

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan uji bayi tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley* sebanyak 30 ekor yang mulai didedahkan dari usia delapan hari setelah kelahiran. Hewan uji dikelompokkan menjadi kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan gel (P1), dan spray (P2). Masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor hewan uji.

Pendedahan pewangi ruangan kelompok gel (P1) dan spray (P2), dilakukan selama 67 hari. Pada kelompok gel (P1), pewangi ruangan gel digantung pada tepi kandang perlakuan dengan dosis awal pendedahan selama 15 menit/sesi dan dilakukan 2x/hari (pagi dan sore). Pada kelompok spray (P2), diberikan dosis pewangi sebanyak 10x semprot di setiap awal sesi pendedahan. Dosis awal pendedahan pewangi spray, selama 15 menit/sesi dan dilakukan sebanyak 2x/hari (pagi dan sore). Baik pada kelompok gel (P1) maupun spray (P2), dosis pendedahan dinaikkan dengan menambahkan waktu pendedahan selama 15 menit/sesi. Penambahan dosis tersebut dilakukan setiap satu minggu sekali sampai mencapai dosis maksimum selama 4,5 jam/hari. Sementara itu, untuk kelompok kontrol tidak dilakukan perlakuan apapun.

Masing-masing kelompok dilakukan pembedahan dan pembuatan preparat histologi pulmo pada hari ke-68 dari awal pendedahan. Pembedahan diawali dengan penimbangan hewan uji sebagai parameter dari tingkat kesehatan hewan tersebut. Berat badan hewan uji sebelum dilakukan pembedahan berkisar antara

118-223 gram. Selanjutnya, dilakukan proses uji histopatologi dengan mengukur ketebalan septum interalveolaris, diameter alveolus, dan menghitung jumlah dari jenis-jenis sel radang pada alveolus. Sel radang yang diamati berupa sel limfosit, sel PMN (*polymorphonuclear*), sel plasma, eosinofil, dan histiosit (makrofag).

B. Hasil Penelitian

1. Perubahan Ketebalan Septum Interalveolaris

Pengamatan yang dilakukan pada kelompok kontrol menunjukkan gambaran histologi septum interalveolaris pulmo di setiap lapang pandangnya tipis, tidak terdapat kerusakan jaringan berupa fibrosis, dan sedikit infiltrasi sel radang. Kelompok yang didedahkan dengan pewangi ruangan gel (P1), memiliki gambaran histologi septum interalveolaris pulmo yang sangat tebal, dengan diikuti gambaran fibrosis jaringan, serta terdapat sel-sel radang dalam jumlah yang banyak. Kelompok yang didedahkan dengan pewangi ruangan spray (P2), mengalami penebalan septum interalveolaris, dengan fibrosis jaringan yang tidak merata, dan sel-sel radang dalam jumlah yang lebih sedikit dibanding kelompok gel.

Rata-rata ketebalan septum interalveolaris dalam mikrometer (μm) dari masing-masing kelompok tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata ketebalan septum interalveolaris

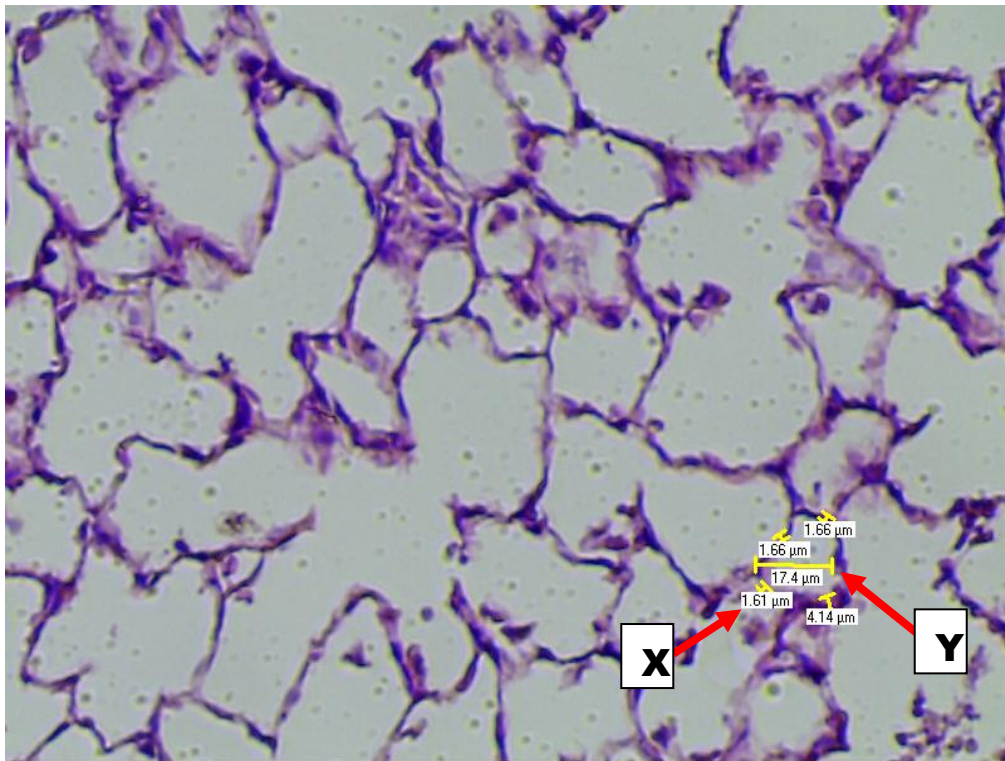
Kelompok	Rata-rata (μm) \pm Standar Deviasi
Kontrol (K)	1,4575 \pm 0,19688 ^a
Gel (P1)	8,5650 \pm 3,28987 ^b
Spray (P2)	2,9636 \pm 0,64212 ^c

a,b,c = menunjukkan perbedaan bermakna dengan uji statistik *Mann Whitney*, pada tingkat kepercayaan 95%.

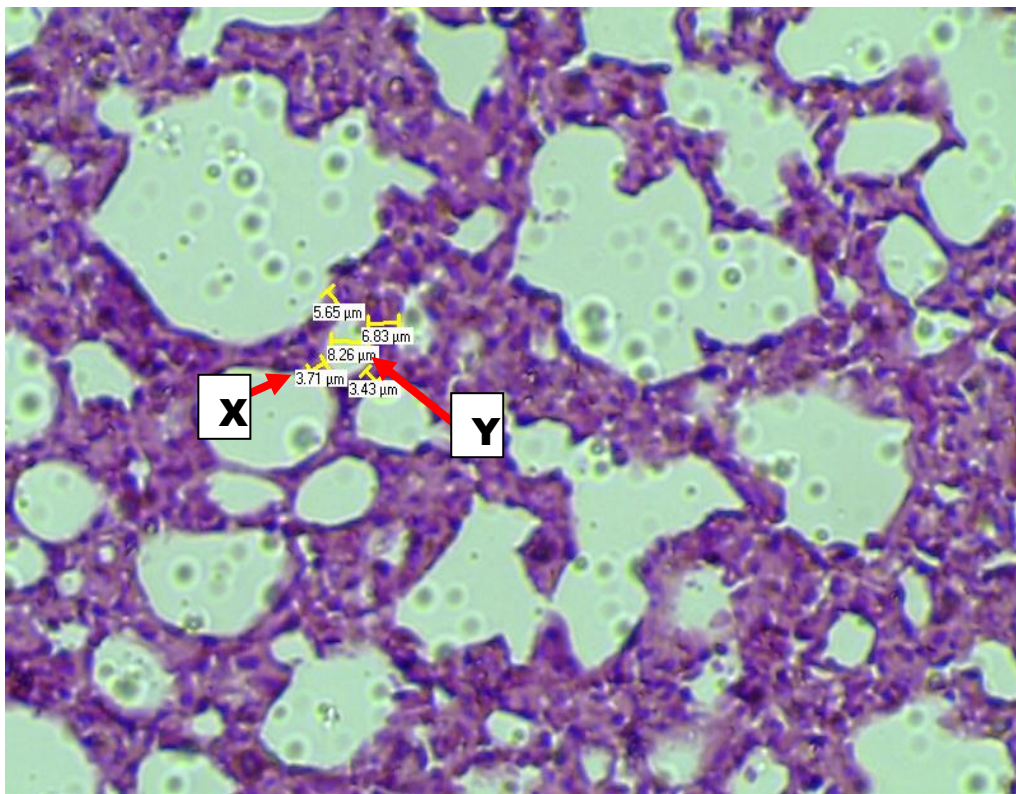
Tabel di atas menunjukkan bahwa kelompok kontrol (K) memiliki septum interalveolaris yang paling tipis, sedangkan yang paling tebal pada kelompok gel (P1). Selanjutnya dilakukan uji normalitas data dengan metode *Saphiro-Wilk*, yang menunjukkan bahwa kelompok gel (P1) memiliki nilai $p < 0,05$ sedangkan kelompok spray (P2) dan kontrol (K) memiliki nilai $p > 0,05$. Hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa data dari ketiga kelompok memiliki distribusi yang tidak normal. Ketidaknormalan distribusi ini dapat terjadi akibat variasi perbedaan nilai yang terlalu ekstrim.

Data ketebalan septum interalveolaris selanjutnya dianalisis dengan metode *Kruskal Wallis*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa $p = 0,00$ atau $p < 0,05$. Berdasarkan hasil pengujian tersebut, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan gambaran histologi yang bermakna minimal pada dua kelompok, dari kelompok kontrol (K), kelompok gel (P1) ataupun spray (P2).

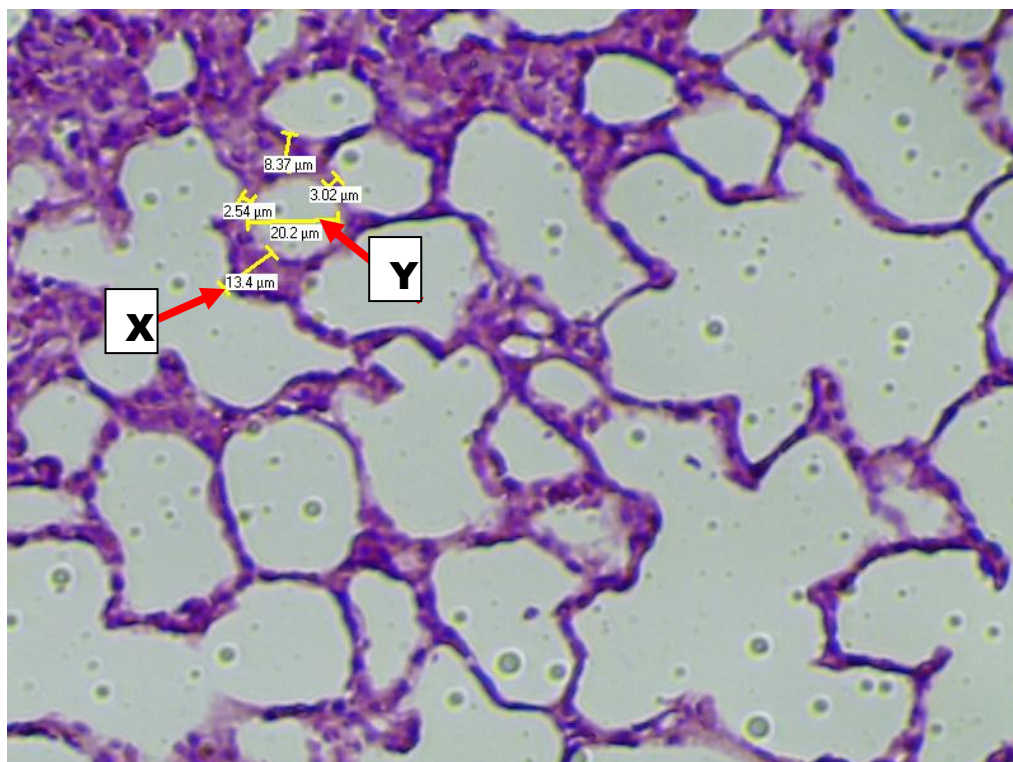
Kelompok-kelompok manakah yang memiliki perbedaan bermakna, ditentukan dengan uji *Mann Whitney*. Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan nilai $p = 0,00$ atau $p < 0,05$ pada semua perbandingan kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat ketebalan septum interalveolaris memiliki perbedaan yang bermakna baik antara kelompok kontrol (K) dengan gel (P1), kelompok kontrol (K) dengan spray (P2), maupun kelompok gel (P1) dengan spray (P2).



Gambar 7. Histologi alveolus kelompok kontrol (K) (HE, 10x10)



Gambar 8. Histologi alveolus kelompok gel (P1) (HE, 10x10)



Gambar 9. Histologi alveolus kelompok spray (P2) (HE, 10x10)

Keterangan : X = Nilai ketebalan septum interalveolaris (μm)
Y = Nilai diameter alveolus (μm)

2. Perubahan Diameter Alveolus

Berdasarkan pengamatan mikroskopik, diperoleh rata-rata diameter alveolus dalam mikrometer (μm), seperti yang tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata diameter alveolus

Kelompok	Rata-rata (μm) \pm Standar Deviasi
Kontrol (K)	15,4151 \pm 1,63238 ^a
Gel (P1)	10,1582 \pm 1,23627 ^b
Spray (P2)	17,3015 \pm 1,13648 ^c

a,b,c = menunjukkan perbedaan bermakna dengan uji statistik *Mann Whitney*, pada tingkat kepercayaan 95%.

Tabel di atas menunjukkan bahwa kelompok spray (P2) memiliki diameter alveolus terlebar, sedangkan kelompok gel (P1) memiliki diameter alveolus tersempit. Hasil uji normalitas data menggunakan metode *Saphiro-Wilk*, menunjukkan kelompok gel (P1) dan kontrol (K) memiliki nilai $p < 0,05$, sedangkan kelompok spray (P2) memiliki nilai $p > 0,05$. Dapat disimpulkan bahwa data diameter alveolus memiliki distribusi yang tidak normal. Ketidaknormalan distribusi ini dapat terjadi akibat variasi nilai yang terlalu ekstrim dari ketiga kelompok tersebut.

Analisis data dilanjutkan dengan metode *Kruskal Wallis*. Hasil analisis menunjukkan nilai $p = 0,00$ atau $p < 0,05$ yang membuktikan bahwa terdapat perbedaan gambaran histologi yang bermakna minimal pada dua kelompok, dari kelompok kontrol (K), kelompok gel (P1), ataupun kelompok spray (P2).

Uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa nilai $p < 0,05$ untuk semua perbandingan kelompok. Hasil pengujian tersebut membuktikan bahwa data nilai pengukuran diameter alveolus, memiliki perbedaan yang bermakna baik antara kelompok kontrol (K) dengan gel (P1), kelompok kontrol (K) dengan spray (P2), maupun kelompok gel (P1) dengan spray (P2).

3. Penghitungan Jumlah dari Jenis-Jenis Sel Radang

Hasil rata-rata jumlah dari jenis sel radang pada setiap kelompok percobaan, dapat diamati dalam Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata jumlah dari jenis-jenis sel radang

No	Sel Radang	Rata-rata Jumlah Sel \pm Standar Deviasi		
		Kontrol (K)	Gel (P1)	Spray (P2)
1	Limfosit	4.72 \pm 2,301 ^a	116.63 \pm 40,919 ^b	35.70 \pm 10,944 ^c
2	PMN	7.32 \pm 3,085 ^d	19.59 \pm 9,187 ^e	20.01 \pm 4,304 ^e
3	Plasma	2.66 \pm 0,883 ^f	14.82 \pm 7,421 ^g	5.19 \pm 2,114 ^h
4	Eosinofil	6.03 \pm 1,732 ⁱ	11.72 \pm 5,712 ^j	10.30 \pm 1,234 ^j
5	Histiosit	2.10 \pm 1,339 ^k	6.51 \pm 4,104 ^l	3.33 \pm 0,693 ^l

a-l = menunjukkan hasil uji beda dengan uji statistik *Mann Whitney*, pada tingkat kepercayaan 95%.

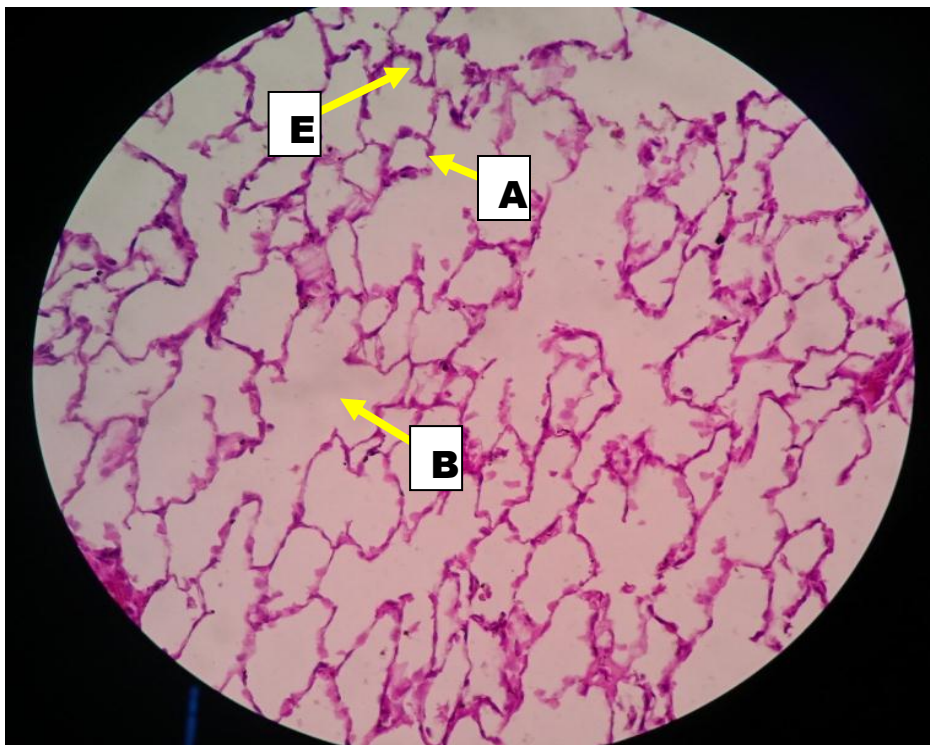
Tabel di atas menunjukkan bahwa kelompok gel (P1) didominasi oleh sel limfosit, diikuti dengan sel PMN, sel plasma, eosinofil, dan histiosit. Kelompok spray (P2) didominasi sel limfosit, diikuti sel PMN, eosinofil, sel plasma, dan histiosit. Sedangkan kelompok kontrol (K) didominasi sel PMN, diikuti eosinofil, limfosit, sel plasma, dan histiosit.

Hasil uji normalitas data dengan *Saphiro-Wilk*, menunjukkan bahwa kelompok kontrol (K) untuk sel PMN, eosinofil, dan histiosit memiliki nilai $p < 0,05$, dan $p > 0,05$ untuk kelompok lain. Hal tersebut menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal. Ketidaknormalan distribusi data ini, dapat terjadi akibat variasi perbedaan nilai yang terlalu ekstrim.

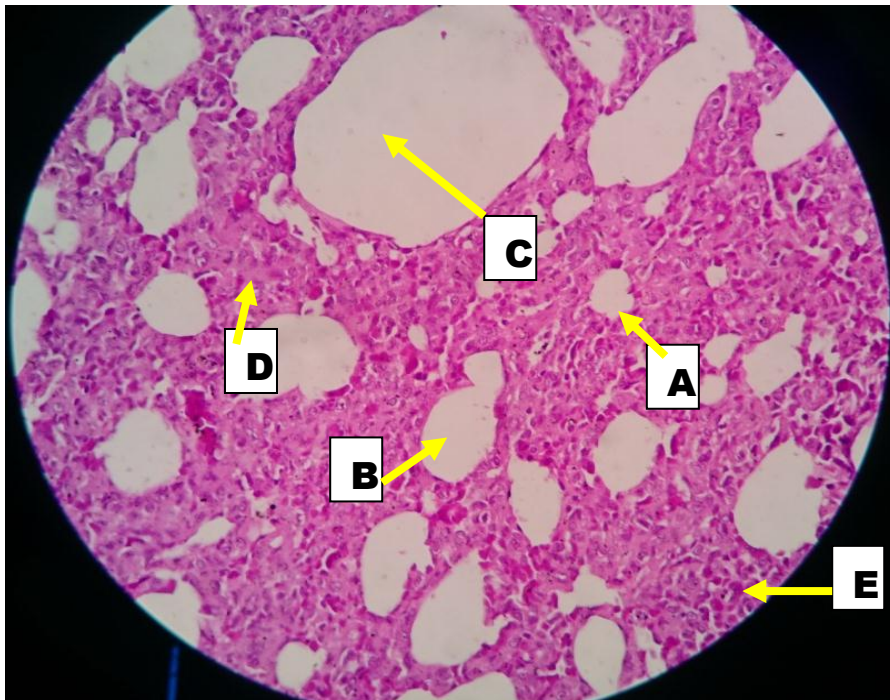
Analisis data dengan metode *Kruskal Wallis*, menunjukkan hasil $p < 0,05$ untuk semua jenis sel radang pada setiap kelompok percobaan. Hal tersebut membuktikan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara

jumlah masing-masing jenis sel radang, minimal pada dua kelompok, dari kelompok kontrol (K), gel (P1) ataupun spray (P2).

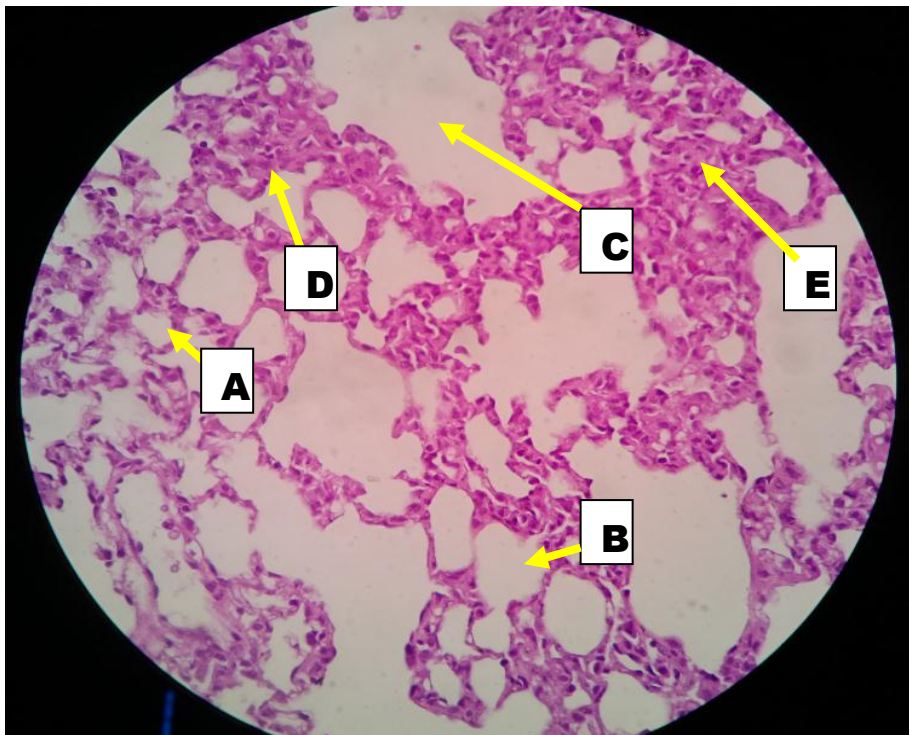
Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa terdapat tiga kelompok yang memiliki perbedaan tidak bermakna. Ketiga kelompok tersebut adalah kelompok perbandingan gel (P1) dan spray (P2) untuk jenis sel PMN, sel eosinofil, dan sel histiosit yang memiliki nilai $p > 0,05$.



Gambar 10. Histologi alveolus kelompok kontrol (K) (40x10)



Gambar 11. Histologi alveolus kelompok gel (P1) (HE, 40x10)



Gambar 12. Histologi alveolus kelompok spray (P2) (40x10)

Keterangan : A = alveolus B = alveoli C = gambaran emfisema
 D = jaringan fibrosis E = infiltrasi sel radang

C. Pembahasan

1. Perubahan Ketebalan Septum Interalveolaris

Hasil penelitian terhadap tingkat ketebalan septum interalveolaris menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol (K), gel (P1) maupun spray (P2). Perbedaan tersebut membuktikan adanya pengaruh pendedahan pewangi ruangan berbentuk gel maupun spray, terhadap penebalan septum interalveolaris bayi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Mekanisme penebalan septum interalveolaris kelompok perlakuan gel (P1) maupun spray (P2), terjadi akibat inflamasi yang menimbulkan efek edema pada jaringan di sekitar alveolus dan proses atelektasis pada alveolus pulmo. Namun, mekanisme inflamasi antara kelompok gel (P1) dan spray (P2) berbeda sesuai dengan bahan kimia yang terkandung di dalamnya.

Pewangi ruangan dalam bentuk gel, lebih banyak mengandung *formaldehde* daripada sediaan cair/spray (SCHER, 2006). Sistem pernapasan adalah target utama dari *formaldehde* yang terhirup (Mohamed, dkk., 2012). Proses penebalan septum interalveolaris pada kelompok gel (P1), disebabkan oleh pengaruh senyawa *formaldehde* tersebut.

Formaldehde memiliki sifat sitotoksik yang dapat bereaksi langsung pada jaringan pulmo, sehingga akan mempengaruhi fungsi alveolus. *Formaldehde* yang terhirup akan bekerja cepat merangsang saraf sensorik, sehingga melepaskan zat *tachykinin* yang merupakan mediator inflamasi. Zat tersebut menstimulasi reseptor *tachykinin* NK1 yang menyebabkan

peningkatan permeabilitas pembuluh darah, sehingga terjadi kebocoran mikrovaskuler di saluran pernapasan (Mohamed, dkk., 2012). Cairan kaya protein yang bocor, kemudian menuju jaringan ekstrasvaskular. Hilangnya cairan kaya protein akan menurunkan tekanan osmotik intravaskular, sehingga air dan ion akan mengalir ke jaringan ekstrasvaskular dan terjadi edema di jaringan sekitar daerah radang (Kumar, dkk., 2007). Edema tersebut mampu menyebabkan penebalan septum interalveolaris pulmo (Mohamed, dkk., 2012).

Formaldehyde juga dapat menyebabkan peradangan melalui jalur stres oksidatif dalam saluran pernapasan (Lino, dkk., 2011). Pendedahan *formaldehyde* terbukti dapat meningkatkan *Reactive Oxygen Substance* (ROS) (Heryani, dkk., 2011). Pada keadaan normal, ROS akan terbentuk terus-menerus di dalam sel (Türkoğlu, 2010). Pada kadar yang rendah, ROS akan meningkatkan pengeluaran kemokin, sitokin, dan molekul adhesi sehingga memperkuat kaskade mediator peradangan (Kumar, dkk., 2007). ROS akan menjadi berbahaya ketika diproduksi dalam jumlah berlebih, seperti dalam kondisi inflamasi (Türkoğlu, 2010). Pada kadar yang tinggi, ROS bersifat toksik dan meningkatkan cedera jaringan (Kumar, dkk., 2007).

Reactive Oxygen Substance dapat menurunkan aktivitas enzim *superoxide dismutase* (SOD) yang merupakan *scavenger* utama radikal oksigen bebas (Heryani, dkk., 2011). Kondisi ini disebut sebagai stres oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan terganggunya keseimbangan fisiologis

antara enzim oksidan dan antioksidan dalam jaringan pulmo, sehingga memodulasi peradangan pulmo (Lino, dkk., 2011).

Berbeda dengan proses edema kelompok gel (P1), pada kelompok spray (P2) edema disebabkan oleh senyawa kimia *diethyl phthalate* yang banyak ditemukan dalam pewangi ruangan cair/spray (SCHER, 2006). *Di-(2-ethylhexyl) phthalate* (DEHP) adalah senyawa turunan ftalat yang berperan dalam inflamasi pulmo (Abdel, 2013). Senyawa DEHP yang terhirup akan dimetabolisme dengan pembelahan hidrolitik oleh enzim lipase dari makrofag alveolar pulmo (Kocbach, 2013). Makrofag alveolar pulmo adalah mekanisme perlindungan terhadap sistem pernapasan. Apabila mekanisme tersebut gagal, zat kimia akan mengendap di pulmo (WHO, 2006).

Senyawa DEHP yang mengendap di pulmo dapat bertindak sebagai agonis parsial terhadap *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ* (PPAR γ) yang banyak terdapat dalam sel pneumosit tipe II. PPAR γ adalah reseptor nuklir yang berperan dalam proses anti inflamasi (Kocbach, 2013). Ketika DEHP bertindak sebagai agonis parsial, maka ia akan mengikat reseptor PPAR γ dan mencegah ikatan reseptor tersebut terhadap zat yang bersifat agonis penuh. Proses aktivasi parsial ini, akan membuat PPAR γ tidak dapat bekerja secara maksimal (Neal, 2005). Sehingga, akan terjadi inflamasi akibat peningkatan mediator inflamasi dan sel-sel radang (Kocbach, 2013).

Pada penelitian ini, proses penebalan septum interalveolaris tidak hanya dipengaruhi oleh edema akibat inflamasi, namun juga dipengaruhi oleh proses atelektasis. Atelektasis adalah pengembangan paru yang tidak

sempurna yang menunjukkan adanya kondisi alveolus yang tidak berisi udara atau kolaps. Alveolus yang sukar mengembang, dapat disebabkan oleh tekanan ekstrinsik paru yang meningkat sehingga mendorong udara keluar dari alveolus. Tekanan ekstrinsik tersebut dapat diperantarai oleh adanya jaringan parut (fibrosis) pada septum interalveolaris (Price & Wilson, 2005). Proses fibrosis dapat merusak serat retikulin dan elastin penyusun septum interalveolaris pulmo. Adanya serat elastin memungkinkan alveolus mengembang saat inspirasi (Junquiera & Carneiro, 2009). Kerusakan pada serat elastin menyebabkan alveolus sukar mengembang dan kolaps. Akibat dari kolapsnya alveolus, septum interalveolaris yang berdekatan akan menyatu, dan menimbulkan gambaran septum interalveolaris yang menebal.

Sesuai dengan hipotesis yang ada, pada penelitian ini efek pendedahan pewangi ruangan gel terhadap ketebalan septum interalveolus lebih buruk daripada pewangi ruangan spray. Hal tersebut diperkuat dengan hasil uji yang menunjukkan bahwa kelompok gel dan spray memiliki perbedaan nilai yang bermakna. Namun, penelitian yang dilakukan Haryani (2012) memiliki hasil yang berbeda. Pada penelitian tersebut, tidak terdapat perbedaan bermakna dari nilai ketebalan septum interalveolaris antara kelompok gel dan spray. Kondisi ini disebabkan karena waktu percobaan dalam penelitian Haryani yang jauh lebih singkat yaitu selama 15 hari dan subjek penelitian tersebut sudah berusia dewasa saat pendedahan, sehingga pendedahan tidak menghasilkan efek perubahan yang bermakna.

Septum interalveolaris pada kelompok gel (P1) lebih tebal dibandingkan kelompok spray (P2). Hal tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor. Pertama, adanya perbedaan diameter partikel pewangi ruangan yang terhirup, akan mempengaruhi letak deposisi partikel tersebut di organ pernapasan. Partikel zat pewangi ruangan gel, memiliki diameter yang lebih kecil dan relatif lebih halus jika dibandingkan partikel pewangi ruangan spray. Semakin kecil diameter partikel pewangi ruangan, semakin mudah terdeposisi di saluran nafas bagian bawah (alveolus) (WHO, 2006).

Faktor kedua adalah besar molekul ftalat yang terhirup. Semakin besar ukuran molekul yang terhirup, maka semakin sedikit jumlah partikel ftalat yang berhasil mencapai alveolus (Kocbach, 2013). Senyawa DEHP adalah turunan ftalat yang banyak terdapat dalam pewangi ruangan spray (SCHER, 2006). DEHP merupakan molekul ftalat yang berukuran besar (Kocbach, 2013). Molekul DEHP yang berukuran besar ini, menurunkan jumlah partikel DEHP yang dapat terdeposisi di saluran nafas bagian bawah. Sehingga, efek DEHP terhadap penebalan septum interalveolaris pada kelompok spray (P2) lebih minimal.

Faktor yang ketiga, yaitu kecepatan efek toksikologi *formaldehde*. *Formaldehde* dalam pewangi ruangan gel, dapat memberikan kerusakan saluran pernafasan lebih cepat dibandingkan senyawa lain. Hal tersebut terbukti dari penelitian pendedahan *formaldehde* dalam waktu 30 menit, telah mampu mempengaruhi penurunan fungsi sistem respirasi (SCHER, 2006). *Formaldehde* memiliki angka toksikologi $0,013\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Freed, 2009).

Sehingga, walaupun terdapat kesamaan dalam durasi pendedahan pewangi ruangan, namun septum interalveolaris pada kelompok gel (P1) akan lebih tebal daripada kelompok spray (P2).

Faktor yang terakhir adalah luasnya jaringan fibrosis. Pada penelitian ini, kelompok gel (P1) memiliki jaringan fibrosis lebih luas jika dibandingkan dengan kelompok spray (P2). Semakin luas daerah fibrosis, maka semakin banyak alveolus yang mengalami atelektasis. Semakin banyak alveolus yang mengalami atelektasis, semakin banyak pula proses penyatuan septum interalveolaris yang berdekatan, sehingga menimbulkan gambaran septum interalveolaris yang menebal.

Berdasarkan hasil pengukuran kadar *formaldehyde* dengan metode spektrofotometri UV-vis yang telah dilakukan oleh LPPT (Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu) UGM, pewangi ruangan gel yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kadar *formaldehyde* sebanyak 0,33 ppm. Ketika kadar *formaldehyde* di udara lebih dari 0,1 ppm, maka akan menimbulkan efek samping seperti batuk dan sesak nafas (Pratiwi, 2010).

Satu buah pewangi ruangan gel, rata-rata akan habis dalam waktu 30 hari. Sehingga dalam penelitian ini dibutuhkan dua buah pewangi ruangan gel, yang digunakan dalam pendedahan selama 67 hari. Apabila digunakan dalam kehidupan sehari-hari, penggunaan dua buah pewangi ruangan gel yang rata-rata habis dalam waktu 60 hari ini, setara dengan pemakaian pewangi selama 1.440 jam. Sedangkan dalam penelitian ini, hewan uji didedahkan selama 67 hari, dengan dosis awal pendedahan selama 15

menit/sesi, 2x/hari (pagi dan sore). Dosis dinaikkan dengan menambahkan waktu pendedahan selama 15 menit/sesi. Penambahan dosis dilakukan setiap satu minggu sekali sampai mencapai dosis maksimum selama 4,5 jam/hari. Sehingga dalam waktu 67 hari, hewan uji mendapatkan pendedahan dengan pewangi ruangan gel selama 175,5 jam.

Dapat disimpulkan bahwa dengan dosis pendedahan pewangi ruangan gel dalam penelitian ini, yang relatif lebih singkat (175,5 jam) dibandingkan penggunaan manusia pada umumnya (1.440 jam), telah mampu menimbulkan gambaran patologis pada alveolus hewan uji. Sehingga, kiranya konsumen dapat memberikan perhatian lebih terhadap hal ini, agar menjadi lebih bijak dalam menggunakan pewangi ruangan di kehidupan sehari-hari.

2. Perubahan Diameter Alveolus

Hasil penelitian membuktikan adanya pengaruh pendedahan pewangi ruangan berbentuk gel maupun spray, terhadap perubahan ukuran diameter alveolus bayi tikus putih (*Rattus norvegicus*). Rata-rata diameter alveolus kelompok spray > kelompok kontrol > kelompok gel.

Kelompok pendedahan gel (P1), memiliki ukuran diameter alveolus yang terkecil jika dibandingkan dengan kelompok lain. Hal tersebut sesuai dengan hipotesis yang ada. Perubahan ukuran diameter alveolus pada kelompok gel, tidak akan lepas dari mekanisme edema dan atelektasis.

Formaldehyde dalam pewangi ruangan gel akan menyebabkan proses inflamasi dan edema, sedangkan proses fibrosis jaringan akan menyebabkan atelektasis. Kedua proses tersebut akan memacu penebalan

septum interalveolaris. Septum interalveolaris adalah dinding yang terletak diantara dua alveolus (Junquiera & Carneiro, 2009). Adanya penebalan septum interalveolaris akan mengkompresi ukuran alveolus (Mohamed, dkk., 2012). Hal tersebut membuat ukuran diameter alveolus menjadi semakin sempit. Sesuai dengan teori di atas, karena septum interalveolaris pada kelompok gel (P1) memiliki ukuran yang paling tebal, maka kelompok gel memiliki diameter alveolus yang paling sempit dibandingkan kelompok lain.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa diameter alveolus pada kelompok spray (P2), memiliki ukuran yang paling lebar dibandingkan kelompok lain. Hal ini tidak sesuai dengan hipotesis yang ada. Jika hasil penelitian sesuai dengan hipotesis, seharusnya kelompok kontrol (K) memiliki diameter yang paling lebar karena tidak mendapat perlakuan apapun, sehingga tidak terjadi penebalan septum interalveolaris.

Diameter alveolus kelompok spray, memiliki ukuran terlebar karena adanya paparan senyawa ftalat yang terkandung dalam pewangi ruangan spray. Senyawa *di-(2-ethylhexyl) phthalate* (DEHP) dapat menyebabkan inflamasi pada alveolus pulmo akibat stres oksidatif (Abdel, 2013). Pendedahan senyawa ftalat dapat memacu peningkatan produksi radikal bebas yang disebut ROS (You, dkk., 2013).

Reactive Oxygen Substance (ROS) dapat merusak DNA, protein, dan lipid penyusun membrane sel (Heryani, dkk., 2011). Proses perusakan protein tersebut terjadi melalui peningkatan oksidasi protein yang akan meningkatkan aktivitas enzim proteolisis dan menghambat enzim

antiproteolisis (Rahimah, dkk., 2010). Ketidakseimbangan antara enzim antiproteolisis (alfa 1-antitripsin) dengan enzim proteolisis (elastase), akan memacu degradasi proteolitik elastin oleh elastase. Degradasi ini akan menurunkan kualitas dan kuantitas elastin (Anindyajati, 2007).

Serat elastin dibentuk oleh komponen elastin yang berfungsi untuk mengatur elastisitas pulmo, dan retikulin yang berfungsi untuk mencegah pengembangan berlebihan dan kerusakan alveolus. Serat elastin dan retikulin akan membentuk jala yang membatasi dua alveolus yang disebut septum interalveolaris (Anindyajati, 2007). Akibat dari menurunnya kualitas dan kuantitas elastin, maka septum interalveolaris yang terbentuk juga semakin sedikit. Pada masa awal perkembangan pulmo pada bayi, ditandai dengan pembentukan septum interalveolaris (Rahayu, 2008). Pada penelitian ini, pembentukan septum interalveolaris pada masa awal perkembangan pulmo tikus *Rattus norvegicus*, terganggu akibat pendedahan DEHP dalam pewangi ruangan spray. Hal tersebut merupakan jawaban, mengapa diameter alveolus kelompok spray (P2) lebih lebar dibandingkan kelompok lain.

Rahimah (2010), mengungkapkan bahwa stres oksidatif akibat pendedahan asap rokok akan menyebabkan peningkatan reaksi oksidasi protein yang menghambat enzim antiproteolisis dan memacu aktivitas enzim proteolisis. Hal tersebut akan membuat alveolus kehilangan integritas dan elastisitasnya. Walaupun bahan pendedahan yang digunakan dalam penelitian Rahimah berbeda dengan penelitian ini, namun terdapat kesamaan mekanisme kerusakan alveolus sebagai efek dari pendedahan tersebut. Hal ini

memperkuat teori bahwa zat kimia dalam pewangi ruangan sama bahayanya dengan asap rokok (De Vader & Barker, 2009).

3. Penghitungan Jumlah dari Jenis-Jenis Sel Radang

a. Inflamasi

Adanya stimulus eksogen dan endogen yang sama terus-menerus dalam jangka waktu tertentu, akan menyebabkan jejas sel sehingga menimbulkan reaksi kompleks yang disebut inflamasi atau peradangan (Kumar, dkk., 2007). Proses inflamasi dapat terbagi menjadi inflamasi akut dan kronis. Dominasi sel leukosit PMN (*polymorphonuclear*)/sel neutrofil dan sel eosinofil, sering ditemukan dalam mekanisme inflamasi akut. Sedangkan sel limfosit, histiosit (makrofag), dan sel plasma, khas terdapat pada inflamasi kronis (Kumar, dkk., 2007).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada kelompok gel (P1) dan spray (P2), didominasi oleh sel-sel radang kronis. Sedangkan sel radang akut, nampak mendominasi kelompok kontrol (K). Hasil penelitian pada kelompok kontrol, tidak sesuai dengan hipotesis yang ada. Jika sesuai dengan hipotesis, seharusnya kelompok kontrol tidak mengalami peradangan. Peradangan akut pada kelompok kontrol, dapat disebabkan oleh inhalasi zat amoniak yang terdapat di dalam urin hewan uji dan bukan disebabkan oleh pendedahan pewangi ruangan.

Selama proses penelitian, hewan uji diletakkan di dalam kotak pemeliharaan yang diberi sekam padi di dalamnya. Dalam penelitian ini, sekam padi diganti 1-2 kali dalam seminggu. Setiap harinya, hewan uji di

dalam kotak pemeliharaan mengeluarkan kotoran baik dalam bentuk urin maupun feses yang akhirnya bercampur dengan sekam padi tersebut. Proses penggantian sekam dan pembersihan kotak pemeliharaan yang tidak dilakukan setiap hari, meningkatkan kemungkinan terdeposisinya urin hewan uji yang mengandung amoniak dalam kotak pemeliharaan.

Amoniak (NH_3) adalah zat kimia dalam bentuk gas yang berbau khas dan tidak berwarna, yang merupakan bahan kimia korosif dan dapat menyebabkan iritasi pada saluran pernapasan. Cedera akibat zat amoniak paling sering disebabkan oleh proses inhalasi (Permata, 2011). Zat ini dapat merusak saluran pernapasan dalam bentuk cedera paru akut atau edema paru (Ali, dkk., 2010). Inflamasi akut adalah radang yang berlangsung singkat dari beberapa menit sampai hari dan ditandai eksudasi cairan, protein plasma, dan akumulasi neutrofil yang menonjol (Kumar, dkk., 2007).

Mekanisme cedera terjadi ketika gas amoniak bereaksi dengan cairan jaringan untuk membentuk solusi yang sangat basa, disebut amonium hidroksida. Amonium hidroksida dapat menyebabkan gangguan terutama pada saluran pernapasan bagian atas, dimana terdapat banyak cairan mukus dipermukaannya. Walaupun dalam taraf minimal, amoniak juga dapat merusak saluran nafas bagian bawah (Permata, 2011). Hal ini menjadi salah satu sebab mengapa pada kelompok kontrol hanya terjadi inflamasi akut yang ringan pada saluran nafas bawah (alveolus).

Pada awal kerusakan jaringan, leukosit (terutama neutrofil) akan mulai keluar dari aliran darah (marginasi), kemudian berguling (*rolling*) dan melakukan adhesi pada pembuluh darah. Leukosit kemudian bermigrasi ke sumber cedera yang melepaskan kemoatraktan (Kumar, dkk., 2007).

Berat ringannya cedera akibat amoniak dipengaruhi oleh lamanya terkena paparan, konsentrasi amoniak, dan faktor kerentanan individu terhadap efek dari amoniak (Permata, 2011). Jumlah dari jenis sel-sel radang <10 buah tiap lapang pandangnya tanpa adanya penebalan septum interalveolaris pada kelompok kontrol, menandakan adanya proses inflamasi akut yang ringan. Hal ini dapat disebabkan oleh mekanisme resolusi yang terjadi ketika kotak pemeliharaan dalam kondisi bersih. Proses resolusi ini terjadi pada kondisi cedera yang luasnya terbatas, berlangsung singkat, dengan kerusakan jaringan minimal, serta baiknya kemampuan dalam mengganti sel rusak. Proses ini meliputi pembuangan mediator inflamasi, normalitas vaskular, berhentinya emigrasi leukosit, dan apoptosis leukosit. Pada akhirnya, terjadi proses normalitas jaringan baik secara histologis maupun fungsional (Kumar, dkk., 2007).

Terdeposisinya urin hewan uji yang mengandung amoniak tidak hanya terdapat dalam kotak pemeliharaan kelompok kontrol (K), tetapi juga pada kelompok gel (P1) dan spray (P2). Namun, infiltrasi sel radang akut pada kelompok gel (P1) dan spray (P2) tidak hanya disebabkan oleh zat amoniak saja, melainkan juga karena adanya mekanisme radang kronik

eksaserbasi akut akibat pendedahan pewangi ruangan. Sehingga, jumlah sel radang akut kelompok perlakuan lebih banyak dan secara statistik memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol.

Berbeda dengan hasil penelitian ini, Haryani (2012) mengungkapkan bahwa dalam penelitiannya tidak ditemukan sel radang pada septum interalveolaris kelompok kontrol. Perbedaan hasil penelitian tersebut disebabkan karena proses pembersihan kotak perlakuan dalam penelitian milik Haryani, memiliki intensitas yang lebih sering dan lebih teratur dibandingkan penelitian ini.

Berbeda dengan kontrol, sesuai dengan hipotesis yang ada, kelompok gel (P1) dan spray (P2) didominasi oleh sel-sel radang kronis. Inflamasi kronis berlangsung dalam hitungan minggu, bulan, hingga tahun dan ditandai dengan infiltrasi sel mononuklear (sel limfosit, makrofag, dan sel plasma), destruksi jaringan yang diatur sel radang, dan perbaikan jaringan yang melibatkan neovaskularisasi dan fibrosis (Kumar, dkk., 2007).

Pada awal inflamasi kronis, sel radang yang dominan adalah sel makrofag. Makrofag akan berfungsi sebagai APC (*Antigen Presenting Cell*) dan mensekresikan IL-1 serta TNF untuk aktivasi limfosit. Limfosit teraktivasi akan mensekresikan IFN- γ yang dapat mengaktifkan monosit menjadi makrofag. Sel plasma, merupakan produk akhir aktivasi sel B yang berdiferensiasi dan menghasilkan antibodi (Kumar, dkk., 2007).

Sel histiosit (makrofag) pada radang kronis kelompok gel maupun spray pada penelitian ini, ternyata memiliki rata-rata jumlah yang paling sedikit jika dibandingkan dengan sel radang lain. Hal tersebut tidak sesuai dengan hipotesis yang ada. Kondisi tersebut terjadi akibat proses fiksasi organ dari hewan uji yang kurang sempurna. Proses fiksasi yang baik, seharusnya menggunakan larutan formalin buffer agar fungsi diferensiasi optik menjadi optimal. Namun, dalam penelitian ini organ hanya difiksasi dengan formalin 10%, sehingga meningkatkan kemungkinan adanya sel histiosit yang tidak terhitung karena kurang jelas terlihat. Selain itu, adanya pendedahan *formaldehyde* dan DEHP cenderung kurang mempengaruhi peningkatan proses fagositosis sehingga akan lebih mempengaruhi peningkatan jumlah limfosit dibandingkan jumlah makrofag.

Pada umumnya inflamasi kronik didominasi oleh sel limfosit, histiosit, dan sel plasma. Namun dalam penelitian ini, walaupun mengalami radang kronis, masih banyak infiltrat sel radang akut seperti PMN (neutrofil) dan eosinofil. Hal ini diakibatkan adanya agen cedera yang masih menetap, atau karena mediator yang dihasilkan oleh makrofag dan sel nekrotik. Kondisi ini disebut sebagai radang kronik eksaserbasi akut (Kumar, dkk., 2007).

Respon inflamasi dikatakan berakhir, apabila stimulus yang membahayakan dan mediator radang telah hilang dikatabolisme atau diinhibisi. Apabila respon tersebut masih berlangsung, maka akan terjadi

inflamasi kronis. Salah satu agen toksik yang sering menyebabkan inflamasi kronik adalah partikel silika yang merupakan material eksogen yang sulit didegradasi (Kumar, dkk., 2007).

Sebagian besar partikel silika yang terhirup akan ditangkap lapisan mukus, kemudian dikeluarkan oleh silia. Namun, partikel yang mengendap akan memacu makrofag untuk mengeluarkan faktor toksik bagi paru-paru seperti ROS dan nitrogen reaktif, yang dapat merusak jaringan. (Kumar, dkk., 2007).

Pneumokoniosis adalah penyakit paru non-neoplastik yang dipicu inhalasi partikel organik atau inorganik, dan dapat pula dari uap atau asap kimia. Silikosis adalah pneumokoniosis yang disebabkan oleh inhalasi partikel silika. Partikel silika dengan ukuran 1-5 μm , paling berbahaya karena dapat mengendap di saluran nafas distal. Partikel dengan diameter kurang dari 1 μm , sebagian besar lebih mudah untuk keluar masuk alveolus (Kumar, dkk., 2007).

Rata-rata jumlah sel radang kronis pada kelompok gel (P1) lebih banyak daripada kelompok spray (P2). Hal ini disebabkan karena pewangi ruangan gel, mengandung partikel silika dalam bentuk uap atau gas yang memiliki ukuran 7-14 nm (Irfan, dkk., 2014). Silika tersebut berfungsi sebagai zat aditif atau zat aktif. Zat aditif merupakan suatu zat yang memperkuat atau mempertahankan wangi yang ditimbulkan oleh pewangi ruangan. Silika atau silikon dioksida (SiO_2), merupakan hasil oksidasi dari silikon (Freed, 2009). Walaupun dari segi ukuran, silika dalam bentuk

uap/gas mudah keluar masuk alveolus, namun proses pendedahan yang berlangsung lama dapat mempengaruhi pengendapan silika di sekitar septum interalveolaris.

Pada kelompok spray (P2), terjadinya proses inflamasi kronis yang sama dengan kelompok gel (P1), hanya saja partikel yang mengendap adalah senyawa *Di-(2-ethylhexyl) phthalate* (DEHP). Efek radang kronis dari senyawa DEHP akan lebih ringan dibandingkan dengan silika, karena pada silika, seluruh partikel yang terhirup tidak dapat didegradasi dengan baik dan memicu radang kronis. Itulah sebabnya mengapa pada penelitian ini antara kelompok gel dan spray, memiliki perbedaan yang bermakna dari jumlah sel-sel radang kronis. Namun, karena adanya proses radang kronis eksaserbasi akut, tidak terdapat perbedaan bermakna antara sel radang akut pada kelompok gel dan spray.

b. Fibrosis

Gambaran dari septum interalveolaris menunjukkan adanya jaringan yang mengalami fibrosis. Munculnya fibrosis atau jaringan parut, memiliki hubungan dengan inflamasi kronis eksaserbasi akut. Inflamasi kronis yang didukung dengan luasnya jejas awal, proses jejas yang masih terus berlangsung akibat agen toksik yang tidak dapat didegradasi (menimbulkan radang kronis eksaserbasi akut), serta minimnya kemampuan jaringan yang terinfeksi untuk tumbuh kembali, dapat meningkatkan terbentuknya jaringan fibrosis (Kumar, dkk., 2007). Sementara itu, kelompok gel mengalami proses inflamasi kronis

eksaserbasi akut yang lebih berat jika dibandingkan dengan kelompok spray. Hal inilah kiranya yang dapat menjawab, mengapa gambaran fibrosis pada kelompok gel lebih luas daripada kelompok spray.

Menurut Kumar, dkk., (2007), pada saat terjadi proses inflamasi kronis, sel radang juga dapat menghasilkan mediator yang meningkatkan sintesis matriks ekstraseluler (ECM) yang baru. Matriks ekstraseluler (ECM) merupakan suatu kompleks makromolekul yang penting dalam penyusunan setiap jaringan.

Pada kelompok gel dan spray dalam penelitian ini, terjadi proses inflamasi kronis ekaserbasi akut. Agen toksik pewangi ruangan (*formaldehyde*, silika, dan DEHP) yang banyak terhirup selama 67 hari, akan meningkatkan produksi radikal bebas (ROS) sehingga memacu inflamasi kronis. Namun, akibat pendedahan yang terus-menerus dilakukan, agen toksik tersebut dapat memunculkan proses peradangan yang baru dan bersifat akut sehingga dapat merusak ECM yang baru saja terbentuk. Hal ini disebut sebagai proses radang kronik eksaserbasi akut. ECM dalam bentuk membrana basalis, berfungsi sebagai dasar untuk memperbaharui jaringan. Keutuhan membrana basalis pada jaringan yang mengalami cedera, sangat penting untuk regenerasi sel-sel jaringan. Jika membrana basalis rusak, maka proliferasi sel akan kacau sehingga menghasilkan jaringan yang tidak terorganisir dan nonfungsional seperti jaringan parut. Selain itu, adanya eksudat fibrinosa yang meluas (akibat peningkatan permeabilitas vaskular) tidak mampu diabsorpsi dengan baik

dan terjadi pertumbuhan ke dalam dari jaringan ikat yang menyebabkan fibrosis atau jaringan parut (Kumar, dkk., 2007).

Proses pembentukan jaringan parut diawali dengan terbentuknya pembuluh darah baru (neovaskularisasi) sebagai upaya penyembuhan jejas. Dua puluh empat jam kemudian, dimulai proses migrasi dan proliferasi fibroblas di lokasi jejas. Munculnya fibroblas dipengaruhi oleh sekresi faktor fibrogenik seperti IL-1, TNF, fibronektin, PDGF (*platelet derived growth factor*), IGF-1 (*insulin like growth factor-1*) yang dihasilkan oleh makrofag di lokasi jejas. Dalam tiga sampai lima hari kemudian, akan muncul jaringan granulasi yang ditandai proliferasi fibroblas dan kapiler baru pada matriks ekstraseluler (ECM). Jaringan granula akan mengumpulkan matriks jaringan ikat, hingga terbentuk fibrosis padat dalam bentuk jaringan parut (Kumar, dkk., 2007).

c. Emfisema

Penelitian ini juga menunjukkan proses emfisema yang ditandai dengan adanya gambaran alveoli yang berdilatasi. Alveoli adalah bentuk jamak dari alveolus. Emfisema adalah kondisi dimana terdapat udara yang berlebihan di dalam paru-paru akibat proses obstruktif dan dekstruktif paru. Hilangnya sebagian besar dinding alveolus akan menurunkan kapasitas difusi paru yang menyebabkan terjadi penurunan ekspirasi udara. Udara yang terperangkap di dalam alveolus akan menyebabkan beberapa alveolus yang berdekatan menyatu membentuk alveoli. Akibat tekanan

udara yang tinggi, alveoli akan sangat meregang dan membentuk kavum emfisema yang besar (Guyton & Hall, 2007).

Dalam penelitian ini, destruktif dinding alveolus dapat disebabkan oleh proses fibrosis. Proses fibrosis dapat merusak serat elastin dan retikulin penyusun septum interalveolaris. Adanya serat retikulin berfungsi sebagai pencegahan pengembangan alveolus yang berlebihan (Junquiera & Carneiro, 2009). Apabila serat retikulin mengalami kerusakan, maka alveolus pulmo akan cenderung meregang, melebar, penuh dengan udara, dan menjadi gambaran kavum emfisema yang besar.