

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Penelitian

Penelitian mengenai “Perbandingan Pengaruh Paparan Pengharum Ruangan Cair dan Gel terhadap Gambaran Histologi Mukosa Respiratorius Nasal {Studi *in vivo* pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)}” yang peneliti lakukan, sebelumnya telah melalui uji pra-penelitian. Uji pra-penelitian yang dilakukan menggunakan 3 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol, kelompok paparan pengharum ruangan cair, dan kelompok paparan pengharum ruangan gel. Tiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus putih dan masing-masing kelompok dimasukkan pada kandang berbeda dengan ukuran 40x40x40 cm. Pengharum ruangan dipaparkan selama 8 jam sehari selama 7 hari berturut-turut sambil diamati aktivitasnya. Pada hari ke-8, hewan uji didekapitasi dan dilakukan pengambilan organ. Jaringan nasal diambil pada perbatasan antara tulang rawan dengan tulang keras. Jaringan tersebut dibuat preparat kemudian diamati perubahan gambaran histologis yang terjadi terutama pada mukosa respiratorius nasal dengan menggunakan mikroskop.

Pengamatan aktivitas selama kurun waktu 7 hari perlakuan, tikus putih terlihat lemas dan mengalami penurunan aktivitas. Pada preparat histologi nasal, kelompok paparan pengharum ruangan cair dan gel terlihat adanya perubahan ketebalan epitel dan peningkatan produksi mukus dibandingkan dengan kelompok kontrol. Karena peneliti belum menemukan penelitian

sejenis yang membandingkan perbedaan pengaruh paparan pengharum ruangan dengan jenis yang berbeda pada sistem pernapasan, khususnya mukosa respiratorius nasal, hasil uji pra-penelitian inilah yang peneliti gunakan sebagai acuan.

Penelitian dilaksanakan dengan melakukan beberapa penyesuaian berdasar uji pra-penelitian. Penelitian menggunakan 18 ekor putih yang terbagi atas 6 ekor sebagai kelompok kontrol, 6 ekor sebagai kelompok paparan pengharum ruangan cair, dan 6 ekor sebagai kelompok paparan pengharum ruangan gel. Pada uji pra-penelitian, perubahan gambaran histologis yang terjadi pada kelompok paparan pengharum ruangan cair dan gel masih sangat minimal. Sebagai penyesuaian, perlakuan dilakukan selama 8 jam/ hari selama 15 hari berturut-turut. Tiap kelompok ditempatkan pada kandang yang berbeda yang masing-masing berukuran 60x60x60 cm agar hewan uji lebih leluasa untuk bergerak dan sirkulasi udara memadai. Untuk pengharum ruangan cair, pemaparan dilakukan dengan menggunakan alat bantu semprot otomatis. Jaringan nasal yang diambil diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Lokasi pengamatan meliputi 5 lapang pandang mukosa respiratorius yang melapisi septum nasal. Ketebalan epitel masing-masing kelompok diukur dengan bantuan mikrometer dan dianalisis secara kuantitatif. Perubahan lain yang terjadi, seperti adanya sebum sel radang dan peningkatan produksi mukus dinilai secara deskriptif.

B. Hasil Penelitian

Pengaruh paparan pengharum ruangan cair dan gel terhadap perubahan histologi mukosa respiratorius nasal *Rattus norvegicus* diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Untuk pengukuran ketebalan epitel, pengamatan membutuhkan bantuan mikrometer melalui preparat yang telah dibuat. Pengukuran ketebalan epitel diamati dengan perbesaran 400x dalam 5 lapang pandang. Dari data *mean* (\bar{x}) pada setiap kelompok percobaan dilakukan pengujian normalitas sebaran data.

Penelitian yang telah dilakukan menggunakan sampel sebanyak 18 ($N=18$, <50) sehingga untuk *normality test* menggunakan *Shapiro-Wilk*. Ketebalan epitel respiratorius setelah pemaparan pengharum ruangan cair (spray) didapatkan p 0,219 ($p>0,05$) sehingga dapat diketahui bahwa sebaran data normal. Pada hasil analisis *normality test* pada kelompok PB (pemaparan pengharum ruangan gel) diperoleh nilai p 0,015 ($p<0,05$) yang menunjukkan bahwa sebaran data tidaklah normal. Pada kelompok kontrol memperlihatkan nilai p 0,188 ($p>0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa sebaran data normal.

Oleh karena salah satu hasil uji normalitas menunjukkan nilai yang tidak normal, yaitu pada kelompok perlakuan gel, maka untuk analisis perbandingan pengaruh paparan pengharum ruangan terhadap ketebalan epitel menggunakan uji *Kruskal-Wallis* yang merupakan turunan dari uji *One-Way Anova*. Uji perbandingan pengaruh antara kelompok paparan pengharum

ruangan cair, kelompok paparan pengharum ruangan gel, dan kelompok kontrol menunjukkan nilai p 0,004 ($p < 0,05$) yang mempunyai makna bahwa terdapat perbedaan ketebalan epitel pada kelompok perlakuan tersebut. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan ketebalan epitel yang signifikan, perlu dilakukan analisis lanjutan berupa uji *post hoc*. Alat untuk melakukan analisis *post hoc* untuk uji *Kruskal-Wallis* adalah dengan *Mann-Whitney* dengan melakukan perbandingan terhadap 2 kelompok yaitu kelompok pemaparan pengharum cair dengan gel, cair dengan kontrol, dan gel dengan kontrol.

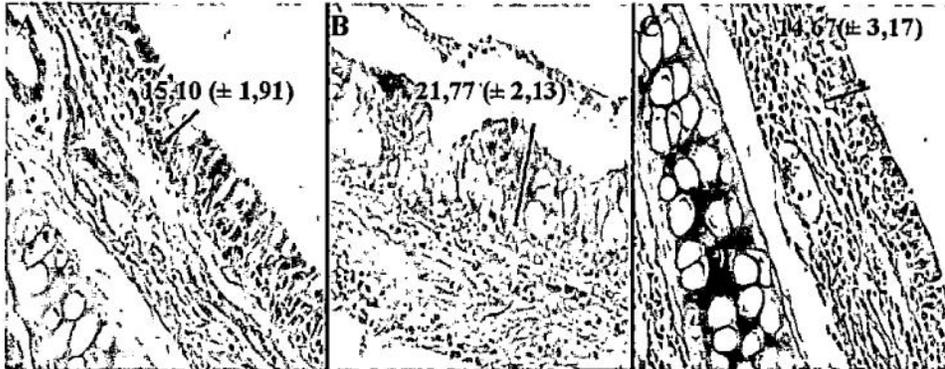
Tabel 2. Hasil Uji *Mann-Whitney* terhadap rata-rata ketebalan ($\bar{x} \pm SD$) epitel respiratorius nasal *Rattus norvegicus* (μm)

Kelompok perlakuan	Rata-rata
Paparan pengharum cair	$21,7667 \pm 2,1294^a$
Paparan pengharum gel	$14,6667 \pm 3,1741^b$
Kontrol	$15,1000 \pm 1,9089^{b'}$

Keterangan : ^{a, b} huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Pada uji *Mann-Whitney*, perbedaan ketebalan epitel paparan pengharum ruangan berbentuk cair dan gel menunjukkan nilai p 0,008 ($p < 0,05$) yang berarti bahwa kedua kelompok perlakuan tersebut memiliki perbedaan pengaruh pada ketebalan epitel yang signifikan. Kelompok pemaparan pengharum ruangan cair dan tanpa perlakuan (kontrol) juga mempunyai perbedaan ketebalan epitel yang signifikan dengan menunjukkan hasil analisis p 0,004 ($p < 0,05$), sedangkan antara kelompok pemaparan pengharum ruangan gel dengan kelompok kontrol menunjukkan nilai p 0,197 ($p > 0,05$),

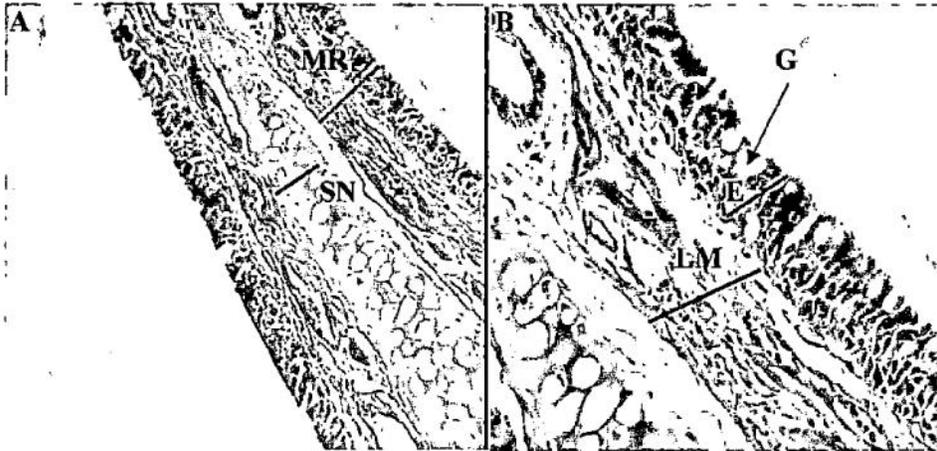
yang dapat diartikan bahwa paparan pengharum ruangan gel tidak menyebabkan perubahan ketebalan epitel yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.



Gambar 6. Perbandingan rata-rata ketebalan epitel respiratorius yang melapisi septum nasal pada perbesaran 400x (μm).

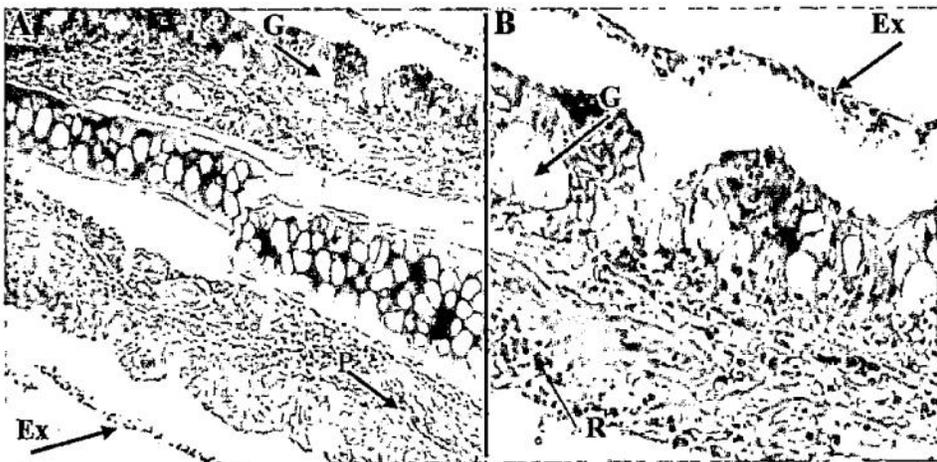
- Keterangan : (A) Kelompok kontrol, dengan tebal epitel $15,10 \pm 1,91 \mu\text{m}$;
 (B) kelompok paparan pengharum cair, dengan tebal epitel $21,77 \pm 2,13 \mu\text{m}$;
 (C) kelompok paparan pengharum gel, dengan tebal epitel $14,67 \pm 3,17 \mu\text{m}$.

Pengaruh paparan pengharum ruangan cair dan gel, selain dinilai melalui analisis kuantitatif terhadap ketebalan epitel juga dinilai melalui analisis deskriptif terhadap adanya perubahan gambaran histologi pada mukosa respiratorius seperti penampakan sel goblet, sebaran sel radang, dan adanya eksudat. Pengamatan dilakukan dengan bantuan mikroskop dengan perbesaran lemah (100x) dan perbesaran kuat (400x) dan untuk pengukuran ketebalan epitel, peneliti menggunakan mikrometer



Gambar 7. Histologi mukosa respiratorius nasal *Rattus norvegicus* kelompok kontrol.

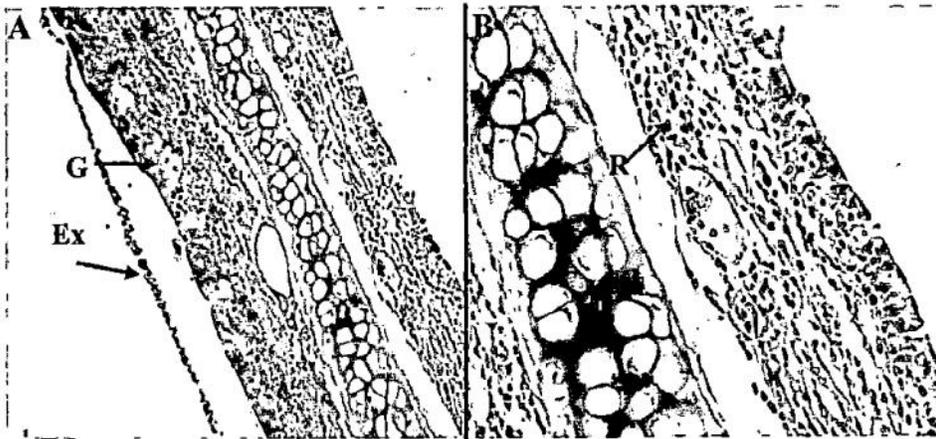
- Keterangan: (A) Mukosa respiratorius pada septum nasal perbesaran 100x. MR : mukosa respiratorius nasal, SN : septum nasal;
 (B) Mukosa respiratorius perbesaran kuat (400x), E : epitel respiratorius, G: sel goblet, LM: lamina propria.



Gambar 8. Histologi mukosa respiratorius nasal *Rattus norvegicus* kelompok paparan pengharum ruangan cair .

- Keterangan : (A) Histologi mukosa respiratorius perbesaran lemah (100x);
 (B) Histologi mukosa respiratorius perbesaran kuat (400x); G : sel goblet, Ex : eksudat, R : sebulan sel radang, P : pembuluh darah.

Pada Gambar 8. menunjukkan jaringan nasal berisi eksudat yang cukup, umumnya berupa leukosit eosinofil. Epitel nasal umumnya bersilia dengan infiltrat leukosit eosinofil intraepitelial dan sebagian sel tampak mengandung mukus pada sel goblet. Stroma jaringan ikat sub epitelial sembab dengan dilatasi pembuluh darah dan bagian-bagian ekstravasasi eritrosit terlihat banyak infiltrat sel plasma, leukosit eosinofil, dan limfosit.



Gambar 9. Histologi mukosa respiratorius nasal *Rattus norvegicus* kelompok paparan pengharum gel.

Keterangan : (A) Histologi mukosa respiratorius perbesaran lemah (100x);
 (B) Histologi mukosa respiratorius perbesaran kuat (400x); Ex : eksudat, G : sel goblet, R : sebaran sel radang.

Sedian histologi mukosa respiratorius yang telah dipaparkan pengharum ruangan berbentuk gel menunjukkan adanya sedikit eksudat umumnya berupa leukosit eosinofil. Pada epitel terdapat sedikit infiltrat leukosit eosinofil dan sebagian kecil epitel tampak mengandung mucin. Pada lamina propria cukup

sebab dengan dilatasi pembuluh darah dan infiltrat sel radang cukup, terutama sel plasma, leukosit eosinofil, dan limfosit.

C. Pembahasan

Pada analisis data tentang pengaruh paparan pengharum ruangan yang membandingkan ketebalan epitel antara kelompok perlakuan PA (paparan pengharum cair), kelompok perlakuan PB (paparan pengharum gel), dan kelompok kontrol dengan menggunakan analisis *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai $p = 0,004$ ($p < 0,05$). Nilai $p < 0,05$ berarti bahwa terdapat perbedaan ketebalan epitel respiratorius nasal pada ketiga kelompok penelitian. Adanya perbedaan ketebalan epitel respiratorius pada ketiga kelompok menunjukkan bahwa paparan pengharum ruangan memberikan pengaruh terhadap perubahan histologi epitel respiratorius nasal.

Mann Whitney, sebagai uji *post hoc* pada *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa pada kelompok paparan pengharum ruangan cair dan paparan pengharum ruangan gel terlihat hasil $p = 0,008$ ($p < 0,05$). Nilai $p < 0,05$ yang berarti bahwa terdapat perbedaan ketebalan epitel yang signifikan antara kelompok yang dipaparkan pengharum ruangan cair dan gel. Perbandingan ketebalan epitel antara kelompok paparan pengharum ruangan cair dan kontrol, terlihat nilai $p = 0,004$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan ketebalan yang signifikan antara kelompok PA yang telah dipaparkan pengharum ruangan cair dengan kelompok kontrol. Sedangkan perbandingan antara kelompok paparan pengharum ruangan gel dan kontrol

memperlihatkan nilai p 0,197 yang bermakna bahwa terdapat perbedaan ketebalan epitel yang tidak signifikan pada kelompok yang telah dipaparkan pengharum gel dengan kelompok kontrol.

Analisis data mengenai perbandingan ketebalan epitel telah didukung dengan penilaian gambaran histologi mukosa respiratorius secara deskriptif. Pada kelompok yang terpapar pengharum ruangan terlihat adanya tanda-tanda peradangan berupa adanya eksudat yang mengandung eosinofil, sebukan sel radang, juga terjadi peningkatan produksi mukus dibandingkan kelompok kontrol. Secara spesifik terlihat bahwa kelompok yang terpapar pengharum ruangan berbentuk cair memberikan pengaruh berupa peningkatan ketebalan epitel respiratorius nasal yang signifikan, selain itu juga produksi mukus, adanya eksudat, sebukan sel plasma, eosinofil, dan limfosit lebih meningkat dibandingkan kelompok yang terpapar pengharum ruangan gel.

Hasil penelitian telah menunjukkan bahwa inhalasi pengharum ruangan memicu aktivitas sistem imun yang berakibat timbulnya reaksi inflamasi lokal jaringan. Toksisitas yang ditunjukkan berbagai jenis pengharum ruangan sebenarnya bukan hanya berasal dari bahan dasarnya, melainkan berasal dari bahan tambahannya. Pada pengharum ruangan cair, toksisitas disebabkan adanya penambahan zat pelarut (*solvent*). Kadar toksisitas meningkat pada penggunaan pengharum ruangan cair yang bekerja dengan cara disemprotkan. Hal ini dikarenakan pada pengharum ruangan semprot turut pula ditambahkan gas bertekanan (*propellant*) dan menghasilkan zat kimia berkonsentrasi tinggi (Hanson, Venturelli, & Fleckenstein, 2008).

Penggunaan pengharum ruangan cair semprot biasanya menggunakan *propellant* hidrokarbon yang dikombinasikan dengan *solvent* ethanol untuk melarutkan bahan utamanya. Bahan kimia yang terkandung pada pengharum ruangan ini termasuk material volatil yang akan menguap pada suhu kamar (Hanson, Venturelli, & Fleckenstein, 2008). Partikel aerosol (cairan yang tersuspensi dalam gas) akan mengendap di nasal dan saluran napas atas lainnya (Lautrell, Jederberg, & Still, 2008). Ketika partikel yang dihasilkan berukuran 5-10 μm , partikel zat kimia tersebut akan dihadapkan oleh mekanisme pertahanan di kavum nasal. Partikel-partikel yang tersisa berukuran 1-5 μm dapat melewati barier pertahanan kavum nasal dan mengendap dalam bronkiolus kecil, sedangkan partikel yang kurang dari 1 μm berdifusi melewati dinding alveoli dan melekat pada cairan alveolus (Haschek, Rousseaux, & Wallig, 2010).

Terdapat 2 jenis iritasi zat kimia pada saluran napas, khususnya mukosa nasal. *Pertama*, iritasi primer, paparan zat iritan berpengaruh pada jaringan melalui kontak langsung. Zat iritan akan beraksi langsung dengan epitel memicu respon inflamasi. *Kedua*, iritasi sekunder, yang akan meningkatkan respon sistemik, seperti timbulnya ketergantungan, mual, dan pusing (Lautrell, Jederberg, & Still, 2008).

Partikel-partikel yang terhirup bersama udara pernapasan melewati sistem barier pertahanan kavum nasal. Lini pertama pertahanan terhadap patogen pada mukosa nasal adalah barier mukosiliari. Pada epitel respiratorius dilindungi oleh silia-silia dan juga lapisan mukus. Zat-zat berbahaya maupun

mikroorganisme akan terperangkap pada lapisan mukus yang dihasilkan oleh sel goblet, dan oleh sel siliari akan digerakkan menuju oro-faring untuk ditelan. Pertahanan secara seluler diperankan oleh sel neutrofil dan makrofag yang akan memfagosit zat-zat toksik (Probst, Grevers, & Iro, 2006). Jika mukosa terpapar zat toksik, maka akan menyebabkan perubahan sitolitik yang akan terakumulasi dan menyebabkan cedera sel. Makrofag dan neutrofil kemudian diaktifkan untuk memfagosit zat toksik tersebut (Haschek, Rousseaux, & Wallig, 2010).

Paparan zat toksik juga akan memicu respon iritasi sensori yang diinisiasi di kavum nasal yang akan memicu timbulnya sensasi panas, nyeri, reaksi inflamasi, hipersekresi, vasodilatasi, dan obstruksi (Lautrell, Jederberg, & Still, 2008). Penebalan epitel mukosa respiratorius nasal dan peningkatan produksi mukus mengindikasikan adanya reaksi imunologi yang menginduksi terjadi respon inflamasi pada epitel. Bahan-bahan kimia yang terkandung di dalam pengharum ruangan masuk ke dalam tubuh bersamaan dengan udara pernapasan. Di mukosa respiratorius nasal, bahan kimia terdeteksi oleh saraf trigeminal yang menstimulasi lepasnya substansi P. Substansi P akan mengubah sekresi mucin, vasodilatasi pembuluh darah setempat, ekstrasvasi plasma, dan edema jaringan (Kennedy, Bolger, & Zinreich, 2001).

Toksisitas pengharum ruangan dapat pula dilihat melalui adanya sebaran sel radang pada mukosa respiratorius. Eosinofil merupakan sistem pertahanan nonspesifik sebagai respon reaksi alergi, juga berperan dalam fagositosis bahan-bahan toksik. Sedangkan sel plasma dan limfosit T (sel T) merupakan

sistem pertahanan spesifik. Pada mukosa nasal, sistem imun spesifik humoral diperankan oleh *Nasal-Associated Lymphoid Tissue* (NALT). Dengan diproduksinya sitokin dari imunitas nonspesifik, NALT akan mengaktifkan sel plasma (limfosit B) untuk berdiferensiasi menjadi IgA. Sistem imun spesifik seluler diperankan oleh sel T. Sel T akan menginisiasi pembentukan sitokin pro-inflamatori yang kemudian akan berperan dalam memicu aktivitas sel fagosit, proses inflamasi, dan aktivasi serta proliferasi sel B dalam membentuk antibodi (Haschek, Rousseaux, & Wallig, 2010).

Dengan adanya perubahan signifikan pada mukosa respiratorius yang dipaparkan pengharum ruangan cair, menunjukkan bahwa kandungan zat kimia pada pengharum ruangan cair memiliki toksisitas yang lebih tinggi daripada pengharum ruangan berbentuk gel terhadap perubahan histologi mukosa respiratorius nasal.