

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Penelitian.

Penelitian diawali dengan melakukan adaptasi terhadap hewan uji agar hewan uji tidak mengalami stres. Setelah itu dilakukan penelitian percobaan selama 10 hari. Penelitian percobaan menggunakan empat ekor tikus yang dibedakan menjadi dua kelompok yaitu kelompok perlakuan X dan kelompok perlakuan Y. Setiap kelompok terdiri dari 2 ekor tikus. Kelompok X diberi pendedahan uap pertamax setiap harinya selama 8 jam dan berlangsung sampai hari ke 10. Kelompok Y diberi pendedahan uap premium setiap harinya selama 8 jam dan berlangsung sampai hari ke 10. 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 dengan pengecatan HE. Pada hasil pembacaan preparat dengan bantuan alat mikroskop ditemukan adanya perubahan gambaran histologi yaitu pelebaran ketebalan septum interalveolar dan peningkatan persebaran limfosit antara tikus perlakuan X dan tikus perlakuan Y.

Setelah penelitian percobaan selesai, segera dilakukan penelitian sebenarnya. Penelitian sebenarnya mempunyai prosedur yang sama dengan penelitian percobaan. Akan tetapi, pada penelitian sebenarnya menggunakan

tikus jantan sebanyak 27 ekor yang dikelompokkan menjadi tiga kelompok yaitu kelompok perlakuan pertamax (X), premium (Y), dan kelompok tanpa perlakuan/ kontrol (Z). Sebelum diberi perlakuan tikus-tikus dari masing-masing kelompok diadaptasikan selama satu hari agar tidak stres. Pada hari kedua tikus mulai diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya. Perlakuan diberikan selama 8 jam/hari selama 30 hari. Pada hari ke-31 setelah perlakuan masing-masing tikus dibedah untuk diambil pulmonya dan dibuat sediaan histologi untuk diamati ketebalan septum interalveolarisnya dan gambaran perubahan histologi yang tampak.

B. Hasil

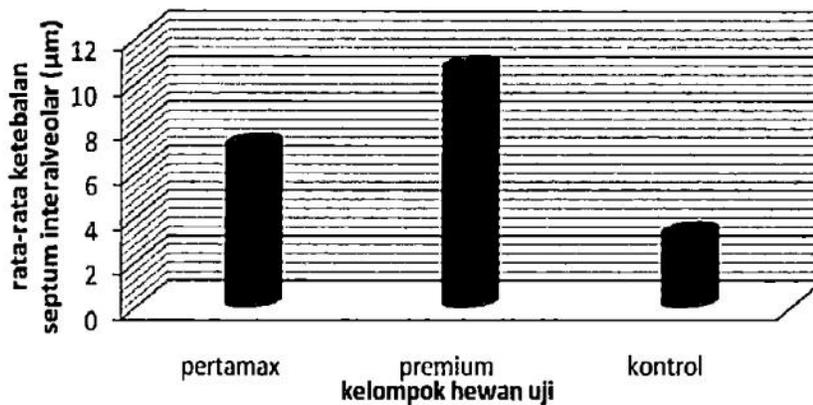
Distribusi data normal dapat dilihat dari hasil uji normalitas data dilihat dari nilai Shapiro-Wilk, nilai homogenitas data, gambaran histogram dan persebaran titik pada Q-Q plot. Nilai dari Shapiro-Wilk dari ketebalan septum interalveolar menunjukkan distribusi data yang normal dengan nilai $p > 0,05$. Nilai p dari masing-masing kelompok yaitu pertamax nilai $p=0,815$, premium $p=0,123$, dan kontrol $p=0,674$. Homogenitas data didapatkan $p= 0,021$. Hasil analisis dari panjang diameter lumen bronkiolus menunjukkan distribusi data yang normal dengan nilai $p>0,05$. Nilai p dari masing-masing kelompok yaitu pertamax nilai $p=0,359$, premium $p=0,484$, dan kontrol $p=0,271$. Homogenitas data didapatkan $p=0,028$. Hal ini menunjukkan bahwa data tersebut tidak homogen di karenakan nilai $p<0,05$ dan dapat disimpulkan bahwa data yang didapat distribusinya tidak normal.

Hasil analisis SPSS dengan menghitung mean dan standard deviasi ketebalan septum interalveolar dan lebar diameter bronkiolus tikus dari masing-masing kelompok disajikan dalam bentuk tabel seperti berikut:

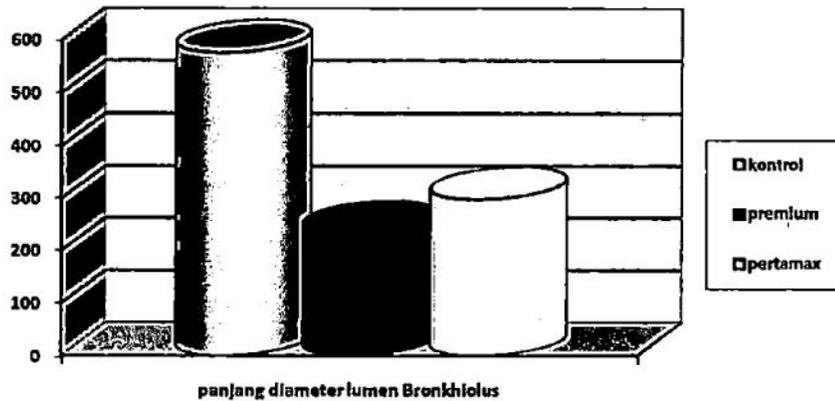
Tabel 1: Ketebalan Septum Interalveolar dan panjang diameter bronkiolus.

Kelompok perlakuan	Rata-rata \pm standar deviasi (μm)	
	Ketebalan Septum interalveolar	Panjang Diameter Bronkiolus
Kontrol	$3,18 \pm 0,97^a$	$576,8 \pm 143,48^a$
Pertamax	$7,15 \pm 1,29^b$	$298,04 \pm 47,99^b$
Premium	$10,63 \pm 2,22^c$	$232,09 \pm 43,29^c$

Keterangan: Angka yang diikuti huruf superscrib berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna pada uji Mann-Witney (tingkat kepercayaan 95%).



Gambar 7: Grafik rata-rata ketebalan septum interalveolar kelompok hewan uji pertamax, premium, dan kontrol.



Gambar 8: Grafik rata-rata panjang diameter lumen bronkiolus (μm) pada kelompok hewan uji perbesaran 40×10 .

Data yang sudah didapat segera diuji distribusinya dengan uji Shapiro-Wilk. Hasil uji normalitas ketiga kelompok didapatkan distribusi data yang tidak normal. Uji normalitas pada ketebalan septum interalveolar berturut-turut dari perlakuan premium, pertamax, dan kontrol yaitu $p=0,123$; $p=0,815$; $p=0,674$ dengan nilai homogenitas $p=0,021$. Uji normalitas pada panjang diameter bronkiolus berturut-turut dari perlakuan premium, pertamax, dan kontrol yaitu $p=0,484$; $p=0,359$; $p=0,271$ dengan nilai homogenitas $p=0,028$. Data kemudian diolah menggunakan uji nonparametrik, yaitu Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan Mann-Witney test.

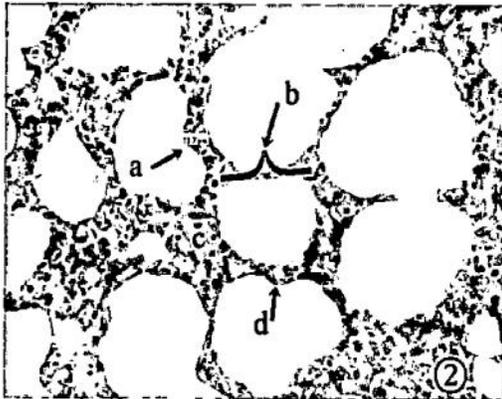
Pada uji nonparametrik Kruskal-Wallis untuk data ketebalan septum interalveolaris dan panjang diameter lumen bronkiolus diperoleh nilai $p=0,00$. Hal ini menunjukkan bahwa di antara kelompok-kelompok yang

dibandingkan, terdapat perbedaan. Untuk menguji kelompok mana yang berbeda, digunakan uji statistic Mann-Witney.

Hasil uji Mann-Witney untuk ketebalan septum interalveolar pada tikus dengan perlakuan pertamax dan premium menunjukkan nilai $p=0,002$. Hasil uji Mann-Witney untuk ketebalan septum interalveolaris pada tikus dengan perlakuan premium dan tanpa perlakuan (kontrol) menunjukkan nilai $p=0,00$. Hasil uji Mann-Witney untuk ketebalan septum interalveolaris pada tikus dengan perlakuan pertamax dan tanpa perlakuan (kontrol) menunjukkan nilai $p=0,00$. Hasil uji Mann-Witney untuk panjang diameter bronkiolus pada tikus dengan perlakuan pertamax dan premium menunjukkan nilai $p=0,015$. Hasil uji Mann-Witney untuk panjang diameter bronkiolus pada tikus dengan perlakuan premium dan tanpa perlakuan (kontrol) menunjukkan nilai $p=0,00$. Hasil uji Mann-Witney untuk panjang diameter bronkiolus pada tikus dengan perlakuan pertamax dan tanpa perlakuan (kontrol) menunjukkan nilai $p=0,00$. Hal ini menunjukkan bahwa pada masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan hasil yang signifikan dikarenakan $p < 0,05$.

Pada pengamatan mikroskopik perbesaran 100X pada kelompok X, Y, dan Z didapatkan hasil yaitu kelompok kontrol (Z) yang tidak mendapatkan perlakuan apapun didapatkan gambaran histologi septum interalveolar pulmo tiap lapang pandang tipis, tidak ada perubahan patologi yang spesifik dan tidak terjadi perdarahan. Pada kelompok premium (Y) yang mendapatkan perlakuan pendedahan uap premium didapatkan

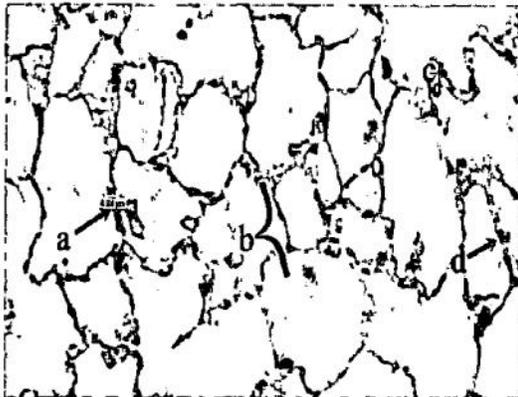
gambaran histologi septum interalveolar pulmo berupa infiltrasi limfosit dan makrofag disertai penebalan septum interstitial. Pada kelompok pertamax (X) yang mendapatkan perlakuan pendedahan uap pertamax didapatkan gambaran histologi septum interalveolar pulmo berupa infiltrasi neutrofil, limfosit, dan makrofag disertai penebalan septum interalveolaris.



Keterangan :

- a. Septum interalveolaris
- b. Alveolus
- c. Sebukan limfosit
- d. Pneumosit tipe 1

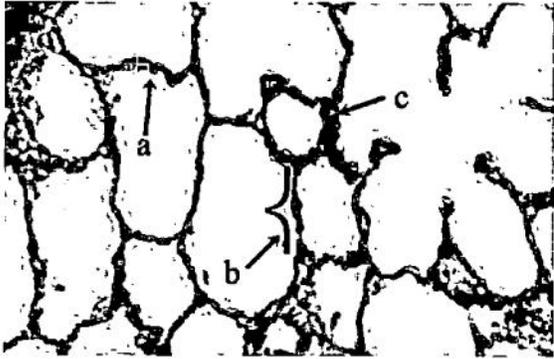
Gambar 9 : Alveoli Pulmo pada Perlakuan Uap Premium (HE, 40x10)



Keterangan :

- a. Septum interalveolaris
- b. Alveolus
- c. Sebukan limfosit
- d. Pneumosit tipe 1

Gambar 10 : Alveoli Pulmo pada Kontrol (HE, 40X10)



Keterangan :

- a. Septum interalveolaris
- b. Alveolus
- c. Selubung limfosit

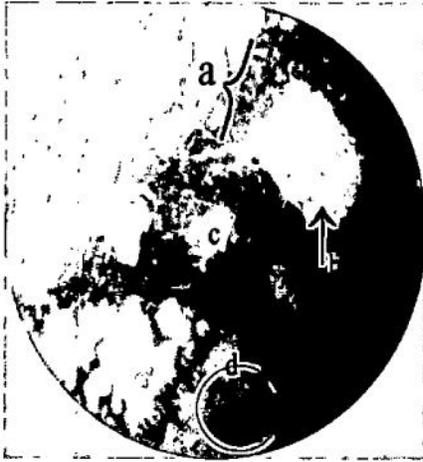
Gambar 11 : Alveoli Pulmo Perlakuan Uap Pertamax (HE, 40x10).



Keterangan:

- a. Bronkiolus pulmo
- b. Panjang diameter bronkiolus
- c. Lumen alveolus
- d. Alveoli

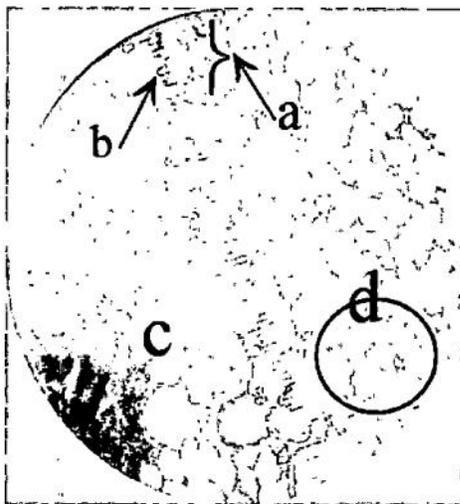
Gambar 12 : Gambaran Histologi Pulmo pada Hewan Uji Kontrol (HE,40x10).



Keterangan:

- a. Bronkiolus pulmo
- b. Panjang diameter bronkiolus
- c. Lumen alveolus
- d. Alveoli

Gambar 13 : Gambaran Histologi Pulmo pada Hewan Uji Pertamax (HE,40x10).



Keterangan:

- a. Bronkiolus pulmo
- b. Panjang diameter bronkiolus
- c. Lumen alveolus
- d. Alveoli

Gambar 14: Gambaran Histologi Pulmo pada Hewan Uji Premium (HE,40x10).

C. Pembahasan.

1. Ketebalan Septum Interalveolar

Hasil pengukuran ketebalan septum interalveolar pada masing-masing kelompok menunjukkan perbedaan yang bermakna. Penelitian

pada kontrol (tanpa perlakuan) menunjukkan hasil rata-rata ketebalan septum interalveolar sebesar 3.18 μm dan penelitian dengan pendedahan uap bensin jenis pertamax dan jenis premium didapatkan hasil berturut-turut sebagai berikut 7.15 μm dan 10.63 μm .

Perbedaan nilai yang bermakna kemungkinan dipengaruhi oleh senyawa yang terkandung di dalam premium dan pertamax yang dapat mempengaruhi sistem pernafasan. Hal yang membedakan ketebalan septum interalveolar pada hewan uji kontrol dan perlakuan adalah kandungan yang terdapat di dalam perlakuan. Seperti yang telah diuraikan sebelumnya, bensin jenis premium dan pertamax mempunyai komponen yang hampir sama. Komponen-komponen tersebut meliputi Benzena, NO, SO, CO, dan HC. Kandungan tersebutlah yang menyebabkan mengapa ketebalan septum interalveolar pada hewan uji perlakuan lebih tebal dibandingkan dengan hewan uji kontrol.

Seperti yang telah diuraikan (Pudyoko, 2010), bahwa premium mengandung senyawa-senyawa seperti Benzena, Timbal, NO, SO, CO dan HC yang rata-rata mempunyai efek menginfeksi saluran pernafasan. Sedangkan pertamax mengandung Benzena, MTBE, NO, SO, CO, dan HC yang efeknya hampir serupa dengan yang ditimbulkan oleh premium. Efek pendedahan pertamax terhadap ketebalan septum interalveolar lebih kecil dari pada efek yang timbul dari pendedahan premium dikarenakan efek dari MTBE sebagai pengungkit oktan pengganti timbal (Pb) yang butuh 35 ppm untuk menyebabkan gangguan pada tubuh sementara timbal dengan

0,15 ppm sudah dapat menyebabkan gangguan pada tubuh. Sementara itu MTBE juga lebih banyak diserap oleh tanah di sekitar tangki penyimpanan bensin, sehingga pencemaran yang terjadi lebih banyak melalui air yang terkandung dalam tanah tersebut. Hal tersebutlah yang menyebabkan mengapa ketebalan septum interalveolar pada perlakuan premium lebih tebal dari pada perlakuan pertamax.

Septum interalveolar adalah dinding yang memisahkan antar alveolus. Alveolus merupakan suatu kantung yang berfungsi sebagai tempat pertukaran udara. Udara yang masuk lewat hidung masuk ke dalam paru-paru melewati trakhea dan bronkhus. Partikel yang terbawa oleh udara akan disaring di hidung oleh silia-silia yang berada di hidung. Partikel yang terlalu kecil akan tetap terbawa udara yang terhirup ke dalam pulmo. Partikel tersebut sebagian terbawa ke dalam peredaran darah dan sebagian lagi akan mengendap di dalam septum interalveolaris.

Partikel-partikel yang terhirup akan terkumpul di sepanjang sistem pernafasan. Ukuran partikel yang masuk menentukan tempat terkumpulnya partikel yang terhirup. Semakin kecil ukuran partikel, semakin jauh jangkauannya di dalam saluran pernapasan. Jika ukuran partikel 5-30 mikrometer akan mengendap terutama di saluran napas bagian atas misalnya hidung. Jika ukurannya 1-5 mikrometer, sebagian besar akan terkumpul di saluran pernapasan bagian bawah (trakea, bronkus, bronkiolus). Partikel berukuran satu mikrometer akan mencapai dan

mengendap di alveolus dan diabsorpsi ke dalam sistem darah atau dibersihkan oleh makrofag (Junqueira & Carneiro, 2004).

Udara masuk ke dalam saluran pernafasan melalui hidung, trakhea, bronkus, bronkiolus hingga sampai ke pulmo yaitu alveolus. Udara yang masuk akan menembus lumen kapiler kemudian menembus lapisan endotel dan menembus epitel alveolus sehingga dapat masuk ke lumen alveolus. Di dalam lumen alveolus udara yang terhirup akan ditukar dengan O₂. Oksigen (O₂) yang terbentuk akan menerobos lapisan permukaan, sitoplasma epitel alveolus, dan plasma untuk dapat berikatan dengan hemoglobin (Junqueira & Carneiro, 2004).

Di dalam septum interalveolaris, partikel yang terserap dianggap sebagai benda asing. Peristiwa tersebut akan menyebabkan dua reaksi yaitu reaksi nonspesifik dan reaksi imunologis. Reaksi imunologis terjadi di dalam kelenjar getah bening yang mengandung limfosit T dan limfosit B. Sementara itu, reaksi nonspesifik ditunjukkan oleh perlawanan dari makrofag alveolar. Benda asing yang masuk ke alveoli merangsang makrofag alveolar keluar dan mengaktifasi berbagai substansi kimia di dalam tubuh seperti tumor nekrosis faktor (TNF α) dan interleukin 1 (IL1). Substansi kimiawi tersebut mempengaruhi sumsum tulang untuk membentuk granulosit untuk menyerang benda asing tersebut. Sel-sel granulosit tersebut akan menginvasi daerah yang meradang terutama neutrofil yang mendominasi apabila terjadi peradangan. Proses peradangan sendiri ditandai dengan vasodilatasi pembuluh darah lokal yang

mengakibatkan terjadinya aliran darah setempat yang berlebihan, peningkatan permeabilitas kapiler yang memungkinkan kebocoran cairan ke dalam ruang interstitil, migrasi sejumlah besar granulosit dan monosit ke dalam jaringan terutama neutrofil yang mengakibatkan sel-sel jaringan mengalami pembengkakan dan pelebaran jaringan (Guyton & Hall, 2006).

Mekanisme tersebut juga terjadi pada pelebaran septum interalveolar pada penelitian ini. Substansi yang terkandung di dalam bensin tertimbun di dalam kantong-kantong alveolus dan merangsang timbulnya TNF α dan IL-1 untuk mengeluarkan granulosit dan monosit ke dalam jaringan yang terinfeksi. Granulosit dan monosit berkumpul di dalam jaringan tersebut untuk upaya pertahanan tubuh. Selain itu, partikel yang masuk dan bertahan dalam jangka waktu yang lama akan merusak sel pneumosit tipe 1 yang berada dipermukaan. Sel pneumosit tipe 1 adalah sel yang menempati permukaan alveolus sebanyak 97% dari luas permukaan alveolus. Partikel tersebut akan memicu sel pneumosit tipe 1 untuk bermitosis. Akibatnya terjadi penumpukan sel pneumosit tipe 1 di permukaan alveolus. Hal ini menyebabkan septum interalveolaris pada perlakuan terlihat lebih lebar dari tebal septum interalveolaris pada kontrol.

Radikal bebas yang terkandung di dalam uap bensin seperti NO, SO, dan HC juga mempengaruhi histologi dari pulmo. Radikal bebas tersebut menyebabkan kerusakan akibat proses oksidasi lipoprotein dalam membran sel (Marianti, 2009). Hal ini ditunjukkan pada gambaran

histologi pulmo pada kerusakan membran alveolus berupa hubungan antar alveolus yang meregang akibat rusaknya jaringan ikat.

Oksigen yang bersifat radikal bebas juga diproduksi di dalam sel sebagai akibat proses respirasi yang menggunakan Oksigen (MacNee & Rahman 1999). Dalam keadaan normal antioksidan endogen masih mampu memproteksi sistem di dalam tubuh. Penambahan radikal bebas dari lingkungan akibat terpapar radikal bebas yang terdapat di dalam uap bensin menyebabkan antioksidan endogen tidak mampu lagi memproteksi sistem di dalam tubuh dari antioksidan, sehingga muncul Spesies Oksigen Reaktif (SOR). SOR tersebut akan memicu munculnya stress oksidatif pada jaringan paru-paru.

Stres oksidatif menurut Dekhuijzen (2004) juga menyebabkan munculnya respon imun lokal, peningkatan resiko infeksi dan akibat-akibat yang lebih buruk. Stress oksidatif juga akan memicu peningkatan jumlah makrofag dan neutrofil pada jaringan paru-paru. Peningkatan makrofag mendegradasi elastin dan kolagen, sedangkan neutrofil yang semakin meningkat adalah prekursor emfisema (Churg, 2002).

Stress oksidatif akibat pendedahan uap bensin mempengaruhi keseimbangan antara proteinase-antiproteinase. Aktifnya proteinase menyebabkan reaksi inflamasi dan mengakibatkan kerusakan sel-sel epitel alveolus yang menyebabkan terjadinya kematian sel. Kematian sel tersebut disebabkan oleh peningkatan apoptosis akibat stress oksidatif. Hal inilah yang menyebabkan septum interalveolar menebal (Demedts *et al*, 2006).

Ketebalan septum interalveolar pada pendedahan uap premium lebih tebal daripada pendedahan uap pertamax kemungkinan disebabkan radikal bebas yang dihasilkan dari pendedahan uap premium lebih besar dibandingkan dengan pendedahan uap pertamax, sehingga didapatkan gambaran ketebalan septum interalveolar lebih tebal dibandingkan pada pendedahan pertamax.

2. Panjang Diameter Lumen Bronkiolus.

Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil ukuran ketebalan panjang diameter lumen bronkiolus yang berbeda-beda pada masing-masing kelompok perlakuan.

Bronkiolus merupakan jalan nafas intralobuler yang tidak memiliki tulang rawan maupun kelenjar mukosa. Bronkiolus dilapisi oleh epitel berlapis silia yang semakin kebawah silia tersebut akan semakin sedikit bahkan hilang (Junqueira & Carneiro, 2004).

Udara yang tercampur dengan iritan secara kronik masuk ke dalam saluran pernafasan melalui hidung, trakhea, bronkus, sampai menuju pulmo. Pulmo memiliki dua bagian penting yaitu bronkiolus dan alveolus. Apabila terjadi gangguan pembersihan pada saluran pernafasan, maka udara yang masuk dapat menyebabkan peradangan pada bronkial dan bronkiolus. Peradangan yang terjadi dapat menyebabkan obstruksi pada saluran pernafasan. Obstruksi yang terjadi menyebabkan lumen bronkiolus melakukan vasokonstriksi sehingga diameter lumen terlihat lebih sempit dibandingkan yang normal (Price & Wilson, 2006). Hal ini

sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan bahwa terdapat perbedaan diameter lumen bronkiolus pada masing-masing perlakuan. Perbedaan tersebut di karenakan adanya obstruksi yang diakibatkan oleh substansi dari paparan. Seperti yang telah dibahas sebelumnya, substansi yang terdapat di dalam premium dan pertamax dianggap sebagai benda asing di dalam tubuh. Substansi yang masuk ke sistem pernafasan sebagian lolos dari sistem protektor pada saluran pernafasan dan sebagian substansi tersebut akan tertimbun di dalam saluran pernafasan. Substansi yang tertimbun di dalam bronkiolus akan merangsang bronkiolus untuk mengeluarkan substansi tersebut. Substansi tersebut dikeluarkan dengan cara vasokonstriksi dari bronkiolus, hal inilah yang menyebabkan lumen bronkiolus menyempit ketika terdapat benda asing di dalamnya.

Lumen bronkiolus pada hewan uji kontrol berbeda dengan perlakuan dikarenakan adanya substansi yang dapat mengiritasi bronkiolus pada perlakuan. Lumen bronkiolus pada perlakuan pertamax lebih lebar dibandingkan dengan perlakuan premium. Pada perlakuan premium terdapat timbal yang ikut masuk ke dalam sistem pernafasan. Timbal termasuk salah satu logam berat. Logam berat mempunyai masa yang lebih tinggi dibandingkan dengan substansi lain yang terkandung di bensin. Sehingga logam berat tersebut akan lebih mudah menempel pada permukaan saluran pernafasan sehingga menyebabkan obstruksi dan vasokonstriksi dari bronkiolus.