

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental untuk menguji pengaruh pendedahan bensin Premium dan Pertamina terhadap gambaran histologi trakhea tikus putih. Sampel penelitian yang diuji adalah dua puluh tujuh ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dowley* dengan 9 ekor diberi perlakuan bensin jenis Premium, 9 ekor diberi perlakuan bensin jenis Pertamina, dan 9 ekor sebagai kontrol.

Pelaksanaan penelitian diawali dengan penelitian percobaan menggunakan 4 ekor tikus yang dibedakan menjadi 2 kelompok yaitu kelompok Pertamina (P1) dan kelompok Premium (P2). Setiap kelompok terdiri dari 2 ekor tikus. Kelompok P1 diberi pendedahan uap Pertamina setiap hari selama 8 jam dan berlangsung sampai hari ke 10. Kelompok P2 diberi pendedahan uap Premium setiap hari selama 8 jam dan berlangsung selama 10 hari. Setelah pendedahan selama 8 jam, tikus dipindahkan dari kandang perlakuan ke kandang pemeliharaan. Peneliti mengamati perubahan berat badan tikus selama 10 hari. Berat badan tikus ditimbang dengan menggunakan timbangan berskala 0,1 gram. Pada hari ke-11, dilakukan pembedahan untuk mengambil organ yang akan diamati struktur histologinya dan segera dibuat preparat histologi di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada dengan metode blok parafin dan pengecatan HE. Pada hasil pembahasan preparat dengan mikroskop

ditemukan adanya perubahan gambaran histologi yaitu perubahan ketebalan epitel trakhea, penambahan jumlah sel goblet dan adanya persebaran limfosit antara tikus perlakuan P1 dan tikus perlakuan P2.

Setelah dilakukan penelitian percobaan, maka segera dilakukan penelitian sebenarnya. Penelitian sebenarnya mempunyai prosedur yang sama dengan penelitian percobaan, akan tetapi pada penelitian sebenarnya, tikus yang digunakan sebanyak dua puluh tujuh ekor yang dikelompokkan menjadi tiga kelompok yaitu kelompok tanpa perlakuan atau kontrol (K), kelompok perlakuan Pertamax (P1) dan kelompok perlakuan Premium (P2). Perlakuan diberikan 8 jam/hari selama 30 hari. Selama masa penelitian juga selalu memantau berat badan tikus perlakuan dan kontrol dengan menimbanginya di timbangan skala 0,1 gram. Pada hari ke-31 setelah perlakuan, masing-masing tikus dibedah untuk diambil trakheanya dan dibuat sediaan histologi untuk diamati ketebalan epitel trakheanya dan gambaran perubahan histologi yang tampak.

B. Hasil Penelitian

Hasil uji normalitas Saphiro Wilk jumlah sel goblet untuk kelompok Kontrol, Pertamax dan Premium didapatkan distribusi normal karena $p > 0,05$. Sedangkan pada uji homogenitas didapatkan bahwa data ini homogen karena nilai $p > 0,05$. Oleh karena itu, uji analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji ANOVA.

Uji ANOVA jumlah sel goblet terhadap ketiga kelompok adalah Sig. 0,002. Uji *Post-Hoc Tukey* digunakan untuk menguji signifikansi dua kelompok.

Uji *Post-Hoc Tukey* antara Premium dan Pertamax mendapat hasil Sig. 0,863. Uji

Post-Hoc Tukey antara Pertamax dan Kontrol mendapat hasil Sig. 0,010. Uji *Post-Hoc Tukey* antara Premium dan Kontrol mendapat hasil Sig. 0,003.

Untuk data mean dan standar deviasi pada epitel trakhea didapatkan bahwa epitel yang paling tebal adalah Premium, disusul dengan Pertamax dan yang paling tipis yaitu Kontrol.

Tabel 1: Hasil uji statistik mean dan standar deviasi jumlah sel goblet trakhea *Rattus norvegicus* jantan dengan pendedahan Kontrol, Pertamax dan Premium

No	Kelompok perlakuan	Total (N)	Rata-rata ± standar deviasi
1	Kontrol	9	42,6556±3,86300 ^a
2	Pertamax	9	49,2000±4,20951 ^b
3	Premium	9	50,2556±4,83428 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf superscript berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan $p < 0,05$ melalui uji *Post-Hoc Tukey*

Hasil uji normalitas Saphiro Wilk ketebalan epitel untuk kelompok Pertamax dan Kontrol didapatkan distribusi normal karena $p > 0,05$, tetapi Premium tidak berdistribusi normal karena mendapat $p < 0,05$. Sedangkan pada uji homogenitas didapatkan bahwa data ini homogen karena nilai $p > 0,05$. Oleh karena itu, uji analisis dilanjutkan dengan menggunakan Kruskal Wallis.

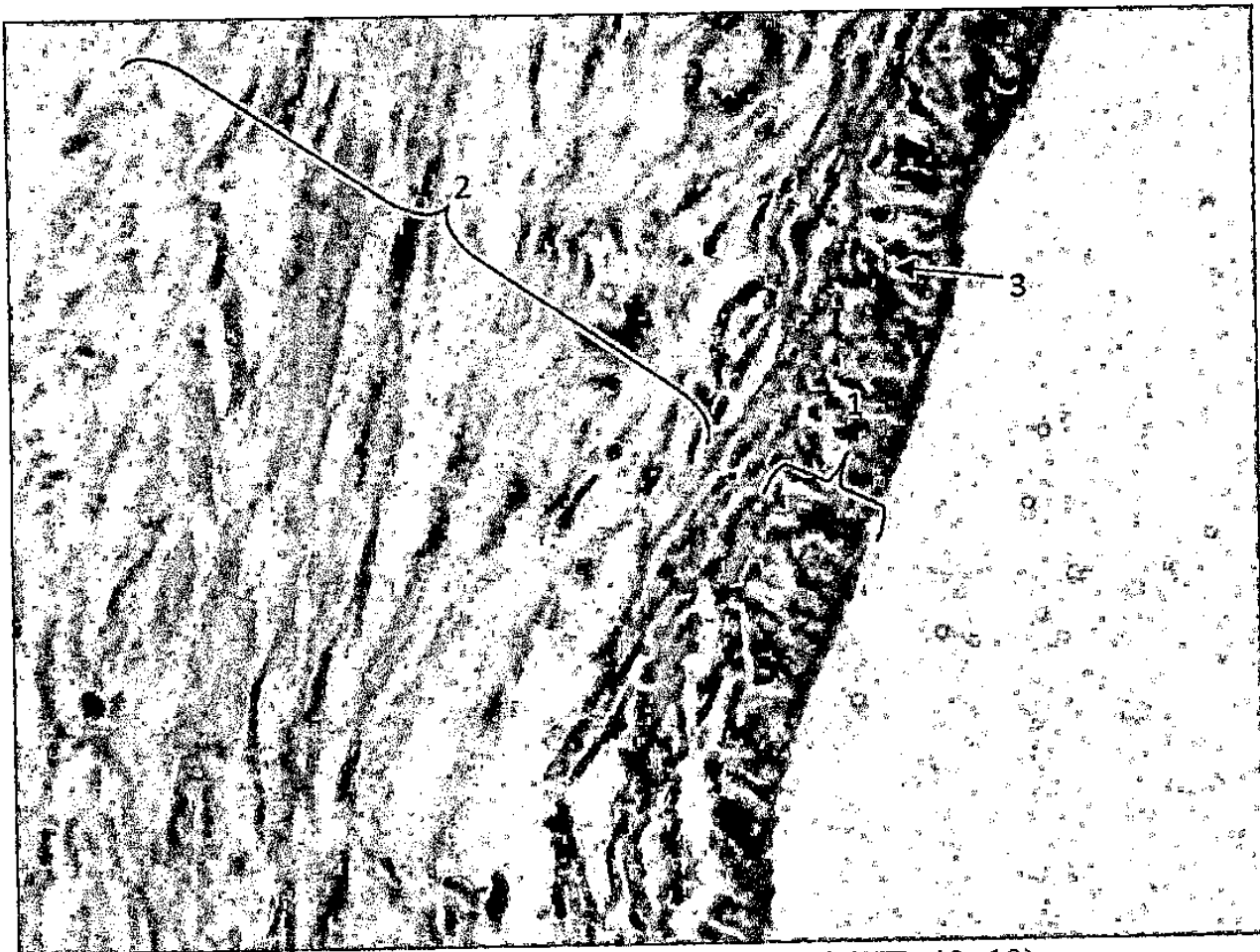
Uji Kruskal Wallis ketebalan epitel trakhea terhadap ketiga kelompok dan hasilnya adalah Sig. 0,000. Uji Mann Whitney digunakan untuk menguji signifikansi dua kelompok. Uji Mann Whitney antara Premium dan Pertamax mendapat hasil Sig. 0,724. Uji Mann Whitney antara Pertamax dan Kontrol mendapat hasil Sig. 0,000. Uji Mann Whitney antara Premium dan Kontrol

banyak terdapat pada Premium, disusul dengan Pertamax dan yang paling sedikit yaitu ada pada Kontrol.

Tabel 2: Hasil uji statistik mean dan standar deviasi ketebalan epitel trakhea *Rattus norvegicus* jantan dengan pendedahan Kontrol, Pertamax, dan Premium

No	Kelompok perlakuan	Total (N)	Rata-rata \pm standar deviasi (μm)
1	Kontrol	9	16,8556 \pm 1,27705 ^a
2	Pertamax	9	31,5667 \pm 2,19165 ^b
3	Premium	9	33,0000 \pm 2,62763 ^b

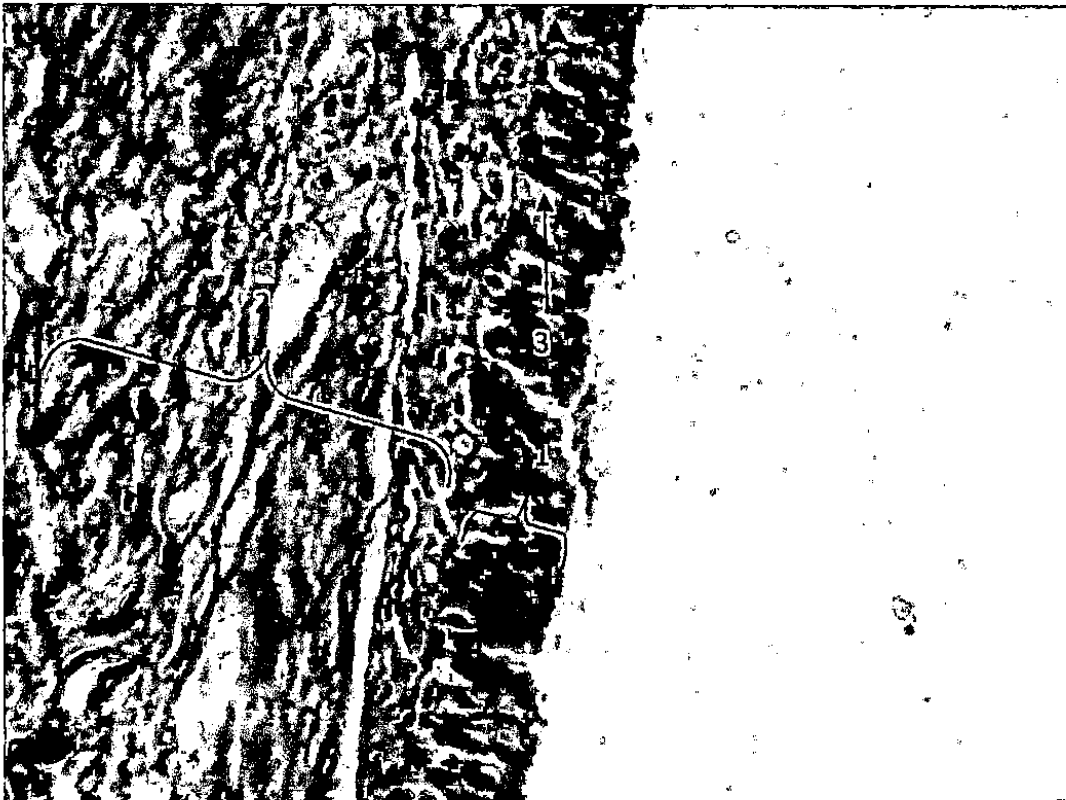
Keterangan: Angka yang diikuti huruf superscript berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan $p < 0,05$ melalui uji *Post-Hoc Tukey*



Gambar 5: Trakhea kelompok Kontrol (HE, 40x10)



Gambar 6: Trakhea kelompok pendedahan uap Pertamina (HE, 40x10)
Keterangan: 1. Epitel trakhea, 2. Lamina propria; submukosa, 3. Sel Goblet



Gambar 7: Trakhea kelompok pendedahan uap Premium (HE, 40x10)
Keterangan: 1. Epitel trakhea, 2. Lamina propria; submukosa, 3. Sel Goblet

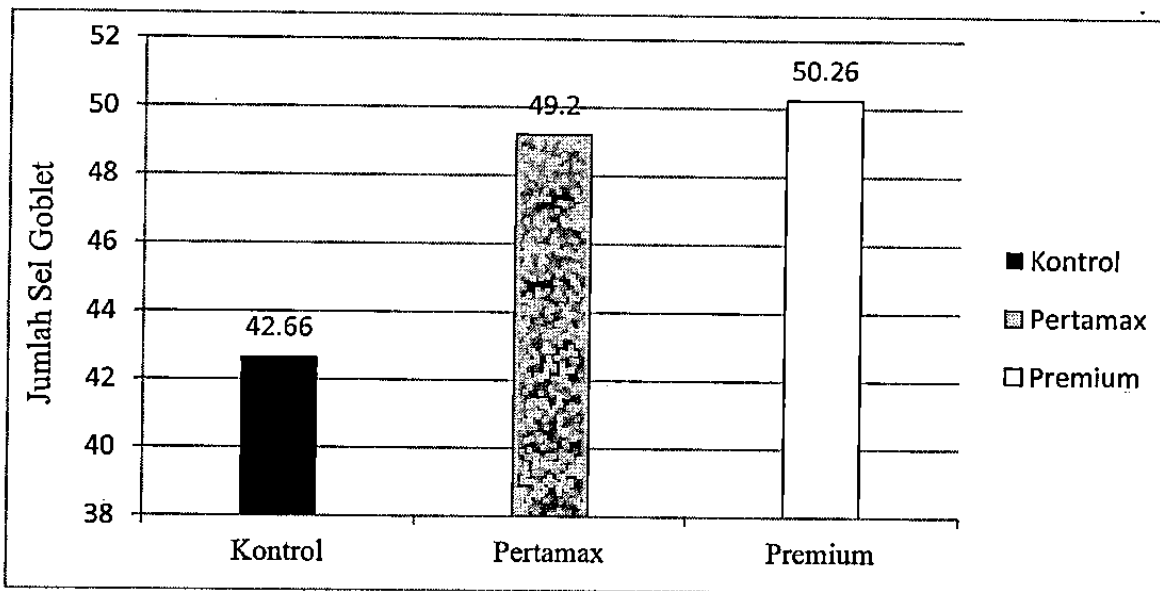
Pada pengamatan yang dilakukan secara terpisah di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada oleh staf di sana, didapatkan hasil yaitu pada kelompok kontrol (K) tidak didapatkan adanya perubahan patologis yang spesifik dan pada kelompok Pertamina (P1) dan Premium (P2) didapatkan adanya peradangan pada trakhea dengan disertai infiltrasi leukosit.

Selama penelitian berlangsung, berat badan tikus juga diukur untuk memastikan kesehatan dan kelayakan hewan uji. Berat badan hewan uji secara umum mengalami peningkatan sehingga layak masuk dalam tahap penelitian selanjutnya.

C. Pembahasan

1. Jumlah Sel Goblet Trakhea *Rattus norvegicus* Jantan

Dengan mengamati pada perbesaran 400x sebanyak 3 lapang pandang pada masing-masing sediaan (Leigh, 2002), jumlah sel goblet memiliki perbedaan yang bermakna pada kelompok hasil perlakuan dibandingkan dengan tanpa perlakuan. Hasil rerata sel goblet perlakuan Kontrol sebanyak 42,66 dan penelitian dengan pendedahan uap bensin jenis Pertamina sebanyak 49,2 dan Premium sebanyak 50,26. Terlihat bahwa jumlah sel goblet hasil perlakuan cenderung lebih banyak dibanding dengan Kontrol dan Premium memiliki jumlah



Gambar 8: Diagram rerata jumlah sel goblet trakhea masing-masing kelompok perlakuan

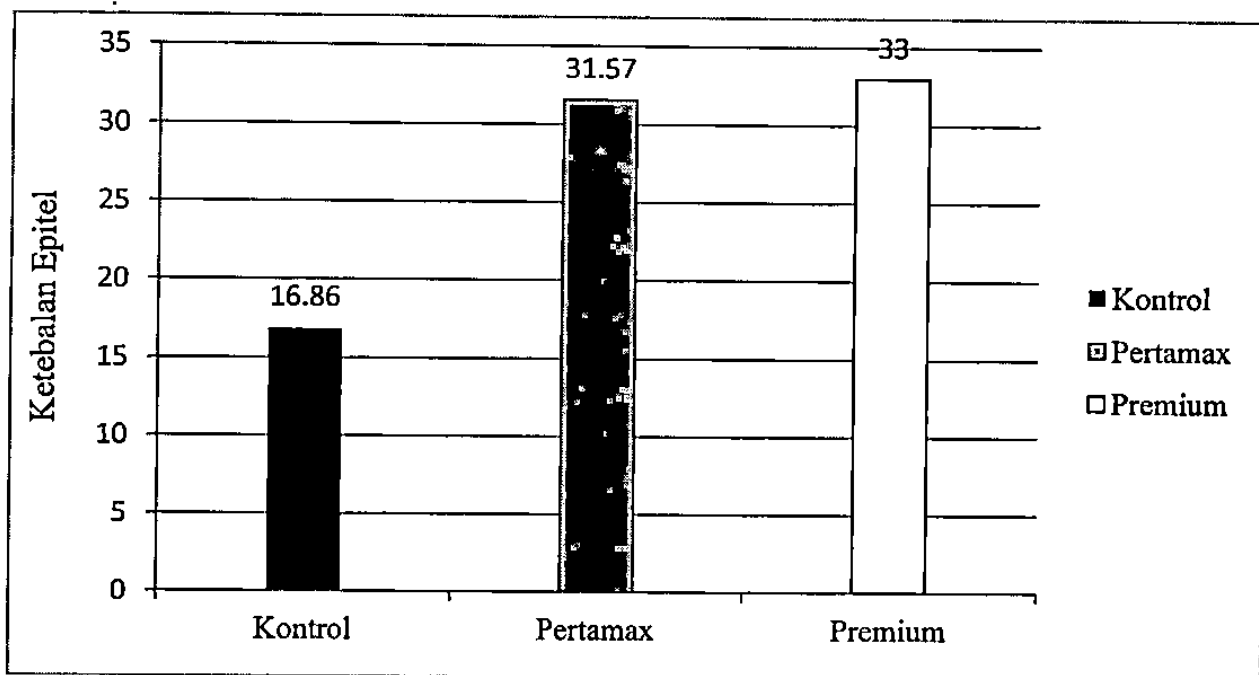
Abe et al. (2000) menjelaskan bahwa sel goblet yang berfungsi sebagai penghasil mukus (lendir) melapisi seluruh permukaan dari hidung hingga bronkiolus untuk menjaga kelembabannya. Zat iritan dapat memperburuk kerja silia yang berkaitan dengan sel goblet (McCaskill, 2012). Sebagai respon dari buruknya kerja silia, maka terjadi peristiwa hiperplasia sel goblet atau jumlah sel goblet bertambah dan merangsang goblet mengeluarkan mukus lebih banyak sebagai respon proteksi (Fawcett, 2002). Meskipun sel goblet menjadi lebih aktif, tetapi penurunan fungsi silia berakibat pergerakan lapisan mukus menjadi lambat dan dapat menimbulkan masalah pada saluran napas (Junqueira, 2003). Bila dibandingkan dengan penelitian Mahda Aufa (2010) yang melibatkan rongga hidung juga menyatakan bahwa iritasi pada saluran pernafasan dapat timbul akibat faktor-faktor yang menyebabkan radang, salah satunya adalah zat iritan yang terhirup melalui hidung. Uap bensin dengan kandungan bahan iritan seperti benzena dan timbal dapat mempengaruhi bertambahnya jumlah sel goblet dan

kelenjar submukosa membesar sehingga jumlah sel goblet pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan dari kelompok kontrol.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa Premium berefek lebih negatif terhadap sistem tubuh khususnya trakhea karena masih menggunakan timbal sedangkan Pertamina sudah menggunakan pengungkit oktan (Santoso, 2006). Hal ini serupa bila dibandingkan dengan penelitian Pudyoko (2010) yang mengamati gangguan sistem hemopoitik bahwa efek pendedahan Pertamina terhadap saluran pernapasan lebih kecil daripada efek yang timbul dari pendedahan Premium dikarenakan efek dari MTBE sebagai pengungkit oktan pengganti timbal yang butuh 35 ppm untuk menyebabkan gangguan pada tubuh, sementara timbal yang ada pada Premium dengan 0,15 ppm sudah dapat menyebabkan gangguan pada tubuh.

2. Ketebalan Epitel Trakhea *Rattus norvegicus* Jantan

Ketebalan epitel memiliki perbedaan yang bermakna pada kelompok hasil perlakuan dibandingkan dengan tanpa perlakuan. Adapun hasil rerata ketebalan epitel trakhea perlakuan Kontrol sebesar 16,86 μm dan penelitian dengan pendedahan uap bensin jenis Pertamina sebesar 31,57 μm dan Premium sebesar 33 μm . Terlihat bahwa epitel hasil perlakuan cenderung lebih tebal dibanding dengan kontrol dan Premium memiliki epitel yang paling tebal



Gambar 9: Diagram rerata ketebalan epitel trakhea masing-masing kelompok perlakuan (μm)

Kecenderungan penebalan epitel disebabkan karena adanya zat iritan yang masuk ke dalam saluran pernapasan. Zat iritan pada penelitian ini adalah substansi yang terkandung dalam bensin, contohnya seperti benzene, hidrokarbon, NO, SO₂.

Pada hasil penelitian didapatkan bahwa terjadi penebalan epitel trakhea akibat pendedahan bensin. Penebalan epitel bisa terjadi karena efek dari hiperplasia sel goblet. Hiperplasia sel goblet yang terjadi pada remodeling saluran nafas atau *airway remodelling* juga turut berkontribusi terhadap penebalan lapisan epitel saluran nafas yang tersensitisasi (Sriwahyuni, 2010). Pada penelitian lain dijelaskan juga bahwa kontribusi dari hiperplasia sel goblet ke penebalan epitel saluran nafas dapat terjadi oleh karena adanya efek penolakan dari mekanisme upaya pengelupasan epitel oleh iritan sehingga hal ini menimbulkan respon terdapatnya penebalan epitel saluran nafas (Tang, 2006).

3. Peradangan Trakhea *Rattus norvegicus* Jantan

Pada pengamatan yang dilakukan secara terpisah oleh staf di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, didapatkan hasil yaitu pada kelompok Pertamax dan Premium didapatkan adanya peradangan pada trakhea dengan disertai infiltrasi leukosit, dan pada kelompok Kontrol tidak didapatkan adanya perubahan patologis yang spesifik.

Pendedahan kronis bahan dari kandungan bensin terhadap lapisan epitel trakhea tikus putih jantan melalui inhalasi dengan durasi 8 jam/hari dan frekuensi paparan selama 30 hari (4 minggu) menyebabkan terjadinya peradangan kronis akibat kerusakan jaringan. Radang kronis dapat timbul menyusul radang akut, atau responnya sejak awal bersifat kronis. Perubahan radang akut menjadi kronik berlangsung bila respon radang akut tak dapat reda, disebabkan agen penyebab jejas yang menetap atau terdapat gangguan pada proses penyembuhan normal (Kumar, 2007). Sitokin terutama Interferon Gamma (IFN- γ) dan *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) berperan pada inflamasi kronis (Baratawidjaja, 2010). Hal ini mempengaruhi perubahan patologik anatomi pada sel-selnya dengan terjadinya infiltrasi leukosit pada jaringan. Infiltrasi adalah penimbunan substansi yang secara normal tidak terdapat pada sel atau jaringan atau dalam jumlah yang melebihi normal dalam sel atau jaringan tersebut (Dorland, 2010).

Infiltrasi leukosit adalah sebagai salah satu manifestasi pemulihan. Leukosit berperan sebagai sel sistem imun. Sel-sel sistem imun berasal dari sel prekursor (induk) yang pluripoten dalam sumsum tulang yang kemudian berdiferensiasi menjadi sel promieloid, sel limfosit (sel T&B) dan sel pro monosit

yang berdiferensiasi menjadi monosit-makrofag (Baratawidjaja, 2010). Leukosit ada di sepanjang pembuluh darah, melekat pada sel endotel. Bila ada jejas, terjadi migrasi dan kemotaksis berupa leukosit melakukan diapedesis yaitu bergerak meninggalkan pembuluh darah dan menuju ke arah utama lokasi jejas melalui pertemuan antar-sel endotel. Faktor-faktor kemotaksis antara lain seperti C5a komponen sistem komplemen dan *leucotrien B4* hasil metabolisme *arachidonat acid* (Kumar, 2007).

Selain yang telah dijabarkan di atas, terkait dengan substansi yang sama-sama terdapat di kedua jenis bensin seperti benzene, hidokarbon, NO, SO₂, efek yang dapat ditimbulkan di saluran napas khususnya trakhea yaitu hampir sama seperti yang telah dijelaskan sebelumnya yaitu penebalan epitel, hiperplasia sel goblet, dan respon infiltrasi leukosit. Semua dengan mekanisme seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya dan dapat memicu penyakit pernapasan (Santoso