

PENGARUH VITAMIN C TERHADAP EFEK PAPARAN ASAP ROKOK PADA KONDROSIT TULANG RAWAN TRAKEA TIKUS PUTIH

Bambang Sumantri*

Abstract

Each suction cigarette smoke contains free radicals 10^{15} and a substance that can trigger the formation of free radicals in the lung tissue. Tracheal cartilage is part of the respiratory system. Tracheal cartilage damage can be detected from the cell kondrosit elements. Vitamin C as an anti-oxidant has been shown to neutralize the effects of free radicals in the alveoli and the trachea epithelium. The purpose of this study to see if there are changes kondrosit tracheal cartilage from free radicals, and whether these changes can be reduced by vitamin C.

Research carried out experimentally by using post test only control group design. Animal were divided into six groups, each consisting of three white rats Wistar males, adult weighing 200 to 300 grams. Treatment was conducted over 6 months and the animal becoming divided six groups. Group 1 did not dipapr cigarette smoke, and were not given vitamin C, the group exposed to cigarette smoke 2-6 sticks 1 every day for six months while the other group exposed to smoke 3-6 cigarettes are also given vitamin C with different doses of 0.05, 0, 10, 0.20 and 0.40 mg / g BW / day. Cigarette smoke exposure using a pump smoking while giving vitamin C using the sonde to mice stomach.

Rat trachea taken a third of the middle, making preparations for HE. In HE preparations observed kondrosit quality paint that is the nature of the cytoplasm and nucleus, the diameter kondrosit and the ratio of cells: nucleus.

The results of this study indicate that the increase and decrease DSK RSI is not statistical significant ($p > 0.05$).

Keywords : free radicals, antioxidants, kondrosit, cartilage kondrosit

Abstrak

Setiap hisapan asap rokok mengandung 10^{15} radikal bebas dan bahan yang dapat memicu terbentuknya radikal bebas di dalam jaringan paru-paru.. Tulang rawan trakea adalah bagian dari sistim respirasi. Kerusakan tulang rawan trakea dapat di deteksi dari unsur selnya yaitu kondrosit. Vitamin C sebagai anti oksidan telah terbukti mampu menetralsir efek radikal bebas pada alveoli dan epitel trakea. Tujuan penelitian ini untuk melihat apakah terdapat perubahan kondrosit tulang rawan trakea akibat radikal bebas dan apakah perubahan tersebut dapat diperkecil dengan pemberian vitamin C.

Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan post test only control group design. Hewan coba dibagi dalam enam kelompok yang masing-masing terdiri dari tiga ekor tikus putih Wistar jantan, dewasa dengan berat badan 200 – 300 gram. Perlakuan dilaksanakan selama 6 bulan dan hewan coba dibagi mejadi enam kelompok. Kelompok 1 tidak dipapr asap rokok, dan tidak diberi vitamin C, kelompok 2-6 dipapar asap rokok 1 batang setiap hari selama enam bulan sedangkan kelompok 3-6 selain dipapar asap rokok juga diberi vitamin C dengan dosis yang berbeda yaitu 0,05, 0,10, 0,20 dan 0,40 mg/g BB/hari. Pemaparan asap rokok dengan menggunakan smoking pump sedangkan pemberian vitamin C menggunakan sonde sampai kelambung tikus.

Trakea tikus diambil sepertiga bagian tengah, untuk pembuatan preparat HE. Pada preparat HE diamati kualitas kondrosit yaitu sifat pengecatan sitoplasma dan bentuk inti, diameter kondrosit (DSK) dan rasio sel : inti (RSI).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan DSK dan penurunan RSI secara statistic tidak bermakna ($p > 0,05$).

Kata kunci : radikal bebas, antioksidan, kondrosit, kondrosit tulang rawan

* Staff Akademik Pada Fakultas Kedokteran
Universitas Brawijaya Malang

PENDAHULUAN

Asap rokok mengandung bahan yang berbentuk partikel antara lain tar, nikotin dan polisiklik hidrokarbon aromatic. Salah satu komponen hidrokarbon aromatic di dalam asap rokok adalah benzapirin, merupakan bahan yang bersifat genotoxic dan prokarsinogenik (Casarett,1980). Sedangkan yang berbentuk gas antara lain CO, CO₂, asetaldehid, vinyl klorida, NO^o dan NO₂^o. Setiap hisapan asap rokok mengandung 10¹⁵ radikal bebas (Halliwell,1999). Kandungan asap rokok menyebabkan iritasi kronis pada sistem pernafasan..

Tulang rawan trakea bersifat elastis, berfungsi mempertahankan lumen agar tetap terbuka dan membantu ekspirasi kuat serta pada waktu batuk. Elastisitas tulang rawan dipengaruhi oleh matriks ekstraseluler dan kondrosit. Nutrisi kondrosit diperoleh dari difusi melalui matriks ekstraseluler yang dipelihara oleh kondrosit (Fawcett,1986).. Antioksidan yang telah terbukti mampu menetralkan efek radikal bebas adalah vitamin C dan vitamin E.

METODE

Penelitian dilakukan dengan memakai hewan percobaan Ratus Novergicus Strain Wistar jenis kelamin jantan, dewasa, umur 2-3 bulan, berat badan 150-250 gram. Penelitian dilakukan di laboratorium Farmakologi, Patologi Anatomi dan Biomedik FK. Unibraw..

Penelitian dilakukan secara eksperimental di dalam laboratorium dengan menggunakan rancangan acak sederhana *post test only control group design* (Pratiknya, 1993). Hewan coba diberi vitamin C intragastrik dengan berbagai dosis dan asap rokok kretek yang terkenal yaitu Gudang Garam Merah tanpa filter secara kronis.

Tikus secara acak dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. 1 (satu) kelompok sebagai kontrol tidak diberi vitamin C dan tidak dipapar asap rokok. Satu kelompok hanya dipapar asap rokok sedangkan empat kelompok lainnya diberi vitamin C dan dipapar asap rokok. Vitamin C diberikan intragastrik dengan 5. dosis yang berbeda untuk tiap kelompoknya. Dosis dimulai dari 0,05 – 0,40 mg/gram berat badan tikus (Subandi, 1988).

Pemberian vitamin C dilakukan pagi jam 7⁰⁰ sedangkan pemaparan asap rokok pada siang hari jam 14⁰⁰. masing-masing perlakuan diulang 3 (tiga) kali dengan setiap unit percobaan 1 (satu) ekor hewan coba. Kedua macam perlakuan dilaksanakan selama 24 minggu pada jam yang sama.

Diakhir minggu ke 24 dilakukan pembedahan untuk mengambil jaringan trakea yang kemudian dibuat preparat slide patologi anatomi untuk pengecatan dengan HE. Terhadap kondrosit yang sitoplasmanya memenuhi lakuna dan tampak intinya dilakukan pengukuran diameter kondrosit dan rasio diameter kondrosit dengan inti.

Analisa data

Data yang diperoleh dianalisa secara diskriptif untuk kualitas kondrosit tulang rawan trakea. Analisa non parametrik dilakukan untuk melihat korelasi antara perlakuan dengan perubahan yang terjadi pada kondrosit tulang rawan trakea. Data ditabulasikan sesuai dengan kelompok kemudian dianalisa dengan paired t-test.

HASIL PENELITIAN

Sediaan trakea tikus yang dicat dengan metode HE diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Pengamatan dilakukan terhadap kondrosit yang memenuhi lakuna dan intinya tampak jelas. Pengamatan pada preparat kontrol tampak perbedaan ukuran kondrosit bagian tengah dan ujung. Demikian juga untuk yang terpapar asap rokok. Sitoplasma kondrosit kelompok kontrol tampak tercat basofil sedangkan untuk preparat kelompok yang dipapar asap rokok tercat asidofil. Inti kondrosit pada kelompok kontrol berbentuk oval/bulat sedangkan inti kondrosit kelompok yang dipapar asap rokok tampak piknosis sampai karyolisis.

Gambaran Mikroskopis Kondrosit Tulang Rawan Trakea Hewan Percobaan

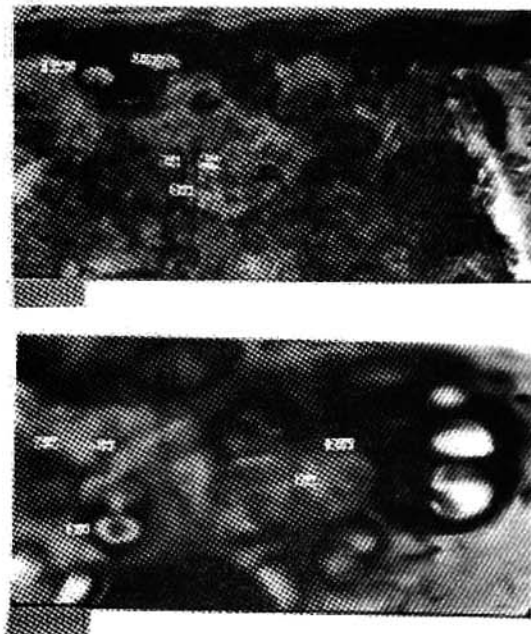
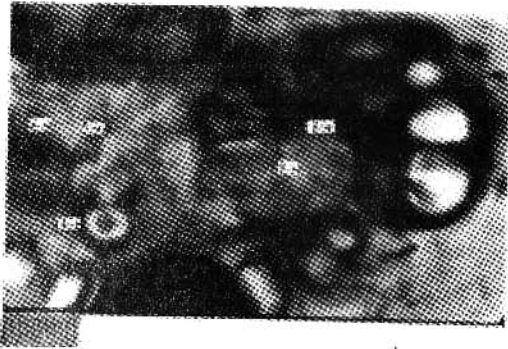


Fig. 3. Tulang rawan trakea tikus yang hanya dipapar asap rokok. A bagian tengah, B bagian ujung. 1) kondrosit periseluler tebal dan kompak, 2) inti karyolitik, 3) sitoplasma asidofil, 4) protein, 5) protein, 6) protein, 7) protein. Perbesaran: 400x, pembesaran: 400x.



Gambar 2. Trakea tikus tikus tidak terpapar asap rokok. A bagian tengah, B bagian ujung. 1) trakea bagian tengah tidak terkonsepsi, 2) sel karyotoksik, 3) sel mitosis normal, 4) sel normal, 5) sel normal. Perbesaran 10x, perolehan 400x.

Hasil pengukuran diameter kondrosit (DSK), rasio sel dan inti kondrosit (RSI) terlihat pada tabel 2.

Tabel-1 Diameter kondrosit dan rasio sel-inti jaringan tulang rawan trakea dibagi menurut kelompok kontrol (A) dan kelompok yang dipapar asap rokok (B).

No	Variabel	Perlakuan		t-score	p
		Kontrol (A)	Asap Rokok (B)		
1	Diameter sel kondrosit (DSK)	8,06 ± 0,51	8,18 ± 0,87	0,21	0,86
	• Diameter sel bag. Tengah	6,57 ± 0,91	7,19 ± 1,08	0,76	0,49
	• Diameter sel bag. Ujung	9,55 ± 0,67	9,17 ± 1,47	-0,35	0,76
2	Rasio sel-inti (RSI)	3,29 ± 0,18	3,42 ± 0,25	0,76	0,49
	• Rasio S/I bag. Tengah	2,85 ± 0,23	3,35 ± 0,49	1,60	0,19
	• Rasio S/I bag. Ujung	3,73 ± 0,39	3,50 ± 0,42	-0,70	0,52

Pada tabel-1 ternyata rata-rata DSK dan RSI kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan yang dipapar asap rokok.

Untuk membandingkan kondisi kondrosit tulang rawan trakea bagian tengah dan ujung maka dilakukan uji beda rata-rata DSK dan RSI secara statistik dengan hasil yang dapat dilihat pada tabel-2.

Tabel-2 : Beda rata-rata diameter kondrosit, rasio sel-antara jaringan tulang tawan bagian tengah dengan bagian ujung ($n_{kontrol} = 3$; $n_{rokok} = 3$).

no	Variabel	Rerata dan Std Dev			t-score	p
		Tengah	Ujung	Selisih		

A. Kelompok kontrol (tak terpapar asap rokok)

1	Diameter sel (DSK)	6,57±0,91	9,55±0,67	2,97±1,23	4,18	0,05*
2	Rasio Sel : Inti (RSI)	2,85±0,23	3,73±0,39	0,87±0,53	2,87	0,10

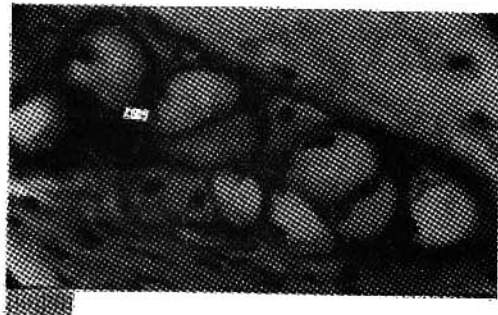
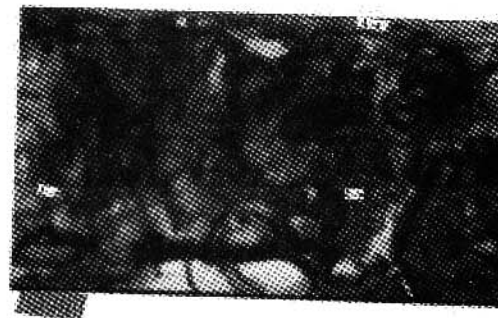
B. Kelompok terpapar asap rokok

1	Diameter sel (DSK)	7,19±1,08	9,17±1,74	1,98±2,31	1,49	0,28
2	Rasio Sel : Inti (RSI)	3,35±0,49	3,50±0,42	0,14±0,77	0,33	0,77

Dengan paired t-test terhadap data tabel-2:

Diameter kondrosit bagian tengah berbeda dengan ujung baik pada kelompok kontrol maupun terpapar asap rokok. Pada kelompok yang dipapar asap rokok ternyata diameter kondrosit bagian tengah menjadi lebih besar sedangkan diameter bagian ujung menjadi lebih kecil daripada kelompok kontrol. Keadaan ini menimbulkan dugaan adanya perbedaan respons terhadap asap rokok dari tulang rawan bagian tengah dan ujung. Namun perbedaan tersebut pengaruhnya tidak bermakna terhadap rasio sel-inti baik pada kelompok kontrol maupun terpapar asap rokok.

Pada preparat trakea tikus yang dipapar asap rokok dan diberi vitamin C berbagai dosis sitoplasmanya tampak asidofil sampai basofil sedangkan inti selnya ada yang mengalami karyolysis ada pula yang tampak bulat.



Gambar 3. Trakea tikus tikus tidak terpapar asap rokok (tan diberikan vitamin C). A bagian tengah, B bagian ujung. 1) kondrosit normal, 2) sel mitosis normal, 3) sel normal, 4) sel normal. Perbesaran 10x, perolehan 400x.

Untuk melihat lebih jauh efek protektif vitamin C terhadap kondrosit tulang rawan trakea tikus yang dipapar asap rokok dapat dilihat pada tabel-3 dan 4.

Tabel-3. Pengaruh berbagai dosis vitamin C terhadap DSK dan RSI kondrosit tulang rawan trakea bagian tengah.

No	Variabel	Dosis Vitamin C					Kontrol
		0,00	0,05	0,10	0,20	0,40	
1	DSK	7,19±1,08	6,53±0,10	7,29±1,83	7,55±1,32	7,45±0,40	6,57±0,91
2	RSI	3,35±0,49	2,54±0,15	3,19±0,25	3,46±0,46	3,20±0,26	2,85±0,23

Tabel -4 Pengaruh berbagai dosis vitamin C terhadap DSK dan RSI kondrosit tulang rawan trakea bagian ujung

No	Variabel	Dosis Vitamin C					Kontrol
		0,00	0,05	0,10	0,20	0,40	
	DSK	9,17±1,74	8,16±0,73	8,90±0,39	9,50±1,22	9,72±0,51	9,55±0,67
	RSI	3,50±0,42	3,38±0,98	3,24±0,53	3,89±0,36	4,35±1,32	3,73±0,39

Tabel-3 dan 4 diatas menunjukkan efek pemberian vitamin C terhadap DSK dan RSI tulang rawan trakea bagian tengah dan ujung. Awalnya menurunkan diameter kondrosit dan akhirnya secara bertahap meningkat sampai melebihi kelompok kontrol.

PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian eksperimental tentang pengaruh pemberian vitamin C terhadap efek paparan asap rokok pada kondrosit tulang rawan trakea tikus putih. Pada preparat mikroskopis yang dicat dengan HE dipilih kondrosit yang memenuhi syarat untuk dilakukan pengukuran diameter kondrosit (DSK) dan rasio sel-inti (RSI) dan dianalisa secara non parametrik.

Perbedaan diameter kondrosit bagian tengah dengan bagian ujung pada kelompok kontrol seperti terlihat pada tabel -2 dapat dijelaskan berdasarkan teori pertumbuhan. Tulang rawan tumbuh secara aposisionil dan intersisiel. Pertumbuhan intersisiel terjadi di tulang rawan bagian sentral dan berhenti setelah dewasa yang selanjutnya diikuti oleh proses regresi. Sedangkan bagian ujung dan perifer terjadi secara aposisionil. Pertumbuhan memerlukan aktifitas metabolisme yang tinggi dan aktifitas tersebut dapat dilihat dari sitoplasma kondrosit yang tercat basofil.

Perbedaan diameter kondrosit kelompok kontrol dan yang dipapar asap rokok seperti pada Tabel-3 mungkin disebabkan oleh adanya perbedaan respons kondrosit terhadap asap rokok. Sitoplasma kondrosit tulang yang dipapar asap rokok tampak asidofil dan intinya tampak piknosis sampai karyolisis menunjukkan adanya kerusakan kondrosit akibat paparan asap rokok..

Efek pemberian vitamin C berbagai dosis terhadap DSK dan RSI kondrosit tulang rawan trakea tikus yang dipapar asap rokok pada awalnya menurunkan diameter kondrosit dan akhirnya secara bertahap meningkat sampai melebihi

kelompok kontrol. Vitamin C sebagai antioksidan nampaknya dapat menetralkan radikal bebas yang berada di sitosol dan membran lipid bilayer. Efek proteksi vitamin C mulai dosis 0,05 – 0,40 mg/g BB dapat diikuti melalui preparat HE berupa perubahan diameter kondrosit dan bentuk inti. Peningkatan dosis vitamin C meningkatkan diameter kondrosit merupakan manifestasi dari peningkatan aktifitas kondrosit dalam mempertahankan kualitas matriks ekstraseluler. Peningkatan aktifitas kondrosit dapat dilihat dan rasio sel : inti sampai lebih besar dari kelompok kontrol pada tulang rawan trakea bagian tengah maupun ujung. Peningkatan diameter kondrosit terpapar asap rokok banyak yang mengalami karyolisis, sedangkan yang diberi vitamin C menjadi banyak yang oval/bulat.

Untuk lebih memastikan efek proteksi vitamin C terhadap tulang rawan trakea maka perlu penelitian lebih lanjut.

pada preparat HE yang berupa perubahan sifat pengecatan sitoplasma dari asidofil menjadi basofil. Bentuk inti pada preparat dalam

KESIMPULAN :

Terjadi kerusakan kondrosit tulang rawan trakea akibat paparan asap rokok pada tikus putih. Pemberian vitamin C dapat mencegah kerusakan kondrosit.

SARAN :

Perlu penelitian lebih lanjut untuk melihat pengaruh asap rokok dan pemberian vitamin C terhadap tulang rawan trakea.

DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, B. (1994) *Molecular Biology of The Cell*. Garland Publishing, Inc., New York.
- Ausubel, F.M., Brent R, Kingston. (1992) *Short Protocols in Molecular Biology*. Second Edition. John Wiley & Sons. New York.
- Bullock, Barbara L. (1996) *pathophysiology Adaptation and Alterations in Function*. Lippincott Philadelphia.
- Cotran, Ramzi S. et al. (1999) *Robbin's Pathology Basis of Disease*. Isaander Company, Philadelphia.
- Casarett & Doull (1980) *Toxicology, The Basic Science of Poisons*. Macmillan Publishing CO., Inc. New York.
- Favier, A.E. et al. (1995) *analysis of Free radicals in Biological Systems*. Birkhauser, Boston.

- Fawcett, Don W. (1986) *A TextBook of Histology*. 11th ed. W.D. Saunders Co. Igaku-Shoin, Tokyo
- Halliwell, B. (1999) *Free Radical in Biology and Medicine*, 2nd ed. Clarendon Press, Oxford.
- Ham, Arthur W. et.al. (1979) *Histology*. 8th ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
- Hotts, Steven W. (1998) To die or not die, *An overview of apoptosis and its role in disease*. *Jama*, pp. 278, 300-307.
- Kelly, Douglas E. et. al. (1984) *Bailey' textbook of Microscopic Anatomy*. 18th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Kuettner, Klaus E. et. al. (1991) *Articular Cartilage and Osteoarthritis*. Raven Press, New York.
- Luna G. Lee, 1968 *Manual of Histologic Staining Methodes of the Armed Forces nstitute of Pathology*. 3rd ed. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Murray K, Robert et al. (1995) *Biokomia Harper (Harper's Biochemistry)* ed 22. EGC Jakarta.
- Napitupulu, O (1999) *Efek berbagai dosis vitamin C terhadap perubahan struktur epitel trakea tikus putih yang dipapar dengan asap rokok*. Tesis PPS UNIBRAW Malang.
- Poli, G. et. Al. (1994) *Free Radicals From Basic Science to Medicine*. Birkhauser Verlag, Berlin.
- Pratiknya A.W. (1993) *Dasar Dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. PT Raja Grafindo, Jakarta
- Sani, A. (1991) *Rokok, Kesehatan dan Generasi Muda, Seminar Nasional tentang Peraturan dan Kebijakanaksanaan merokok di tempat-tempat dan transportasi umum*, Jakarta.
- Sanjoto, P (1999) *Pengaruh pemberian vitamin C terhadap diameter alveoli dan pola pita protein jaringan paru tikus yang dipapar dengan asap rokok kronis*. Tesis PPS UNIBRAW Malang.
- Subandi, (1988) *Efek antioksidan (vitamin C) terhadap jumlah dan fungsi makrofag alveoli serta kadar SOD jaringan paru tikus yang dipapar dengan asap rokok kronis*. Tesis, PPS UNIBRAW Malang
- Tarr, Mcriril et. al. (1993) *Oxygen Free Radicals in Tissue Damage*. Birckhauser Birkhauser Verlag, Berlin.
- Wilson, Jean D. et. Al. (1991) *Principles of Internal Medicine*, 12th ed. McGraw-Hill, Inc. United States of America.
- Widodo, M.A. (1996) *Radikal bebas perannya Dalam Patogenesis Penyakit dan Penuaan*. Seminar Sehari Free Padical Update, Semarang.
- Widodo, M.A. (1996) *Aspek Biologi molekuler Penyakit Degeneratif dan Proses Menua*. Lab. Biomedik FK. Unibraw.
- Wijaya, A. (1996) *Radikal bebas dan parameter status antioksidan*. Seminar sehari free radical update, Semarang.
- Wolfe S.L. (1993) *Molecular and Cellular Biology*. Wadsworth PublishingCompany, California.
- Zenmyo, Michihisa et. Al. (1996) *Morphological and biochemical evidence for apoptosis in the terminal hypertrophic chondrocytes of the growth plate*. *Journal of Pathology* 180, 430-433.