

**DAYA PROTEKSI VITAMIN C TERHADAP RADIKAL BEBAS YANG
DISEBABKAN OLEH ASAP ROKOK TERHADAP SEL GOBLET PADA
TRAKEA MENCIT**

Arnentis, Yustina, Christiani Purwandari
Pendidikan Biologi FKIP Universitas Riau

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang daya proteksi vitamin C terhadap radikal bebas yang disebabkan oleh asap rokok pada sel goblet pada trakea mencit. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli–September 2009 di Laboratorium Biologi FKIP UNRI dan Laboratorium Terpadu FAPERIKA UNRI. Penelitian bersifat eksperimen dengan menggunakan 20 ekor mencit jantan yang berumur 2 bulan sebagai hewan uji. Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok perlakuan yaitu 4 ekor kelompok kontrol negatif (K^-), 4 ekor kelompok kontrol positif (K^+), 4 ekor kelompok yang diberi injeksi vitamin C 90 menit sebelum perlakuan dengan asap rokok (K^1), 4 ekor kelompok yang diberi injeksi vitamin C 60 menit sebelum perlakuan dengan asap rokok (K^2), dan 4 ekor kelompok yang diberi injeksi vitamin C 90 menit sebelum perlakuan dengan asap rokok (K^3). Parameter utama yang diamati adalah jumlah sel goblet sedangkan parameter pendukung adalah berat badan. Setiap hari hewan uji diberi perlakuan dengan asap rokok selama 20 hari. Diakhir perlakuan berat badan mencit ditimbang, mencit dibedah dan trakeanya diambil untuk dibuat sediaan histologi. Hasil penelitian menunjukkan, rata-rata persentase jumlah sel goblet pada K^+ adalah $41,25 \pm 4,99$ berbeda nyata dengan K^- yaitu $21,50 \pm 2,65$, hal ini menunjukkan terjadinya hiperplasia sel goblet akibat asap rokok. Sedangkan rata-rata persentase jumlah sel goblet pada K^1 , K^2 , dan K^3 secara berturut-turut adalah $35,50 \pm 2,08$, $31,25 \pm 1,89$ dan $22,00 \pm 1,71$. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian vitamin C yang diberikan 90 menit sebelum perlakuan dengan asap rokok ternyata dapat melindungi epitel trakea dengan baik.

Kata Kunci: *antioksidan, hiperplasia, sel goblet, vitamin C*

PENDAHULUAN

Asap rokok telah terbukti dapat menyebabkan berbagai gangguan pada saluran napas seperti penyakit kanker paru-paru, hipertensi, dan penyakit jantung, baik secara langsung maupun tidak langsung. Berdasarkan survei yang dilakukan oleh WHO pada tahun 1990, ternyata 75% pria Indonesia dan 15% wanita Indonesia adalah perokok aktif (Yueniwati dan Ali, 2004).

Asap rokok merupakan campuran lebih dari 4.700 senyawa kimia termasuk oksidan dengan konsentrasi tinggi yaitu 10^{14} molekul perhisapan (Hanrahan *et al.* dalam Arkeman dan David, 2006). Oksidan (radikal bebas) merupakan atom atau molekul yang sifatnya sangat tidak stabil (mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan), sehingga senyawa ini cenderung untuk menarik elektron dari molekul lain, dan menimbulkan senyawa abnormal (Sahputra, 2004).

Jika peningkatan jumlah oksidan tidak diimbangi oleh peningkatan anti oksidan, maka akan terjadi fenomena yang mendasari patofisiologi beberapa penyakit. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa pada perokok dengan bronkitis kronis dan penyakit paru obstruktif kronis (PPOK) terdapat hipersekresi mukus dan hiperplasia sel goblet pada saluran

nafas. Beberapa penelitian lain juga menyatakan bahwa faktor utama yang menyebabkan hiperplasia sel goblet adalah pajanan asap rokok pada paru secara kronis (Arkeman dan David, 2006).

Sel goblet adalah sel epitel kelenjar yang tersebar diantara sel-sel lain pada jaringan epitel beberapa organ, terutama usus dan saluran pernafasan. Berbagai macam stimulus seperti alergi, bakteri termasuk asap rokok menyebabkan perubahan epitel saluran nafas. Epitel saluran nafas hanya mengandung beberapa sel goblet dan akan meningkat apabila secara kontinu terpapar asap rokok (Anonymous, 2009).

Reaksi berantai radikal bebas dapat diredam oleh antioksidan. Antioksidan adalah molekul yang dapat menetralkan muatan dan menghentikan radikal bebas untuk tidak bereaksi dengan molekul lain (Anonymous, 2001). Antioksidan yang sudah dikenal dan banyak dipakai saat ini adalah vitamin C. Vitamin C memiliki sifat mudah larut di dalam air dan mudah diserap oleh sel-sel tubuh. Vitamin C berperan sebagai pembersih terhadap berbagai macam oksidan dan juga mampu meregenerasi tokoferol tereduksi yang merupakan pencegat (interceptor) reaksi radikal dan molekul aktif lainnya (Revilla, 2002).

Vitamin C menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal (*radical scavenging*) dengan cara menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang. Vitamin C memiliki gugus enadiol pada atom C2 dan C3-nya yang berfungsi sebagai pendonor elektron (Purwantoko & Agnes, 2005). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya proteksi vitamin C terhadap radikal bebas yang disebabkan oleh asap rokok pada sel goblet saluran nafas mencit.

METODE DAN BAHAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi FKIP dan Laboratorium Terpadu FAPERIKA Universitas Riau pada bulan Juli – September 2009. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster berumur kurang lebih dua bulan dengan berat badan 28 - 30 gram sebanyak 20 ekor. Vitamin C yang digunakan yaitu Vitacimin (vitamin C 250 mg per tablet), rokok kretek dengan merek dagang Lintang 6 produksi PT. Trisakti Purwosari Makmur.

Dalam penelitian ini digunakan rancangan acak sederhana. Terdiri dari 1kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok 4 ekor mencit. Kelima kelompok hewan percobaan diberi makan pelet, dan minum secara ad libitum. Pemberian asap rokok dilakukan didalam kandang tertutup terbuat dari kaca berukuran 35 x 35 x 30 cm dengan ventilasi berukuran 10 x 5 cm. Hewan uji diperlakukan dengan asap rokok 30 menit / hari selama 20 hari. Pemberian vitamin C dengan dosis 1 mg, secara intramuscular. Waktu pemberian vitamin C untuk setiap kelompok perlakuan disesuaikan, yaitu 30, 60 dan 90 menit sebelum perlakuan dengan asap rokok. Lama perlakuan dan dosis vitamin C yang diberikan merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Arkeman dan David (2006). Berat badan mencit ditimbang sebelum perlakuan, minggu pertama, kedua dan akhir perlakuan. Kemudian mencit dibunuh dengan cara dislokasi leher, selanjutnya trakea diambil untuk pembuatan sediaan histologi untuk diamati dan dianalisis. ANAVA digunakan untuk membandingkan persentase sel goblet antara ketiga kelompok perlakuan dan tingkat kemaknaan yang digunakan besarnya 0,05. Bila terdapat perbedaan rata-rata persentase sel goblet yang bermakna antara ketiga kelompok perlakuan, analisis dilanjutkan dengan menggunakan *multiple comparison* dari Tuckey.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil pengukuran berat badan mencit sebelum perlakuan dan selama perlakuan dengan asap rokok disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata berat badan mencit sebelum perlakuan, minggu pertama, kedua dan ketiga perlakuan

Hari	Rata-rata Berat Badan (gram)				
	K ⁺	K ⁻	K ¹	K ²	K ³
0	30,5	28,8	28	29,3	29
7	33,1	31,3	31,2	30,7	32,6
14	29,0	35,7	30,6	32,4	34,3
20	28,8	38,8	29,6	34,5	38,0

Ket : K⁺ = kontrol positif, mencit diberi perlakuan dengan asap rokok
K⁻ = kontrol negatif, mencit tidak mendapat perlakuan dengan asap rokok
K¹ = injeksi vitamin C 30 menit sebelum perlakuan dengan asap rokok
K² = injeksi vitamin C 60 menit sebelum perlakuan dengan asap rokok
K³ = injeksi vitamin C 90 menit sebelum perlakuan dengan asap rokok

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa di akhir perlakuan (hari ke-20) kelompok dengan rata-rata berat badan tertinggi adalah kelompok kontrol negatif (K⁻) yaitu 38,8 gram dan kelompok yang diberi injeksi vitamin C 90 menit sebelum perlakuan dengan asap rokok (K³) yaitu 38,0 gram. Mencit yang diinjeksi vitamin C 90 menit sebelum perlakuan mengalami penambahan berat badan lebih besar bila dibandingkan dengan mencit yang diinjeksi vitamin C 60 menit sebelum perlakuan, sedangkan mencit yang diinjeksi vitamin C 60 menit sebelum perlakuan mengalami penambahan berat badan yang lebih tinggi dibandingkan mencit yang diinjeksi vitamin C 30 menit sebelum perlakuan. Keadaan ini menunjukkan adanya pengaruh waktu pemberian terhadap efektivitas vitamin C dalam melindungi tubuh dan meredam efek toksisitas asap rokok. Waktu pemberian vitamin C yang lebih efektif adalah 90 menit sebelum perlakuan.

Penurunan berat badan pada mencit yang diberi perlakuan disebabkan oleh kandungan zat *hunger suppressant* (penunda rasa lapar) pada rokok, sehingga frekuensi dan kuantitas makan berkurang. Hal ini menyebabkan mencit rentan terhadap penyakit dan cenderung mengalami penurunan berat badan (Anonymous, 2009). Nikotin yang terdapat didalam rokok juga menyebabkan pembuluh darah kapiler mengerut, akibatnya pasokan makanan dan oksigen berkurang (Tommy, 2009). Dari hasil penelitian diketahui bahwa pemberian injeksi vitamin C dengan waktu yang berbeda sebelum perlakuan dengan asap rokok mempengaruhi penambahan berat badan mencit. Menurut Anonymous (2009) vitamin C mampu melindungi tubuh dari radikal bebas yang dihasilkan oleh asap rokok sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan tubuh yang menyebabkan penurunan berat badan. Waktu pemberian vitamin C yang paling efektif adalah 90 menit sebelum perlakuan dengan asap rokok.

Hasil pengamatan histologi sel goblet dapat dilihat pada Tabel 2. Analisis *multiple comparison* dari Tuckey menunjukkan rata-rata persentase sel goblet kelompok yang hanya diberi asap rokok (K⁺) berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif (K⁻) dan kelompok yang diberi suntikan vitamin C 90 menit sebelum perlakuan (K³). Sedangkan rata-rata persentase sel goblet antara kelompok K¹ dan K² tidak berbeda nyata.

Rata – rata jumlah sel goblet dalam 100 sel epitel pada kelompok kontrol positif yang tidak mendapat suntikan vitamin C adalah $41,25 \pm 4,99$, meningkat dari jumlah sel goblet pada kontrol negatif yaitu $21,50 \pm 2,65$.

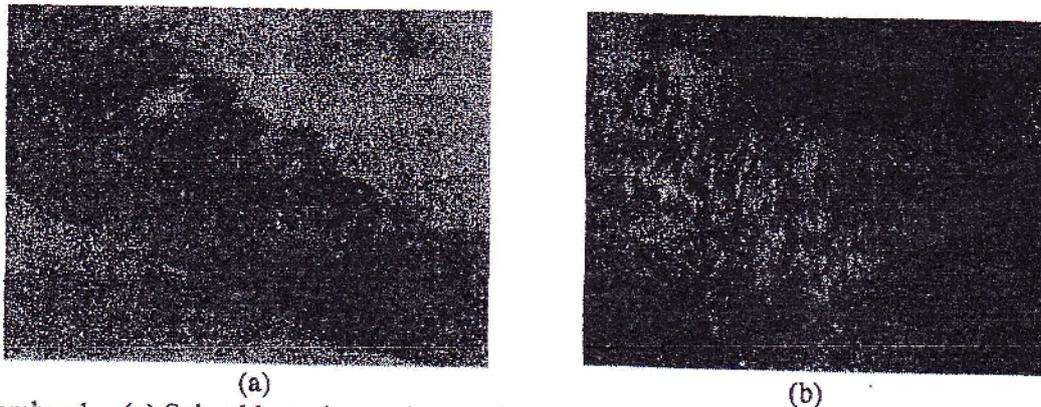
Tabel 2. Rata-rata persentase sel goblet antara kelima kelompok perlakuan

Perlakuan	K ⁺ (n=4)	K ⁻ (n=4)	K ¹ (n=4)	K ² (n=4)	K ³ (n=4)
Sel goblet (%)	$41,25 \pm 4,99^a$	$21,50 \pm 2,65^b$	$35,50 \pm 2,08^a$	$31,25 \pm 1,89^a$	$22,00 \pm 1,71^b$

Ket : Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji *multiple comparison* dari Tuckey

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa jumlah sel goblet pada kelompok hewan uji yang diberi vitamin C 30 dan 60 menit sebelum perlakuan asap rokok tidak berbeda nyata dengan jumlah sel goblet pada kelompok kontrol positif, diduga karena vitamin C yang diberikan belum dapat terserap oleh darah sehingga belum mencapai organ target yaitu saluran pernapasan. Mekanisme kerja vitamin C sebagai antioksidan adalah sebagai pemberi atom hidrogen. Donor hidrogen dari vitamin C ini akan mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang lebih stabil sebelum merusak epitel saluran pernapasan. Sementara radikal antioksidan (radikal askorbil) yang dihasilkan memiliki keadaan lebih stabil dan dapat saling bereaksi membentuk produk non radikal (Silalahi, 2002).

Perlakuan dengan asap rokok menyebabkan terjadinya hiperplasia sel goblet. Perbedaan antara sel goblet trakea yang mendapat perlakuan dengan yang tidak mendapat perlakuan asap rokok dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. (a) Sel goblet trakea pada mencit kontrol positif (x 400)
 (b) Sel goblet trakea pada mencit kontrol negatif (x 400)

Radikal bebas yang berasal dari asap rokok merangsang permukaan sel saluran pernapasan sehingga mengakibatkan keluarnya mukus. Kristianti (2004) menyatakan bahwa terdapat kelainan akibat radikal bebas pada pemaparan asap rokok subkronik berupa rusaknya silia pada permukaan epitel saluran pernapasan, adanya metaplasia epitel, hiperplasi kelenjar, dan terjadi peningkatan sel-sel radang.

Pemaparan asap rokok pada saluran napas akan menyebabkan perubahan dari “nonsecretory” sel menjadi sel yang dapat mensekresi mukus (Borchers, 1999). Hiperplasia sel goblet menyebabkan terjadinya peningkatan sekresi mukus. Selain itu paparan asap rokok

juga menyebabkan berkurangnya jumlah sel epitel bersilia. Hal ini dapat menyebabkan tertimbunnya mukus (Duker, 2003).

Menurut Komori *et al.* (2001) pemaparan berulang terhadap asap rokok menyebabkan terjadinya peningkatan indeks mitosis pada epitel saluran pernapasan tikus yang akhirnya mengakibatkan hiperplasia dan hiperplasia sel goblet akan menyebabkan terjadinya peningkatan sekresi mukus. Duker (2003) juga menyatakan bahwa jumlah sel epitel bersilia dapat berkurang akibat paparan asap rokok. Sel epitel bersilia berfungsi mendorong mukus keluar dari saluran pernapasan.

Jumlah sel goblet pada pemberian vitamin C 30 dan 60 menit sebelum perlakuan dengan asap rokok tidak berbeda nyata dengan sel goblet pada kelompok kontrol positif. Sedangkan berbeda secara bermakna dengan jumlah pemberian vitamin C 90 menit sebelum perlakuan menunjukkan penurunan jumlah rata-rata persentase sel goblet secara bermakna.

Penurunan jumlah sel goblet dengan pemberian vitamin C menunjukkan efektifitas antioksidan vitamin C dalam menangkal radikal bebas yang disebabkan oleh asap rokok. Lawrence dalam Khairani (2008) menyatakan bahwa vitamin C mempunyai sifat polaritas yang tinggi, karena banyak mengandung gugus hidroksi sehingga mudah larut dalam air dan hanya bertahan beberapa jam saja didalam tubuh. Efek antioksidan vitamin C erat hubungannya dengan kecepatan penyerapan vitamin C tersebut kedalam darah. Kecepatan penyerapan zat pada injeksi melalui intra muscular sangat tergantung pada ukuran zat yang tersuspensi (vitamin C) dan kecepatan aliran darah (Ahyari, 2007).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa asap rokok merupakan salah satu pemicu hiperplasia sel goblet pada saluran pernapasan. Vitamin C yang diberikan 90 menit sebelum perlakuan dengan asap rokok ternyata dapat melindungi epitel saluran napas dengan cukup baik, sehingga jumlah sel goblet yang terbentuk menjadi berkurang yaitu dari $41,25 \pm 4,99$ menjadi $22,00 \pm 1,71$. Selain terhadap sel goblet, pemaparan asap rokok juga menyebabkan penurunan berat badan dan mempengaruhi kondisi morfologi serta fisiologi hewan uji yaitu, lensa mata menjadi buram, kerontokan rambut, gigi berwarna coklat, napas pendek dan dangkal, serta mobilitas lambat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous 1. 2001. Tangkal radikal bebas dengan antioksidan. www.pikiranrakyat.com (25 Februari 2009).
- Anonimous 3. 2009. Vitamin C. www.wikipedia.com. (17 Februari 2009).
- Anonimous 5. 2008. Goblet cells. www.wikipedia.com (16 Februari 2009).
- Ahyari, J. 2007. Pengaruh cara pemberian terhadap absorpsi obat. *Skripsi*. Banjarmasin: FMIPA Universitas Lambung Mangkurat.
- Arief, S. 2004. Radikal bebas. <http://www.pediatrik.com> (16 Februari 2009).
- Arkeman, Haslavina & David. 2006. Efek vitamin C dan E terhadap sel goblet saluran nafas pada tikus akibat pajanan asap rokok. *Jurnal Kedokteran Trisakti* 25: 61-66.
- Borchers & Michael, T. 1999. Monocyte inflammation augments acrolein-induced Muc5ac expression in mouse lung. <http://ajplung.physiology.org/cgi/content/full/277/3/L489> (12 Desember 2009).
- Duker, N. 2003. The Lung. <http://podiatry.temple.edu/2006/Pathology/> (12 Desember 2009).
- Hutagalung, J. 2009. Dampak fisiologis merokok. Wordpress.com. ac (05/12/2009).

- Khairani, M.** 2008. Pengaruh pemberian wortel (*Daucus carota*) terhadap jumlah sel radang limfosit submukosa bronkiolus tikus (*Rattus Novergicus*). *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Komori, M., Inoue, H., Matsumoto, K., Koto, H., Fukuyama S., Aizawa, H. & Hara, N.** 2001. PAF mediates cigarette smoke-induced goblet cell metaplasia in Guinea Pig Airways. *Physiology Lung Cell Journal* 280: 436-441.
- Kristianti, C.** 2004. Pengaruh tempe kedelai terhadap struktur histopatologis bronkus dan bronkiolus tikus *Rattus novergicus* galur Wistar yang dipapar asap rokok subakut. *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Manshiro.** 2008. Bahaya merokok. wordpress.com (12 Desember 2009).
- Pamela, R.** 2009. Masalah rambut dan kulit kepala pria. wordpress.com (08 Januari 2010)
- Purwantoko, A. & Agnes, N.I.H.** 2002. Validasi metoda deoksiribosa sebagai uji penangkapan radikal hidroksil oleh vitamin C secara invitro. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Revilla, G.** 2002. Daya proteksi vitamin C terhadap radikal bebas yang ditimbulkan oleh Karbon Tetra Klorida (CCL4) pada tikus ditinjau dari kadar Malondialdehid (MDA) hepar. *Jurnal Penelitian Andalas* 14: 10-17
- Sahputra, S.** 2004. Radikal bebas. <http://www.sehatalami.com> (16 Februari 2009).
- Silalahi, J.** 2002. *Makanan Fungsional*. Jakarta: Kanisius.
- Stavropoulos, A., Metsios G., Panoulas, V.F., Douglas, K., Nevill, A.M., Jamurtas, A.Z., Kita, M., Koutedakis, Y. & Kitas, G.D.** 2008. Cigarette smoking associates with body weight and muscle mass of patients with rheumatoid arthritis: A Cross-sectional, observational study. *Arthritis Res. There Journal* 10 (3).
- Tommy.** 2009. Pengaruh rokok terhadap kecantikan wanita. wordpress.com (16 Februari 2009)
- Yueniwati, Y. & Ali, M.** 2004. Pengaruh paparan asap rokok kretek terhadap peroksidasi lemak dan sistem proteksi dismutase hepar tikus Wistar. *Jurnal kedokteran YARSI*. 12: 85-92.