p 0.000 and 0.004) between the group of rats exposed to cigarette smoke and the group that was not exposed to cigarette smoke. The conclusion of the study was that there was a decrease in the number of goblet cells due to exposure to e-cigarette smoke.

Keyword: *Electric cigarette, goblet cell, respiratory mucosa*

PENDAHULUAN

Masalah rokok hingga saat ini belum dapat diselesaikan, meskipun sudah banyak publikasi dampak dan bahaya merokok yang dilakukan. Merokok sangat berbahaya bagi kesehatan bahkan bagi perokok pasif (Jufri, 2012). Bahkan disebutkan bahwa rokok akan membunuh lebih dari satu miliar orang pada akhir abad ini jika tidak segera dilakukan upaya penanggulangan. Hal ini mendorong dibentuknya WHO *Framework Convention of Tobacco Control* (WHO-FCTC) oleh WHO. Upaya yang dilakukan WHO-FCTC diantaranya adalah

menggunakan *Nicotine Replacement Therapy* (NRT) (WHO, 2009).

Awalnya produk rokok elektrik disebut aman terhadap kesehatan (Trtchounian et al, 2010). Namun pada tahun 2009 terbukti bahwa terdapat zat toksik *Tobacco Spesific Nitrosamine* (TSNA) dan zat karsinogen *Diethylene Glycol* (DEG) di dalam rokok elektrik (FDA, 2009). Selain itu ditemukan pula zat-zat beracun seperti nitrosamin, logam beracun (cadmium, nikel, dan timbal), dan zat karsinogenik seperti karbonil (formaldehid, asetaldehid, akrolein)

di dalam cairan rokok elektrik (Schaller *et al*, 2013).

Belum ada pengaturan dan monitoring terkait produk rokok elektrik. Hal ini menyebabkan zat yang dikandung tiap merek rokok elektrik sangat bervariasi (Bam *et al*, 2014).

Sebagian besar efek rokok elektrik berpusat pada sistem pernapasan. Sistem pernapasan merupakan sistem utama yang terpapar uap dari rokok elektrik, Studi klinis dan hewan menunjukkan bahwa penggunaan rokok elektrik baik aktif maupun pasif menyebabkan iritasi pada saluran pernapasan (Qasim *et al*, 2017),

Sel goblet terletak di epitel saluran penghantar udara. Permukaan apikal sel goblet seringkali menonjol ke dalam lumen, sehingga dapat berespons cepat terhadap gangguan saluran napas. Sel goblet bersama dengan kelenjar submucosa mensekresi mukus glikoprotein (musin) dengan berat molekul tinggi. Musin memiliki sifat biokimia dan biofisika yang diperlukan pada cairan permukaan saluran napas. Sifat ini menentukan efisiensi pengikatan dan pengangkutan iritan, partikel, dan mikroorganisme yang dihirup. Keragaman glikosilasi musin saluran napas mungkin penting untuk perlekatan mikroorganisme pada lendir sebelum pembersihan mukosiliar. Sel goblet juga memproduksi produk sekretori lainnya, termasuk lipid dan glikoprotein "kecil" (Rogers, 1994).

Penelitian ini bertujuan untuk meneliti perubahan jumlah sel goblet mukosa respiratori *cavum nasi* tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) akibat paparan asap rokok elektrik.

METODE

Penelitian eksperimental murni ini menggunakan metode *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Kelayakan etik penelitian ini berdasarkan surat Keterangan Kelaikan Etik No. 017/EC/KEPK-FKUC/VI/2019.

Penelitian dilakukan pada bulan Juni-September 2019. Pemberian perlakuan dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga (FKUA) Surabaya. Pembuatan sediaan histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FKUA Surabaya.

Penelitian menggunakan populasi dan sampel tikus Wistar jantan. Tikus yang digunakan berusia 2-2,5 bulan dan berat 150-250 gram. Besar sampel berjumlah 40 ekor. Bahan lain yang digunakan adalah larutan nikotin rokok elektrik yang mengandung 3 mg nikotin dengan kadar PG/VG: 30/70, ketamin HCl injeksi untuk anestesi, bahan pembuatan sediaan histopatologis, dan bahan pemeliharaan tikus. Alat yang digunakan adalah *smoking chamber*, rokok elektrik, pot urine untuk sampel, dan mikroskop cahaya.

Sebelum memulai penelitian dilakukan adaptasi hewan coba selama tujuh hari di Lab. Biokimia

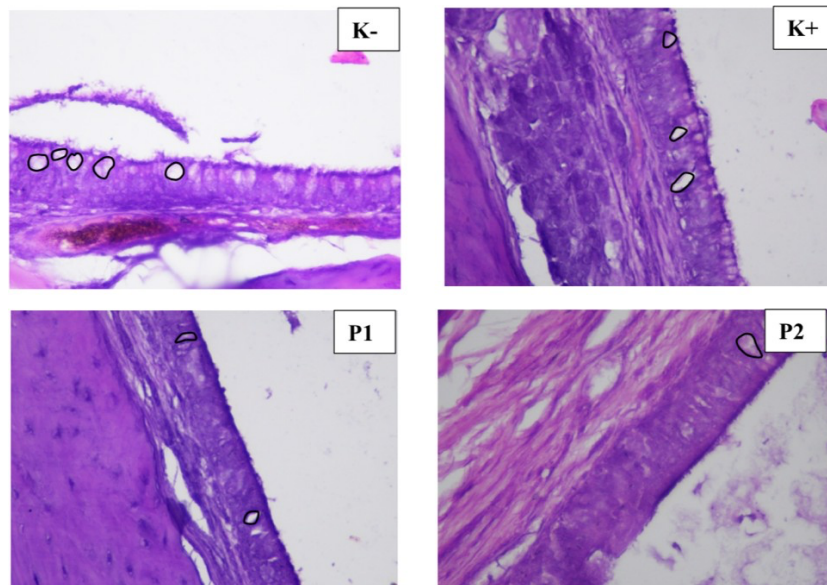
FKUA. Setelah itu hewan coba di bagi dalam empat kelompok yaitu kelompok K- (tidak diberikan paparan dan tidak dimasukkan *smoking chamber*), kelompok K+ (dimasukkan ke dalam *smoking chamber* tanpa pemberian asap rokok elektrik), kelompok P1 (dipapari asap rokok elektrik 15 kali/hari), dan kelompok P2 (dipapari asap rokok elektrik 30 kali/hari). Pemaparan asap rokok elektrik dilakukan di dalam *smoking chamber* dengan cara menekan *firing button* pada perangkat rokok elektrik selama dua detik dengan interval 30 detik setiap penekanan. Setelah diberi paparan asap rokok elektrik, masing-masing kelompok dibiarkan dalam *smoking chamber* selama 5 menit. Proses pemaparan asap rokok elektrik berlangsung selama 54 hari. Pada hari ke-55, tikus diterminasi. Tikus diberi ketamin HCl 30 mg/kgBB secara *intramuscular* pada muskulus kuadriseps kanan. Kepala tikus kemudian dibedah untuk mengambil sampel *cavum nasi*. Sampel kemudian di proses dekalsifikasi dan selanjutnya dilakukan pembuatan sediaan histopatologis. Sel goblet diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Perhitungan sel goblet pada tiap preparat dilakukan dengan mengambil 10 lapang pandang secara acak, dengan luas $4 \times 2 \mu\text{m}$. Data yang dikumpulkan diuji menggunakan uji normalitas dan uji

homogenitas. Kemudian analisa data dilanjutkan menggunakan uji *One Way ANOVA*.

HASIL

Pengamatan dengan mikroskop menunjukkan perbedaan jumlah sel goblet pada setiap kelompok hewan coba (Gambar 1). Rerata dan standar deviasi data hasil penelitian seperti ditunjukkan dalam tabel 1.

Uji *Shapiro-wilk* yang dilakukan menunjukkan data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Sesudah itu dilakukan uji *Levene* dan ditemukan bahwa data bersifat homogen ($p < 0,05$). Dengan data yang terdistribusi normal dan bersumber dari populasi yang homogen, kemudian dilakukan uji parametrik untuk mengetahui perbedaan antar kelompok penelitian menggunakan uji *one way ANOVA*. Hasil uji *one way ANOVA* ditemukan $p < 0,05$ yang berarti data antar kelompok memiliki perbedaan bermakna dalam statistika. Kemudian untuk mengetahui letak perbedaan antar kelompok, dilakukan uji *Tukey HSD* (Tabel 2). Hasil uji menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok yang dipapari dan tidak dipapari asap rokok elektrik ($p < 0,05$), tetapi tidak ditemukan perbedaan bermakna antara kelompok yang dipapari 15 kali/hari dengan 30 kali/hari.



Gambar 1. Gambaran histopatologis sel goblet (dilingkari hitam) mukosa respiratori *cavum nasi* pada kelompok K-, K+, P1 dan P2

Tabel 1. Data deskriptif rerata dan simpang baku tiap kelompok

Descriptives								
Jumlah Sel Goblet								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean			
					Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
Kontrol -	6	11,867	1,4180	,5789	10,379	13,355	9,4	13,6
Kontrol +	6	10,867	,7967	,3252	10,031	11,703	10,0	12,2
Perlakuan 15 Kali Paparan	6	8,733	,3502	,1430	8,366	9,101	8,4	9,4
Perlakuan 30 Kali Paparan	6	7,400	,8390	,3425	6,519	8,281	6,0	8,4
Total	24	9,717	1,9895	,4061	8,877	10,557	6,0	13,6

Tabel 2. Hasil uji Tukey HSD

	K-	K+	P1	P2
K-	-	0,277	0,000*	0,000*
K+	0,277	-	0,004*	0,00*
P1	0,000*	0,004*	-	0,094
P2	0,000*	0,000*	0,094	-

*: terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan penurunan jumlah sel goblet akibat paparan asap rokok elektrik. Jumlah sel goblet menurun dengan pemberian 15 kali dan 30 kali per hari paparan asap rokok elektrik selama 54 hari. Hal ini mungkin karena rokok elektrik memiliki efek sitotoksik (Yu *et al*, 2015). Asap dan cairan rokok elektrik jika dipanaskan mengandung zat berbahaya seperti formaldehide, karbonil, karsinogen, dan asetaldehida (Kosmider *et al*, 2014). Formaldehida, dan asetaldehida merupakan agen perusak DNA, (Nakayama *et al*, 1985). Mekanisme induksi kerusakan rantai DNA oleh asap rokok elektrolit belum jelas, diduga terjadi akibat keterlibatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Yu *et al*, 2015).

Reactive Oxygen Species (ROS) yang dihasilkan asap rokok elektrik menyebabkan terjadinya respon inflamasi baik pada sel epitel manusia maupun hewan coba (Lerner *et al*, 2015). Selain itu pada penelitian yang dilakukan bersamaan dengan penelitian ini, menunjukkan bahwa rokok elektrik menyebabkan stress oksidatif pada hewan coba (Rambung, 2020).

Tubuh menghasilkan antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas ketika masuk ke dalam saluran napas. Ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh dapat mengakibatkan stres oksidatif pada sel yang dapat memicu terjadinya peroksidase lipid

(Virlando, 2018). Membran sel dapat rusak akibat terbentuknya rantai peroksida lipid yang makin panjang (Rajasekaran *et al*, 1995). Produksi radikal bebas di dalam sel baik in vivo atau in vitro yang melebihi batas normal dapat menyebabkan gangguan seluler dan metabolik. Perubahan struktur DNA dapat terjadi akibat posisi radikal bebas yang berdekatan dengan DNA. Hal ini akan menyebabkan mutasi atau sitotoksitas (Wulandari dkk, 2017).

Penelitian lain menunjukkan peningkatan jumlah sel goblet pada konka hidung akibat pemberian paparan propilen glikol enam jam/hari dalam lima hari/minggu dengan dosis 2,2 mg/L selama 13 minggu (Suber, 1989)

Hasil uji Tukey HSD pada penelitian ini menunjukkan tidak ditemukan perbedaan signifikan secara statistik antara kelompok yang dipapari asap elektrik 15 kali/hari dengan 30 kali/hari ($p > 0,05$). Hal ini mungkin disebabkan perbedaan dosis yang diberikan tidak cukup untuk menimbulkan perbedaan efek yang signifikan secara statistik.

KESIMPULAN

Paparan asap rokok elektrik menyebabkan penurunan jumlah sel goblet mukosa respiratori *cavum nasi*. Tidak ditemukan perbedaan signifikan secara statistik penurunan jumlah sel goblet antara kelompok yang dipapari dengan tidak dipapari rokok elektrik. Meskipun ditemukan perbedaan jumlah sel goblet antara kelompok yang diberikan paparan 15

kali/hari dengan 30 kali/hari secara deskriptif (rerata), tetapi perbedaan ini tidak signifikan secara statistik.

SARAN

Saran yang dapat diberikan:

1. Rokok elektrik terbukti dapat menimbulkan penurunan jumlah sel, karena itu pengguna rokok elektrik diharapkan untuk dapat berhenti merokok.
2. Hasil penelitian ini dapat menjadi acuan edukasi berhenti merokok yang dilakukan bagi masyarakat
3. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk melihat pengaruh terhadap perubahan histologis pada organ lain dan perubahan fungsi organ akibat paparan rokok elektrik atau pengaruh variasi kadar nikotin serta perbandingan komposisi VG (*vegetable glycerine*) dan PG (*propylene glycol*) dalam larutan rokok elektrik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas berkah dan rahmatNya, artikel ilmiah ini dapat selesai dengan baik. Ucapan terimakasih diberikan kepada Dr. dr. Hudi Winarso, M.Kes., Sp.And.(K) dan dr. Etha Rambung, M. Si., yang telah membimbing dalam melakukan penelitian ini, dr. Priangga Adi Wiratama, dr., Sp. PA., selaku *co-author* yang sudah mendampingi dalam melakukan analisa sediaan histopatologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Bam TS, Bellew W, Berezhnova I, Jackson-Morris A, Jones A, Latif E, Wisotzky M. Position statement on electronic cigarettes or electronic nicotine delivery systems (Official statement). *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2014; 18(1): 5-7.
- Food and Drug Administration. 2009 *Summary of results: laboratory analysis of electronic cigarettes conducted by FDA*. <http://www.fda.gov/newsevents/publichealthfocus/ucm173146.htm>.
- Jufri S. 2012. *Pigmentasi Mukosa Bibir Pada Perokok dan Penyebabnya*. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Makassar: UNHAS.
- Kosmider L, Sobczak A, Fik M, Knysak J, Zaciera M, Kurek J, et al. Carbonyl compounds in electronic cigarette vapors: effects of nicotine solvent and battery output voltage. *Nicot Tob Res*. 2014;16(10):1319–26.
- Lerner CA, Sundar IK, Yao H, Gerloff J, Ossip DJ, McIntosh S, Rahman I. Vapors produced by electronic cigarettes and e-juices with flavorings induce toxicity, oxidative stress, and inflammatory response in lung epithelial cells and in mouse lung. *PLOS ONE*. 2015; 10(2): e0116732. doi:10.1371/journal.pone.0116732.
- Nakayama T, Kaneko M, Kodama M, et al. Cigarette smoke induces DNA single-strand breaks in human cells. *Nature*. 1985; 314: 462–464. <https://doi.org/10.1038/314462a0>
- Rambung E. Electric cigarette's effect to the MDA levels in blood of wistar rat. *Human care journal*. 2020; 5(1): 233-241.
- Rajasekaran M, Hellstrom WJ, Naz RK, Sikka SC. Oxidative stress and interleukins in seminal plasma during leukocytospermia. *Fertility and Sterility*. 1995; 64(1): 166-171. doi:10.1016/s0015-0282(16)57674-2.

- Qasim H, Karim ZA, Rivera JO, Khasawneh FT, Alshbool FZ. Impact of electronic cigarettes on the cardiovascular system. *JAHA*. 2017; 6(9).
- Rogers DF. Airway Goblet Cells: responsive and adaptable front-line defenders. *Europ Respiratory J*. 1994; 7(9): 1960-706.
- Schaller K, Ruppert L, Kahnert S, Bethke C, Nair U, Pötschke-Langer M. 2013. *Electronic Cigarettes—An Overview*. Vol. 19. Heidelberg: German Cancer Research Center.
- Suber R, Deskin R, Nikiforov I, Fouillet X, Coggins C. Subchronic nose-only inhalation study of propylene glycol in Sprague-Dawley rats. *Food and Chemical Toxicology*. 1989; 27(9): 573-583. doi:10.1016/0278-6915(89)90016-1
- Trtchounian A, Williams M, Talbot P. Conventional and electronic cigarettes (e-cigarettes) have different smoking characteristics. *Nicotine & Tobacco Research*. 2010; 12(9): 905-912. doi:10.1093/ntr/ntq114
- Virlando R. Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Proses Inflamasi pada Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK). *Amerta Nutrition*. 2018; 2(4).
- WHO (World Health Organization). 2009. *Report on the global tobacco epidemic*.
- Wulandari LP, Santoso B, Purwanto B. Kadar Malondialdehid tikus model Sindroma Ovarium Polikistik dengan daun kelor (*moringa oleifera*). *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 2017; 19(3): 224-236.
- Yu V, Rahimy M, Korrapati A, Xuan Y, Zou AE, Krishnan AR, Tsui T, Aguilera JA, Advani S, Alexander LEC, Brumund KT, Rodriguez JW, Ongkeko WM. Electronic cigarettes induce DNA strand breaks and cell death independently of nicotine in cell lines. *Oral Oncology*. 2015; 52: 58-
- 65.<http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2015.10.018>