

**PENGARUH KONSENTRASI NIKOTIN PADA PENGGUNAAN VAPOR
TERHADAP GAMBARAN HISTOMORFOLOGI ALVEOLUS TIKUS JANTAN
STRAIN WISTAR**

Karya Tulis Ilmiah

**untuk Memenuhi Sebagai Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran**

**Program Studi Kedokteran
Program Sarjana**



Oleh:

**Rifqi Firdaus
18711102**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2022**

**THE EFFECT OF NICOTINE CONCENTRATION ON THE USE OF VAPORS
ON HISTOMORPHOLOGY OF THE ALVEOLUS IN MALE RATS WISTAR
STRAIN**

Scientific Writing

as A Requirement for the Degree of Undergraduate Program in Medicine

Undergraduate Program in Medicine



by:

**Rifqi Firdaus
18711102**

**FACULTY OF MEDICINE
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2022**

HALAMAN PENGESAHAN

**PENGARUH KONSENTRASI NIKOTIN PADA PENGGUNAAN VAPOR
TERHADAP GAMBARAN HISTOMORFOLOGI ALVEOLUS TIKUS JANTAN
STRAIN WISTAR**

Karya Tulis Ilmiah

Disusun dan Diajukan oleh:

**Rifqi Firdaus
18711102**

**Telah diseminarkan tanggal 27 Mei 2022
dan telah disetujui oleh**

Penguji

**dr. Kuswati, M.Sc
NIK 037110410**

Pembimbing

**dr. Dwi Nur Ahsani, M. Sc
NIK 077110425**

**Ketua Program Studi Kedokteran
Program Sarjana**

**dr. Umatul Khoiriyah, M. Med.Ed., Ph.D.
NIK 047110101**



**Disahkan
Dekan**

**dr. Linda Rdsita, M.Kes., Sp.PK(K)
NIK 01711010**

PERNYATAAN PUBLIKASI

Bismillahirrahmaanirrahiim

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya

Nama : Rifqi Firdaus
NIM : 18711102
Judul KTI : PENGARUH KONSENTRASI NIKOTIN PADA
PENGUNAAN VAPOR TERHADAP GAMBARAN
HISTOMORFOLOGI ALVEOLUS TIKUS JANTAN
STRAIN WISTAR

Dosen Pembimbing : dr. Dwi Nur Ahsani, M. Sc

Dengan ini menyatakan bahwa (pilihan diberi tanda \surd) :

Memberi Ijin kepada Perpustakaan FK UII mempublikasikan di repository UII berupa seluruh bagian Laporan KTI (tanpa lampiran).

Memberi Ijin kepada Perpustakaan FK UII mempublikasikan di repository UII berupa Abstrak saja karena akan dipublikasikan di jurnal.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 03 Juni 2022

Pembimbing



dr. Dwi Nur Ahsani, M. Sc
077110425

Yang Menyatakan



Rifqi Firdaus
18711102

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN PUBLIKASI.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
KATA PENGANTAR.....	x
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Keaslian Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Telaah Pustaka.....	5
2.1.1 Vapor.....	5
2.1.2 Nikotin.....	6
2.1.3 Histomorfologi Alveolus.....	7
2.1.4 Hubungan Konsentrasi Nikotin terhadap Perubahan Histomorfologi Alveolus.....	8
2.2 Kerangka Teori.....	10
2.3 Kerangka Konsep Penelitian.....	10
2.4 Hipotesis.....	10
BAB III. METODE PENELITIAN.....	11
3.1 Jenis dan Desain Penelitian.....	11
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	11
3.3 Populasi dan Subjek Penelitian.....	11
3.3.1 Populasi Penelitian.....	11
3.3.2 Kriteria Inklusi.....	11
3.3.3 Kriteria Eksklusi.....	11
3.3.4 Teknik Pengambilan Sampel.....	12
3.3.5 Besar Sampel.....	12
3.4 Variabel Penelitian.....	12
3.4.1 Variabel Bebas.....	12
3.4.2 Variabel Terikat.....	13
3.4.3 Variabel Kontrol.....	13
3.5 Definisi Operasional.....	13
3.5.1 Gambaran Histomorfologi Alveolus.....	13
3.5.2 Konsentrasi Nikotin.....	13
3.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	14
3.6.1 Alat.....	14
3.6.2 Bahan.....	14
3.7 Protokol dan Alur Penelitian.....	14
3.7.1 Protokol Pembuatan Preparat Paru Tikus.....	14
3.7.2 Pembacaan Preparat Paru Tikus.....	14
3.7.3 Bagan Alur Penelitian.....	15
3.8 Analisis Data.....	15
3.9 Etika Penelitian.....	15
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	16

4.1 Hasil Penelitian.....	16
4.1.1 Gambaran Histomorfologi Alveolus	16
4.2 Pembahasan	19
4.2.1 Limitasi Penelitian.....	21
BAB V. SIMPULAN & SARAN	22
5.1 Simpulan	22
5.2 Saran.....	22
DAFTAR PUSTAKA.....	23
LAMPIRAN	27

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Keaslian Penelitian	3
Tabel 2. Skor Derajat Kerusakan Jaringan Paru-Paru	13
Tabel 3. Pengamatan Deskriptif.....	16
Tabel 4. Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> dan <i>post hoc</i>	18
Tabel 5. Hasil Uji <i>Mann-Whitney U</i>	19

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Histologi Alveolus.....	8
Gambar 2. Perubahan Histologi Alveolus	9
Gambar 3. Kerangka Teori	10
Gambar 4. Kerangka Konsep	10
Gambar 5. Alur Penelitian.....	15
Gambar 6. Hasil Perubahan Histomorfologi Alveolus Pasca Intervensi.....	17
Gambar 7. Gambaran Kerusakan Struktur Alveolus	18

HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Rifqi Firdaus
NIM : 18711102
Judul KTI : Pengaruh Konsentrasi Nikotin Pada Penggunaan Vapor Terhadap
Gambaran Histomorfologi Alveolus Tikus Jantan Strain Wistar
Pembimbing : dr. Dwi Nur Ahsani, M.Sc

Menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini merupakan hasil **sendiri dan bukan hasil** plagiasi. Selan itu, dalam KTI ini tidak terdapat karya orang lain kecuali **secara tertulis diacu dalam** naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan **sebenarnya tanpa paksaan atau** tekanan dari pihak manapun. Saya bersedia bertanggung jawab secara hukum **apabila terdapat** hal-hal yang tidak benar dalam penelitian ini.

Yogyakarta, 03 Juni 2022



Rifqi Firdaus
18711102

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah rabbil'alamini, puji syukur dipanjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ini dengan baik. Shalawat dan salam tidak lupa dihaturkan kepada Nabi Muhammad SAW, yang telah membawa manusia dari zaman kegelapan menuju zaman yang terang benderang yakni Islam.

Karya tulis ilmiah (KTI) yang berjudul "Pengaruh Konsentrasi Nikotin Pada Penggunaan Vapor Terhadap Gambaran Histomorfologi Alveolus Tikus Jantan Strain Wistar" disusun sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Kedokteran, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia.

Dalam penulisan karya tulis ilmiah ini tidak luput dari bantuan dan dukungan berbagai pihak. Penghargaan dan terima kasih penulis haturkan kepada seluruh pihak yang telah membantu secara langsung dan tidak langsung, khususnya kepada:

1. Fathul Wahid, S.T., M.Sc., Ph.D. selaku Rektor Universitas Islam Indonesia
2. Dr. dr. Linda Rosita, M.Kes., Sp.PK.(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
3. dr. Umatul Khoiriyah, M.Med.Ed., Ph.D. selaku Ketua Program Studi Kedokteran Program Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia
4. dr. Dwi Nur Ahsani, M.Sc selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan masukan serta dukungan kepada penulis.
5. dr. Kuswati selaku dosen penguji yang turut serta memberi masukan sehingga karya tulis ilmiah ini menjadi lebih baik.
6. dr. Zainuri Sabta Nugraha, M.Sc. selaku dosen pembimbing akademik yang membersamai penulis selama masa studi di Fakultas Kedokteran.
7. Kedua orang tua penulis, Bpk. Ir. Drs. Faisal R. M., M.T., Ph.D. dan Ibu Dra. Abriyani Puspaningsih, M.Si. AK., CA., ACPA. yang selalu memberikan doa, dukungan, semangat, dan kasih sayang tidak terhingga sehingga penulis bisa sampai pada titik ini.
8. Kakak penulis, M. Faturachman, S.T., Latifa Isnainiyah Masyitoh, M.T, dan Erlangga Yudha Pradana, S.E., yang selalu menemani hari-hari penulis dan terus menyemangati penulis dalam menjalani perkuliahan.
9. Kelompok Penelitian Efek Paparan Vapor, Ardian Rizky M., Naufal Arif Ismail, Meta, Anisa, Aura, Fajrian, Fathiya, dan Tsaniya yang selalu membersamai penulis terutama ketika penyusunan serta pelaksanaan penelitian ini

10. Teman-teman prelinik penulis yang tak henti memberikan dukungan selama penulis menjalani pembelajaran di fakultas kedokteran Maryam Azizah, Maulfi Natsir Asyari, Faruq Muhammad Syukron, Muhammad Zaky, Herjunanto Nur Priyadi, Katon Pamungkas, Favian Handry Tsany, Agung Bipayana Adi Wibowo, Muhammad Ikhlasul Amal, Marcellino Sabastian Ananta, Talenta Nugroho Suryanto Mahardhika, Jerriullah, Dayu Zaky Nafiano, Qoit Muhammad Abdul Ghalib, Alvin Rahmat Setiawan, Daffa Adhitama Putra, dan Danan Budi Primadi.
11. Teman-teman DPM FK UII Periode 2020/2021 dan Pendpro LEM FK UII Periode 2019/2020 yang selalu memberikan dukungan pada penulis untuk menyelesaikan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih banyak kekurangan. Penulis memohon maaf atas segala kekurangan, kekhilafan, dan keterbatasan yang ada dalam penelitian ini. Semoga karya tulis ilmiah ini memberikan manfaat bagi kita semua. Aamiin.

Wassalamu'alaikum Warahmatullah Wabarakaatuh.

Yogyakarta, 20 Mei 2022



Rifqi Firdaus
18711102

PENGARUH KONSENTRASI NIKOTIN PADA PENGGUNAAN VAPOR TERHADAP GAMBARAN HISTOMORFOLOGI ALVEOLUS TIKUS JANTAN STRAIN WISTAR

Rifqi Firdaus¹, Dwi Nur Ahsani²

¹Mahasiswa Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia

²Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia

Email : personal.rifqifirdaus@gmail.com

INTISARI

Latar Belakang: Vapor atau rokok elektrik menggunakan likuid bernikotin sebagai media penghasil asapnya. Nikotin terinhalasi secara *dose-dependent* ternyata berdampak pada penurunan fungsi respirasi paru-paru karena kerusakan struktur alveolus akibat keadaan stress oksidatif.

Tujuan Penelitian: Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh konsentrasi nikotin pada penggunaan vapor terhadap gambaran alveolus tikus jantan strain wistar

Metode Penelitian: 28 buah bahan biologi tersimpan yaitu preparat paru-paru tikus yang dibagi kedalam 4 kelompok yaitu: normal (K), nikotin 0 mg (V0), nikotin 6 mg (V6), dan nikotin 12 mg (V12). Pengamatan deskriptif meliputi perubahan struktur sel alveolus tipe I, gambaran proliferasi sel alveolus tipe II, ada tidaknya makrofag alveolus dan serbukun sel radang. Pengamatan kualitatif menggunakan skoring derajat kerusakan melalui indikator-indikator tertentu.

Hasil: Hasil pengamatan deskriptif didapatkan adanya proliferasi sel alveolus tipe II dan serbukun neutrofil pada seluruh kelompok intervensi. Pada pengamatan kualitatif didapatkan dampak kerusakan alveolus secara *dose-dependent*. Analisis komparatif didapatkan bermakna ($p=0,006$) dan uji *post hoc* bermakna pada kelompok kontrol dan nikotin 0 mg dibandingkan dengan kelompok nikotin 12 mg.

Kesimpulan: Pemberian paparan berbagai konsentrasi nikotin dalam asap vapor berpengaruh terhadap perubahan histomorfologi alveolus tikus jantan *strain* wistar secara *dose-dependent*.

Kata kunci: *Vapor, Nikotin, Histomorfologi, Alveolus*

**THE EFFECT OF NICOTINE CONCENTRATION ON THE USE OF VAPORS
ON HISTOMORPHOLOGY OF THE ALVEOLUS IN MALE RATS WISTAR
STRAIN**

Rifqi Firdaus¹, Dwi Nur Ahsani²

¹*Undergraduate Student, Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia*

²*Department of Histology, Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia*

Email : personal.rifqifirdaus@gmail.com

ABSTRACT

Background: *Vapors or e-cigarettes use liquid nicotine as a smoke-producing medium. Inhaled nicotine in a dose-dependent manner has an impact on decreasing lung respiratory function due to damage to the alveolar structure from oxidative stress condition.*

Objective: *The purpose of this study was to determine the effect of nicotine concentration on the use of vapor on the alveolus description of male wistar rats strains*

Methods: *28 pieces of stored biological material, namely rat lung preparate were divided into 4 groups: normal (K), 0 mg nicotine (V0), 6 mg nicotine (V6), and 12 mg nicotine (V12). Descriptive observations included changes in type I alveolar cell structure, description of type II alveolar cell proliferation, the presence or absence of alveolar macrophages and inflammatory cell powder. Qualitative observations using scoring the degree of damage through certain indicators.*

Result: *The results of descriptive observations showed that there was proliferation of type II alveolar cells and neutrophil presentation in all intervention groups. In qualitative observation, it was found that the impact of alveolar damage was dose-dependent. Comparative analysis was found to be significant ($p=0.006$) and the post hoc test was significant in the control group and 0 mg nicotine compared to the 12 mg nicotine group.*

Conclusion: *Exposure to various concentrations of nicotine in vapor smoke affected the histomorphological changes in the alveolus of male wistar strain rats in a dose-dependent manner.*

Keywords: *Vapors, Nicotine, Histomorphology, Alveolus*

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Vapor atau rokok elektrik adalah alat yang bertujuan untuk menjadi alternatif rokok tembakau namun tidak menggunakan daun tembakau melainkan cairan/likuid. Vapor bekerja dengan menguapkan cairan/likuid yang menghasilkan asap untuk dihirup oleh pengguna. Sama halnya dengan rokok tembakau, vapor memiliki nikotin juga namun terkandung dalam likuidnya (Kemenkes., 2018). Pengguna vapor pada jenjang sekolah tinggi telah mencapai 19,6% dan sekolah menengah mencapai 4,7% di Amerika pada tahun 2020 (Wang *et al.*, 2020). Kebanyakan orang menyatakan bahwa vapor dapat menjadi alternatif yang lebih aman dibandingkan dengan rokok tembakau (Suryadinata *et al.*, 2019).

Likuid vapor mengandung salah satu substansi berbahaya yang sama dengan rokok tembakau yaitu nikotin. Likuid yang diuapkan vapor menjadi aerosol akan terhirup dan diserap oleh permukaan alveolus. Paparan aerosol vapor ini menyebabkan proses pembentukan radikal bebas didalam sel. Spesies Oksigen Reaktif (ROS) dapat terbentuk ketika radikal bebas yang terbentuk berikatan dengan oksigen. Peningkatan superoksida dan spesies oksigen reaktif lainnya akan menyebabkan proses reaksi yang mempengaruhi DNA, protein, lipid, dan menginduksi situasi stress oksidatif (Lerner *et al.*, 2015). Stress oksidatif menyebabkan peningkatan proses pemanggilan sitokin pro-inflamasi sehingga dapat terjadi kerusakan sel karena inflamasi (Chatterjee, 2016).

Alveolus sebagai tempat yang terpapar aerosol menjadi lokasi yang beresiko terjadi kerusakan akibat inflamasi. Efek pengurangan fungsional pada alveolus yang merupakan organ tempat pertukaran gas terjadi dapat diasosiasikan dengan perubahan histomorfologi paru seperti peningkatan ketebalan septa, pengurangan jumlah endothelial, berkurangnya keutuhan membran alveolus, dan berubahnya proporsionalitas bentuk lumen alveolus. Namun pada penelitian tersebut belum didapatkan hasil yang signifikan antara efek asap vapor dengan gambaran histologi alveolus (Triana and Ilyas, 2013). Pada penelitian lain didapatkan bahwa pemaparan vapor dan rokok tembakau dibandingkan dengan kelompok kontrol terdapat hasil kerusakan alveolus yang signifikan. Bahkan tidak terdapat perbedaan kerusakan yang signifikan pada kelompok paparan vapor dibandingkan rokok tembakau (Rohmani, Yazid and Rahmawati, 2018). Terdapat juga bukti

yang menyatakan bahwa belum ada pengaruh yang berarti pada waktu pemaparan terhadap kerusakan alveolus tikus (Sartika *et al.*, 2018)

Pada penelitian lainnya ditemukan bahwa nikotin secara spesifik dapat berpengaruh negatif terhadap fungsi endothelial paru-paru. Efek pengurangan fungsi paru-paru tersebut dipengaruhi jumlah dosis yang diterima oleh subjek karena terjadi proses stress oksidatif (Schweitzer *et al.*, 2015). Sehingga dapat disimpulkan bahwa proses inflamasi akan menjadi lebih parah berbanding lurus dengan konsentrasi nikotin yang terkandung dalam likuid vapor. Oleh karena itu, diperlukannya penelitian mengenai efek konsentrasi nikotin terhadap perubahan histomorfologi paru pada hewan coba. Tujuannya agar dapat menambah pengetahuan tentang dampak penggunaan vapor sesuai konsentrasi nikotin yang terdapat pada likuid yang dijual dipasaran.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Bagaimana pengaruh konsentrasi nikotin pada penggunaan vapor terhadap gambaran alveolus tikus jantan strain wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Mengetahui pengaruh konsentrasi nikotin pada penggunaan vapor terhadap gambaran alveolus tikus jantan strain wistar

1.4 Keaslian Penelitian

Tabel 1. Keaslian Penelitian

No.	Jurnal	Penelitian dan Hasil Penelitian	Perbedaan dengan penelitian yang akan dilakukan
1.	Endothelial Disruptive Proinflammatory Effects of Nicotine and e-Cigarette Vapor Exposures (Schweitzer et al., 2015)	Pemaparan tikus dengan dengan kadar nikotin tertentu menyebabkan stress oksidatif dan inflamasi pada sel endothelialparu-paru seiring dengan dosis nikotin yang diberikan	- Dosis yang diberikan tidakdisesuaikan dengan dosis likuid pasaran dan tidak fokus pada histomorfologi alveolus tikus <i>rattus novergicus</i>
2.	Perubahan Histologi Paru-paru Mencit Jantan Pasca Paparan Asap Vapor (Sartika, Winaya, Adi, & Putra, 2018)	Pemaparan mencit <i>mus musculus</i> dengan asap vapor didapatkan degenerasi dan nekrosis sel pneumosit tipe I dan proliferasi sel pneumosit tipe II	- Hewan coba <i>rattus novergicus</i> - Paparan menggunakan kadar nikotin yang bervariasi
3.	Vapor dan Rokok Konvensional Merusak Alveolus Paru (Rohmani, Yazid, & Rahmawati, 2018)	Terdapat kerusakan alveolus pada paparan asap rokok dan vapor dibandingkan dengan kelompok kontrol. Tetapi perbedaan kerusakan antara paparan vapor dengan rokok tidak bermakna	- Variasi kadar nikotin yang diberikan tiap-tiap kelompok - Pengamatan terhadap gambaran histologi alveolus - Tidak ada kelompok paparan asap rokok konvensional

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan, wawasan, dan pengalaman bagi peneliti mengenai pengaruh konsentrasi nikotin pada penggunaan vapor terhadap perubahan histomorfologi alveolus.

1.5.2 Bagi Peneliti lain

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar untuk mengembangkan atau melakukan penelitian yang baru terkait dampak dari konsentrasi nikotin pada penggunaan vapor.

1.5.3 Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi kepada masyarakat umum mengenai dampak dari konsentrasi nikotin pada penggunaan vapor.

1.5.4 Bagi Institusi Kesehatan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai bahan kajian bagi institusi kesehatan sebagai dasar edukasi untuk masyarakat sehingga masyarakat menyadari dampak dari penggunaan vapor bagi kesehatan.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Telaah Pustaka

2.1.1 Vapor

Vapor adalah alat elektronik yang dapat menguapkan cairan yang biasanya mengandung propilen glikol, gliserol, nikotin dan perisa menjadi aerosol untuk dihirup (Korfei, 2018). Komponen toksik juga terdapat di dalam vapor, seperti *tobacco-specific nitrosamines*, formaldehida, asetildehida, akrolein, logam dan hidrokarbon aromatik polisiklik (Verhaegen and Van Gaal, 2017). Diluar negeri, vapor memiliki banyak nama lain seperti *E-cigarettes*, *electronic nicotine delivery system* (ENDS), *vapor pens*, *e-hookah*, dan *vape pipes* (Chaffee, 2019). Pada vapor generasi pertama, bentuk yang digunakan sangat mirip dengan rokok pada umumnya, daya listrik baterai pada vapor generasi ini dapat diisi ulang namun tidak dengan likuidnya sehingga setelah digunakan akan dibuang. Vapor generasi pertama juga menghasilkan aerosol dengan durasi dan frekuensi embusan yang tetap, sedangkan vapor generasi kedua memiliki likuid yang dapat diisi ulang dan baterai dengan daya tampung yang besar. Frekuensi, durasi, dan kekuatan kawat pemanas dapat diatur oleh pengguna pada vapor generasi kedua melalui layar ataupun tombol (Grana *et al.*, 2014). Pada vapor generasi ketiga mendapatkan penambahan fitur berupa pengaturan voltasi, dan banyaknya nikotin yang diuapkan menjadi aerosol (Gillman *et al.*, 2016).

Daya tarik vapor dibandingkan rokok tembakau adalah likuid yang memiliki berbagai macam rasa dan kadar nikotin yang berbeda. Kandungan *propylene glycol* (PG) dan *vegetable glycerin* (VG) pada likuid biasanya hadir dalam rasio yang bervariasi (Sassano *et al.*, 2018). Kadar nikotin yang terkandung dalam likuid vapor biasanya berkisar antara 0-36 mg/mL dan rasio PG/VG yang bervariasi pula (cth. 80/20, 70/30, 55/45, 40/60, dan 30/70). Variasi rasa dan kandungan nikotin yang bervariasi tersebut dikarenakan tidak terdapatnya standar yang mengatur pembuatan likuid. Pengguna juga dapat meracik likuid secara mandiri dengan membeli PG & VG yang dijual bebas dipasaran (Davis *et al.*, 2015). Di Amerika, terdapat lebih dari 7,700 rasa dari 1,200 merek yang berbedaberedar dipasaran (Sassano *et al.*, 2018). Zat tambahan misalnya tetrahidrokanabiol (THC), yang merupakan suatu zat psikoaktif pada tanaman ganja juga ditambahkan bertujuan untuk memberikan efek mabuk pada pengguna vapor (Giroud *et al.*, 2015).

Zat yang terkandung dalam aerosol cenderung lebih aman dibandingkan rokok tembakau karena tidak terdapat hasil proses pembakaran seperti karbon monoksida. Namun beberapa zat seperti nitrosamine dan logam berat hasil pemanasan kawat/*coil* vapor terkadang masih ikut terkandung dalam aerosol dalam konsentrasi yang rendah (Goniewicz *et al.*, 2014). Dalam 2 minggu perokok aktif yang berpindah menggunakan vapor memiliki kadar marker zat karsinogenik dan toksin yang lebih rendah, hal tersebut menjadi alasan utama vapor dapat menjadi alternatif rokok tembakau yang lebih aman (Goniewicz *et al.*, 2017). Vapor diklaim 95% lebih aman dibandingkan rokok tembakau pada publikasi oleh Public Health England (PHE) (Mcneill *et al.*, 2015). Tetapi beberapa negara seperti Singapura dan Brazil melarang penggunaan dari vapor, yang didukung juga oleh pernyataan dari California Departement of Public Health (CDPH) (Chaffee, 2019).

Zat dasar untuk membuat likuid yaitu *propylene glycol* dan *vegetable glycerin* memiliki dampak iritasi pada saluran pernafasan apabila digunakan dalam bentuk inhalasi, sedangkan dalam bentuk oral oleh Food and Drugs Administration (FDA) dikategorikan sebagai zat yang aman dikonsumsi (Clapp dan Jaspers, 2017). Selain itu, PG ditemukan dapat meningkatkan nikotin pada aerosol vapor (DeVito dan Krishnan-Sarin, 2017). Asetil, diasetil, propionil dan aldehyd lain dengan efek toksik ketika diinhalasi ditemukan di beberapa agen perasa pada likuid (Farsalinos *et al.*, 2015). Likuid dengan banyak perasa memiliki toksisitas lebih tinggi jika dibandingkan dengan likuid dengan 1 perasa (Muthumalage *et al.*, 2018). Terdapat kejadian stress oksidatif dan peningkatan resistensi aliran udara akibat pemaparan aerosol vapor secara akut (Vardavas *et al.*, 2012). Senyawa yang di administrasikan saat penggunaan vapor, terutama nikotin, oksidan dan partikulat, dapat meningkatkan risiko kejadian kardiovaskular, namun risiko yang muncul sangat mungkin tidak seberat yang terjadi pada penggunaan rokok konvensional (Benowitz dan Fraiman, 2017).

2.1.2 Nikotin

Nikotin adalah senyawa kimia organik dari golongan alkaloid yang dihasilkan oleh berbagai jenis tanaman, salah satunya adalah tembakau. Nikotin merupakan amina tersier yang terdiri dari cincin pirolidin dan piridin. Saat seseorang menghirup asap dari rokok atau aerosol dari vape, nikotin yang terbawa akan di absorpsi menuju vena pulmonalis yang kemudian secara cepat dibawa oleh aliran darah menuju otak (Benowitz, 2009). Nikotin dapat berlekatan secara

selektif dengan *nicotinic cholinergic receptor* (nAChRs) pada otak. Stimulasi nAChRs oleh nikotin pada otak menyebabkan pengeluaran dopamin di beberapa area pada otak seperti *ventral tegmental area*, dan *nucleus accumbens* yang merupakan area yang bertanggung jawab atas *drug-induced reward* (Brody, 2006). Nikotin sendiri dapat secara spesifik meningkatkan produksi ROS pada sel melalui aktivasi NF- κ B (Barret *et al.*, 2007).

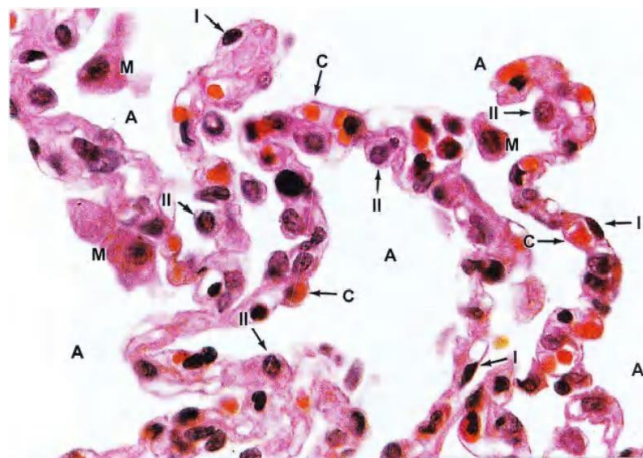
Nikotin pada likuid dapat ditemukan dalam 2 bentuk yaitu *freebase* dan *salt*. *Freebase nicotine* merupakan jenis nikotin yang paling umum ditemukan. *Freebase nicotine* adalah alkali, sehingga peningkatan dosis nikotin pada likuid dapat menyebabkan sensasi kasar pada tenggorokan (Ghosh, Beyazcicek, Davis, Onyenwoke, & Tarran, 2021). *Salt nicotine* merupakan campuran *freebase nicotine* dengan asam seperti asam benzoat dan asam laktat (Bowen & Xing, 2015). *Salt nicotine* ditemukan lebih cepat diabsorpsi oleh paru-paru dibanding dengan *freebase nicotine*, namun hasil yang ditemukan tidak bermakna. *Salt nicotine* tidak menyebabkan sensasi kasar pada tenggorokan, sehingga umumnya *salt nicotine* dijual dengan konsentrasi nikotin yang tinggi (Talih *et al.*, 2020).

2.1.3 Histomorfologi Alveolus

Alveolus (A) adalah organ kompleks di dalam paru-paru yang berfungsi sebagai tempat pertukaran gas untuk keperluan respirasi. Paru-paru manusia dalam keadaan inspirasi dalam terdiri atas 80% gas, 10 % darah, dan 10% jaringan paru. Jaringan paru terdiri atas lebih dari 40 tipe sel, yang berasal dari 3 lapisan sel progenitor. Parenkim alveolus menjadi 90% bagian dari organ paru-paru. Kumpulan unit fungsional alveolus disebut sebagai acini (Knudsen and Ochs, 2018). Acini didefinisikan sebagai ujung saluran pernafasan sebagai tempat pertukaran gas. Proses pertukaran udara dengan darah terjadi di sawar bermembran diantara setiap alveolus dan kapiler (C) yang mengelilinginya. Dinding dari beberapa saluran alveolus hanya terdiri dari jaringan yang tersusun atas pembukaan alveolus menuju ductus alveolaris (Eroschenko, 2008).

Antara alveolus dipisahkan oleh struktur yang disebut septum interalveolus. Satu septum interalveolus terdiri atas sel, matriks jaringan ikat, serat elastin, dan kolagen. Membran respiratorik adalah kumpulan komponen yang terdiri atas lapisan permukaan beserta sitoplasma, lamina basal, dan sitoplasma sel endotel berfungsi untuk memisahkan udara dalam alveolus dari darah dalam kapiler. Pada keadaan normal tebal lapisan ini berkisar dari 0,1 sampai 1,5 μ m. Permukaan

alveolus dilapisi oleh sel skuamosa yang sangat tipis (25 μ m) disebut sel alveolus tipe I. Pada **Gambar 1**. Sel alveolus tipe I (I) berisikan organel seperti retikulum endoplasma, apparatus golgi, dan sitoplasma bervesikel pinositik yang bertujuan untuk membentuk sawar dengan ketebalan minimal supaya mudah terjadi pertukaran gas. Sel lain yang melapisi dinding alveolus dalam porsi yang jauh lebih kecil daripada sel alveolus tipe I yaitu sel alveolus tipe II (II). Pada gambaran histologi terdapat gambaran khas yaitu sitoplasma yang bervesikel seperti berbusa. Vesikel tersebut terbentuk karena adanya badan lamella yang berfungsi untuk menghasilkan surfaktan untuk menurunkan tegangan permukaan guna melakukan pertukaran gas. Oksigen yang bertukar dengan karbon dioksida akan disalurkan langsung ke kapiler-kapiler pembuluh darah. Kapiler ini terdiri atas sel endotel yang kontinu dan sangat tipis guna memudahkan pertukaran gas. Gambaran histologi khas sitoplasma endotel yaitu terdapat banyak vesikel pinositik. Pada dinding alveolus terdapat makrofag (M) yang berfungsi sebagai sistem imun aktif jaringan alveolus (Mescher, 2016).



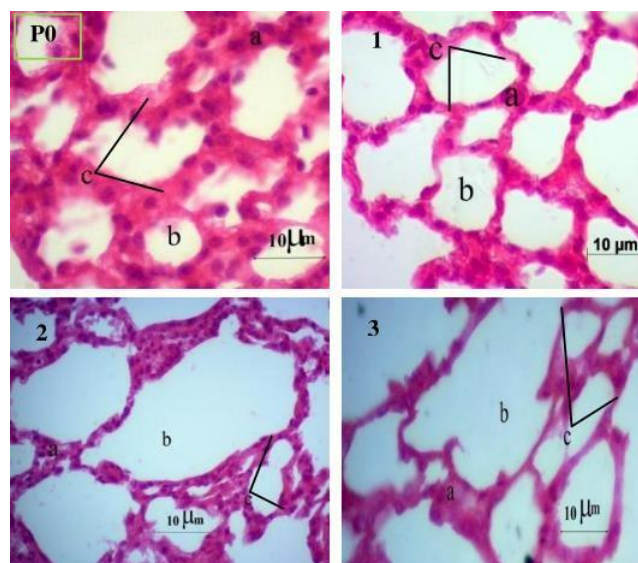
Gambar 1. Histologi Alveolus (Mescher, 2016)

2.1.4 Hubungan Konsentrasi Nikotin terhadap Perubahan Histomorfologi Alveolus

Efek langsung nikotin terhadap perubahan struktural paru-paru diyakini akibat adanya pengiriman sinyal terhadap substansi *nitric oxide* (NO) dan pembentukan ROS (Mayhan and Sharpe, 1999). Membran alveolus sebagai salah satu permukaan awal yang akan terekspos oleh asap vape dapat terjadi proses stress oksidatif pada sel-sel epitelium alveolus. Nikotin menstimulasi pelepasan mediator inflamasi yang menginduksi pemanggilan sel polimorfonuklear (PMN)

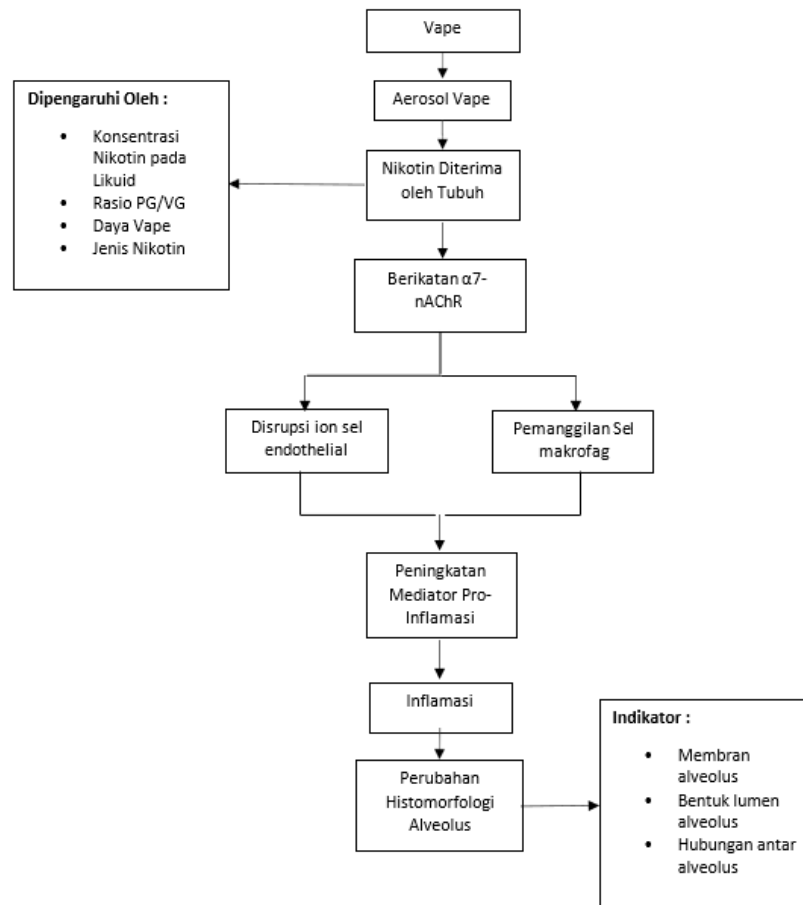
alveolus sehingga terjadi pelepasan oksidan dan enzim proteolitik. Pelepasan oksidan akan terakumulasi dan mengaktifkan NF- κ B dan memulai upregulasi transkripsi sitokin pro-inflamasi. Makrofag alveolus juga akan mengeluarkan TNF- α dan IL-1 β yang menginduksi proses fibrosis pada parenkim alveolus (Jensen *et al.*, 2012). Lumen alveolus yang mengandung kadar *elastin* tinggi akan mengembang akibat pengurangan permukaan tempat pertukaran gas. Hubungan antar saccus alveolus pada keadaan normal rapat namun dapat menjadi renggang karena proses inflamasi lokal dan dilatasi kapiler-kapiler alveolus akibat pelepasan NO (Stanton, Bruce M.; Koeppen, 2008).

Proses pengamatan **Gambar 2.** menggunakan pembesaran 400x pada keseluruhan lapang pandang jaringan alveolus diklasifikasikan menjadi 4 derajat kerusakan jaringan. Nilai terendah muncul pada kelompok kontrol ketika membran alveolus masih lengkap inti sel beserta endothelnya, lumen bulat, dan antar alveolus rapat. Sebaliknya gambaran yang muncul pada sel yang terpapar diberi nilai tertinggi ketika membrane alveolus mengalami kerusakan sehingga inti sel serta endothel jumlahnya menurun, lumen semakin tidak proporsional, dan hubungan antar alveolus merenggang. Hal tersebut dikarenakan proses inflamasi akibat paparan uap vapor (Triana and Ilyas, 2013). Terdapat temuan lain berupa nekrosis pada sel alveolus tipe I dan gambaran proliferasi sel alveolus tipe II (Sartika *et al.*, 2018).



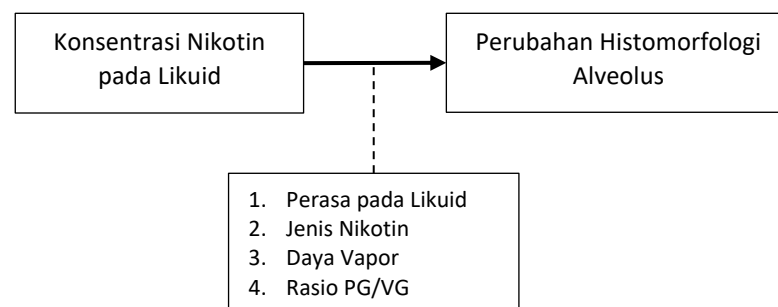
Gambar 2. Perubahan Histologi Alveolus; Paparan asap rokok terhadap mencit selama 2 minggu mengakibatkan perubahan yang variative antara kelompok kontrol dan kelompok paparan; (a) Membran Alveolus; (b) Lumen Alveolus; (c) Hubungan Antar Alveolus

2.2 Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

2.3 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 4. Kerangka Konsep Penelitian

2.4 Hipotesis

H1 : Terdapat pengaruh konsentrasi nikotin pada penggunaan vapor terhadap perubahan gambaran histomorfologi alveolus tikus jantan strain wistar.

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian *true eksperimental* besar dengan nama **Analisis Pengaruh Variasi Konsentrasi Nikotin pada Penggunaan Vape terhadap Parameter Stres Oksidatif dan Histomorfologi Organ: Studi *In Vivo*** dengan desain *post-test only randomized control group*. Penelitian ini menggunakan bahan biologi tersimpan (paru dalam blok paraffin) dari penelitian tersebut.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian besar ini telah dilaksanakan di laboratorium fisiologi dan laboratorium riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia (FK UII) dengan durasi waktu 2 bulan setelah mendapatkan persetujuan kelaikan etik. Penelitian yang dilakukan oleh peneliti sekarang ini diselenggarakan selama 1 bulan untuk melakukan pengamatan histologis dan analisis hasil penelitian.

3.3 Populasi dan Subjek Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Keseluruhan prepat histologis paru-paru tikus yang diberikan perlakuan pada penelitian sebelumnya dengan judul Analisis Pengaruh Variasi Konsentrasi Nikotin pada Penggunaan Vape terhadap Parameter Stres Oksidatif dan Histomorfologi Organ: Studi *In Vivo*. Populasi penelitian tersebut adalah tikus galur Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan usia 4-6 pekan dengan berat 170-200 gram.

3.3.2 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah prepat yang layak untuk dilakukan pembacaan / pengamatan histopatologis. Kriteria inklusi pada penelitian sebelumnya adalah tikus yang Sehat, ditandai dengan gerakan aktif, Jenis kelamin jantan, Usia antara 2-3 bulan, dan Berat 150-200 gram.

3.3.3 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah: prepat histologis paru yang rusak sehingga tidak bisa dilakukan pengamatan.

3.3.4 Teknik Pengambilan Sampel

Semua preparat histologis yang memenuhi kriteria inklusi diikuti untuk dilakukan pengamatan. Sampel diambil dari populasi dengan teknik *simple random sampling* yang kemudian dibagi menjadi 4 kelompok :

1. Kelompok kontrol (K) : kelompok tanpa intervensi
2. Kelompok vape 0 mg (V0) : intervensi vape nikotin 0 mg
3. Kelompok vape 6 mg (V6) : intervensi vape nikotin 6 mg
4. Kelompok vape 12 mg (V12) : intervensi vape nikotin 12 mg

3.3.5 Besar Sampel

Besar sampel dihitung dengan pendekatan rumus *resource equation* (Arifin dan Zahiruddin, 2017).

$$DF = N - k = kn - k = k(n - 1)$$

$$n = DF / k + 1$$

Minimum

$$= 10 / k + 1$$

$$= 10 / 4 + 1$$

$$= 3,5 \sim 4$$

(dibulatkan keatas)

Maksimum

$$= 20 / k + 1$$

$$= 20 / 4 + 1$$

$$= 6$$

Keterangan:

DF (*degrees of freedom*)

DF Minimum = 10

DF Maksimum = 20

N = jumlah subyek

k = jumlah kelompok

n = jumlah subjek per kelompok

Berdasarkan perhitungan, jumlah tikus tiap kelompok adalah 4-6 ekor. Untuk mengantisipasi adanya risiko *drop out*, jumlah sampel ditambahkan 10% tiap kelompok yaitu 1 ekor tikus, sehingga tiap kelompok terdapat 7 ekor tikus. Total tikus yang digunakan adalah 28 ekor. Sehingga jumlah preparat sebanyak 28 buah.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas atau independen pada penelitian ini adalah konsentrasi nikotin pada likuid vapor.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat atau dependen pada penelitian ini adalah perubahan histomorfologi dari alveolus

3.4.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah rasio antara *propylene glycol* (PG) dan *vegetable glycerin* (VG) yaitu 40/60. Likuid yang digunakan tidak menggunakan agen perasa. Nikotin yang digunakan adalah *freebase nicotine*. Daya pada vapor disetting 75 watt.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Gambaran Histomorfologi Alveolus

Gambaran histomorfologi alveolus yang dimaksud disini adalah perubahan pada parenkim paru (alveolus) pada keseluruhan lapang pandang. Pengamatan antara lain meliputi:

1. Pengamatan deskriptif: meliputi perubahan struktur sel alveolus tipe I, gambaran proliferasi sel alveolus tipe II, ada tidaknya Makrofag alveolus dan serbuk sel radang.
2. Pengamatan kualitatif berdasarkan skoring (Tabel 2 dengan beberapa modifikasi, Marianti A, 2009) pada tiap parameter dilakukan perhitungan individual. Setelah semua parameter dilakukan skoring, maka dilakukan penjumlahan dari total skor yang ada dan dihitung nilai reratanya. Hasil akhir skor yang didapatkan merupakan total nilai derajat kerusakan jaringan paru

Tabel 2. Skor Derajat Kerusakan Jaringan Paru-Paru Hewan Coba Akibat Paparan Vapor

Gambaran histologis	Skor		
	1	2	3
Membran alveolus	membran alveolus utuh, berinti dan lengkap dengan sel-sel endotelium >75%	membran alveolus utuh, berinti dan lengkap dengan sel-sel endotelium 25-75%	membran alveolus utuh, berinti dan lengkap dengan sel-sel endothelium <25%
Lumen alveolus	membulat ukuran proporsional >75%	membulat ukuran proporsional 25-75%	membulat ukuran proporsional <25%
Hubungan antar alveolus	rapat >75%	rapat 25-75%	rapat <25%

3.5.2 Konsentrasi Nikotin

Konsentrasi nikotin yang dimaksud adalah konsentrasi nikotin yang terdapat pada likuid vapor dengan variasi 0, 6, dan 12 mg/mL.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat

1. *Microscope* cahaya + optilab
2. *Automatic processing* jaringan histologis
3. Kaset
4. Mikrotom

3.6.2 Bahan

1. *Object glass*
2. *Deck glass*
3. Pinset
4. *Vertical chamber*
5. Preparat Histologi paru tikus

3.7 Protokol dan Alur Penelitian

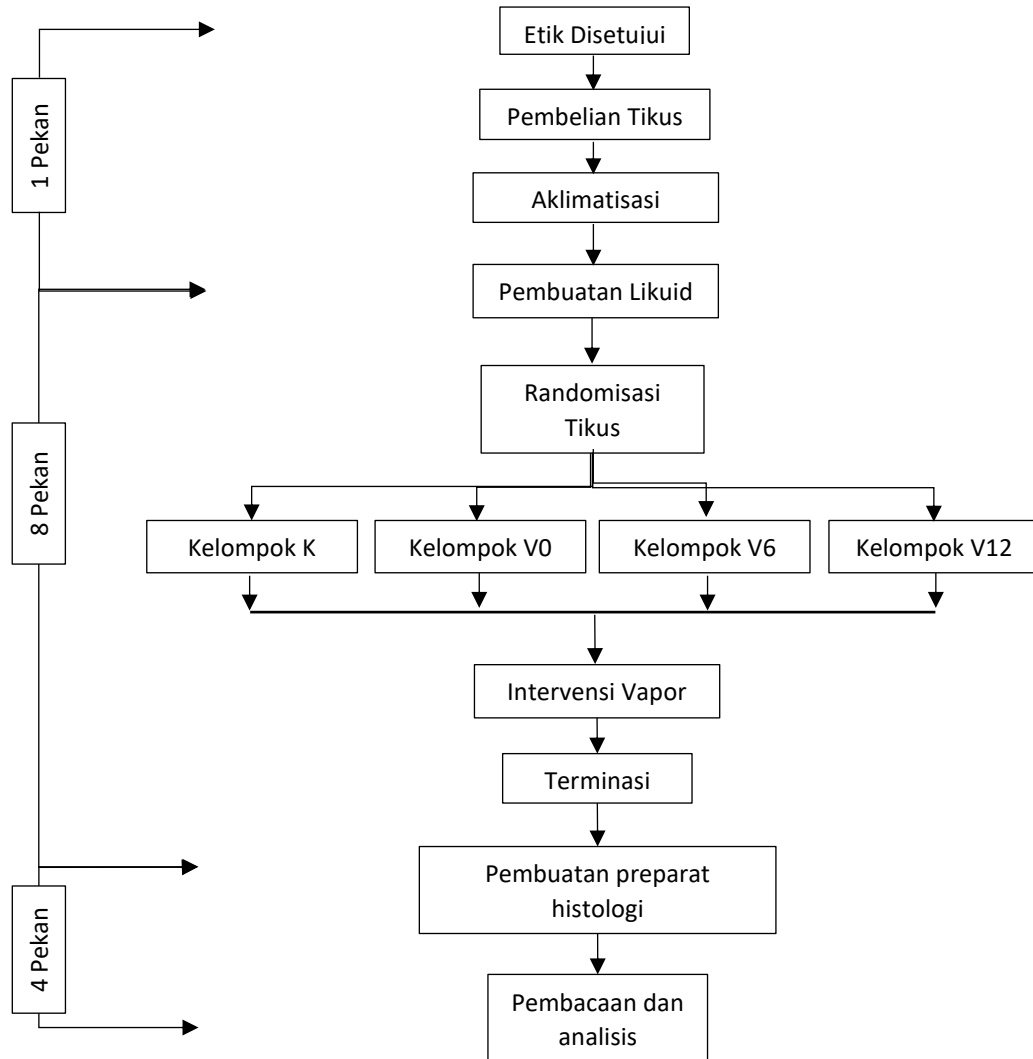
3.7.1 Protokol Pembuatan Preparat Paru Tikus

Penelitian dilakukan dengan membuat prearat histologis dari bahan biologitersimpan dari penelitian terdahulu. Histomorfologi organ pada penelitian ini menggunakan teknik histologi sederhana dan dilakukan pewarnaan dengan *hematoxylin-eosin* (HE). Pembuatan slide histomorfologi dilakukan oleh Laboratorium Patologi Anatomi, Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan UGM.

3.7.2 Pembacaan Preparat Paru Tikus

Pertama membuat irisan jaringan, kemudian peneliti melakukan pengamatan awal untuk menentukan kelayakan dari slide yang diamati. Jika slide memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi maka preparat tersebut dilakukan pengamatan lebih lanjut sesuai dengan sistem skoring pada seluruh lapang pandangslide. Pembacaan slide dikelompokkan sesuai kelompok konsentrasi nikotin yang diterima : (K) kelompok kontrol, (V0) kelompok nikotin 0 mg, (V6) kelompok nikotin 6 mg, dan (V12) kelompok nikotin 12 mg. Pemberian nilai menggunakan Tabel 2. berdasarkan gambaran histologi yang paling sesuai. Skoring dilakukan pada masing-masing parameter yang didapatkan pada tiap slide dalam kelompok dan dicari nilai rata-ratanya. Kemudian nilai akhir tiap parameter dirata-rata sehingga didapatkan skoring total kerusakan.

3.7.3 Bagan Alur Penelitian



Gambar 5. Alur Penelitian

3.8 Analisis Data

Data yang didapatkan dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan metode *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel < 50 . Selanjutnya dilanjutkan dengan uji statistik *Kruskal-Wallis* karena hasil distribusi tidak normal. Uji statistik *Kruskal-Wallis* didapatkan bermakna ($p < 0,05$), maka uji *post hoc* yang dilakukan adalah *Mann Whitney U Test*.

3.9 Etika Penelitian

Penelitian telah mendapat persetujuan *ethical clearance* dari Komite Etik Fakultas Kedokteran UII dengan surat keterangan lolos kaji etik nomor 14/Ka.Kom.Et/70/ KE/VIII/2021.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian dengan judul “Pengaruh Konsentrasi Nikotin Pada Penggunaan Vapor Terhadap Gambaran Histomorfologi Alveolus Tikus Jantan Strain Wistar” berlangsung selama 1 bulan. Tidak ada subjek yang *drop-out* selama penelitian berlangsung, sehingga jumlah sampel pada akhir penelitian tetap 28 buah preparat.

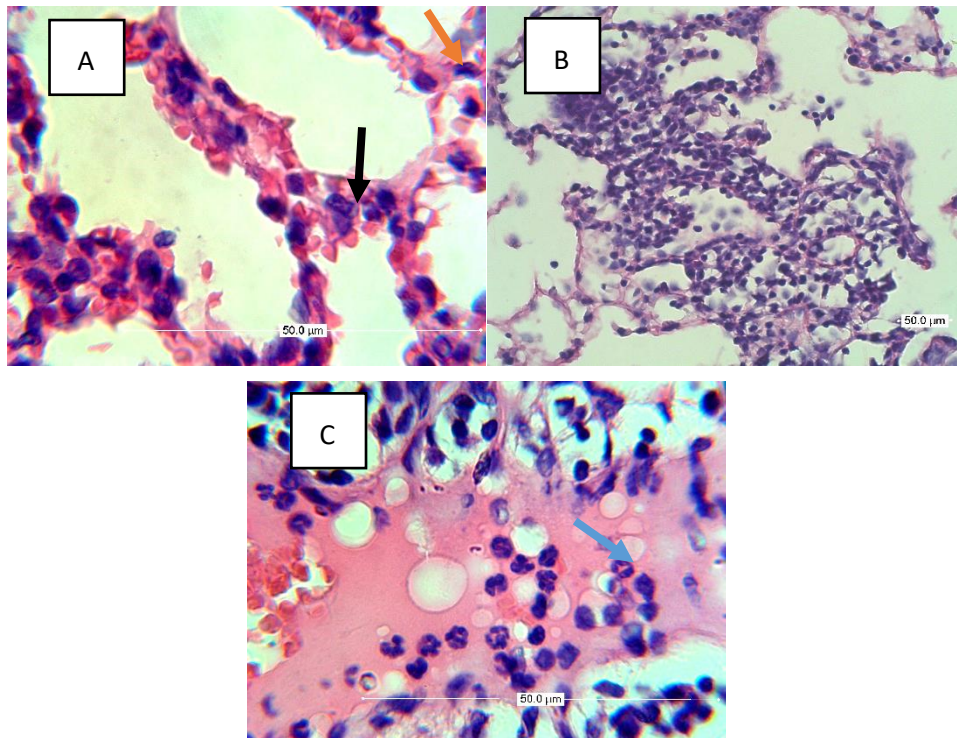
4.1.1 Gambaran Histomorfologi Alveolus

Pada paparan asap vapor menunjukkan tanda-tanda kerusakan struktural. Sel-sel epitel penyusun membran alveolus berkurang inti selnya, dan sel endoteliumnya tidak tampak. Lumen alveolusnya melebar, dan hubungan antar alveolus merenggang. Pengamatan deskriptif pada morfologi sel alveolus tipe I tidak terdapat perubahan morfologi sel pada seluruh kelompok (Gambar 6). Sel alveolus tipe I tampak intak, sitoplasma jelas, dan inti sel utuh. Serupa pada hasil deskriptif alveolus tipe I tidak dijumpai adanya perubahan morfologi pada alveolus tipe II. Namun dijumpai adanya proliferasi sel alveolus tipe II pada kelompok V0 sebanyak 1 individu, V6 sebanyak 3 individu, dan V12 sebanyak 6 individu. Proses inflamasi minimal berupa serbukun neutrofil dijumpai pada kelompok V0 sebanyak 3 individu, kelompok V6 sebanyak 2 individu, dan kelompok V12 sebanyak 3 individu.

Tabel 3. Pengamatan Deskriptif

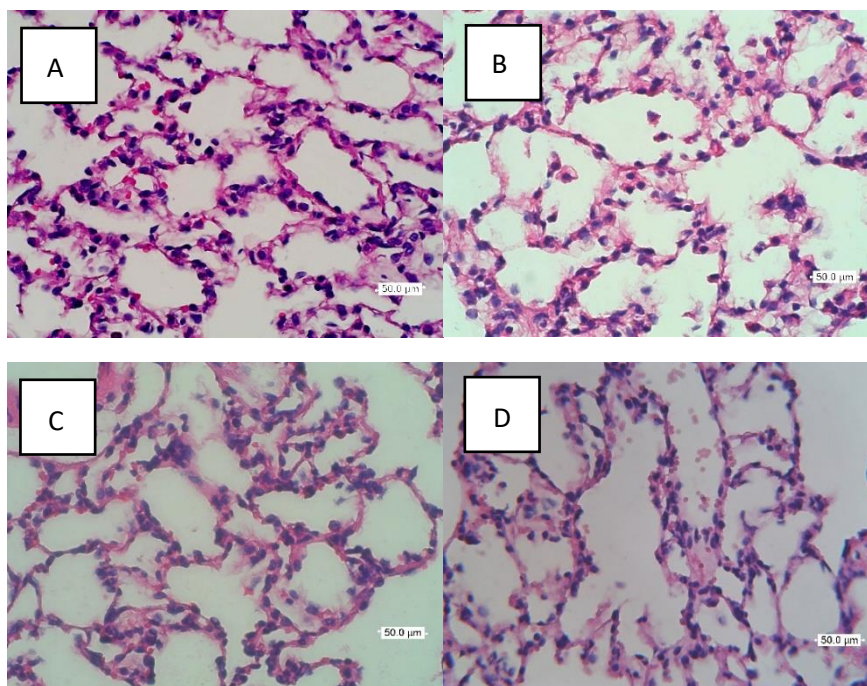
Parameter pengamatan	V0	V6	V12
	n (%)	n (%)	n (%)
Proliferasi Sel Alveolus tipe II	1 (14%)	3 (42%)	6 (85%)
Serbukan Neutrofil	3 (42%)	2 (28%)	3 (42%)

Keterangan tabel 3. Angka menandakan jumlah preparat



Gambar 6. Perubahan Histomorfologi Alveolus Pada Pemaparan Vape Dengan Berbagai Konsentrasi Nikotin. Sel penyusun alveolus. A: Sel alveolus tipe I (panah coklat), proliferasi sel alveolus tipe II (panah hitam) (Kelompok V12, Perbesaran 1000x); B: Serbukun sel radang (Kelompok V0, Perbesaran 400x); C: Serbukun sel neutrofil (panah biru, kelompok V12, perbesaran 1000x, garis bar putih menunjukkan skala 50 µm)

Analisis kualitatif menggunakan sistem skoring derajat kerusakan, didapatkan kerusakan pada kelompok perlakuan dengan berbagai konsentrasi nikotin pada paparan asap vapor. Hasil skor derajat kerusakan bersifat *dose-dependent* (uji *Kruskal-Wallis*, $p \leq 0,05$). Hasil pengujian *Mann-Whitney U* guna melihat hubungan antar kelompok ternyata menunjukkan adanya perbedaan bermakna secara statistik untuk perbandingan skoring kelompok N:V12, dan V0:V12 (Tabel 5). Namun tidak didapatkan perbedaan hasil yang bermakna pada kelompok N:V0, N:V6, V0:V6, dan V6:V12.



Gambar 7. Gambaran Kerusakan Jaringan Alveolus Hewan Coba Akibat Paparan Vapor (Perbesaran 400x, HE). A: K (kelompok kontrol) dengan sel endotelium >75%, lumen relatif membulat, dan hubungan antar alveolus cenderung rapat; B: V0 dengan membran intact bersel endotelium 25-75%, lumen relatif membulat dengan proporsi 25-75%, dan hubungan antar alveolus dengan kerapatan 25-75% C: perubahan struktur kelompok V6; D: Kelompok V12 mengalami pelebaran lumen alveolus, dan hubungan antar alveolus meregang (garis bar putih menunjukkan skala 50 µm).

Tabel 4. Skoring Perubahan Histomorfologi Alveolus Pada Pemaparan Variasi Konsentrasi Nikotin Melalui Asap Vapor

Parameter	Kelompok				p
	N (n=7)	V0 (n=7)	V6 (n=7)	V12 (n=7)	
	Mean	Mean \pm SD	Mean \pm SD	Mean \pm SD	
Membrane alveolus	1	1,14 \pm 0,378	1,43 \pm 0,535	1,86 \pm 0,378	0,006 ^c
Lumen alveolus	1	1,14 \pm 0,378	1,43 \pm 0,535	1,86 \pm 0,378	0,006 ^c
Hubungan antar alveolus	1	1,14 \pm 0,378	1,43 \pm 0,535	1,86 \pm 0,378	0,006 ^c
Total kerusakan alveolus	1 ^b	1,14 \pm 0,378 ^b	1,43 \pm 0,535	1,86 \pm 0,378 ^a	0,006 ^c

Keterangan tabel 4. ^cUji *Kruskal-Wallis* bermakna; ^aUji post hoc *Mann-Whitney U* terhadap N bermakna ($p < 0,05$); ^buji post hoc *Mann-Whitney U* terhadap V12 bermakna ($p < 0,05$)

Hasil pada tabel 4 menunjukkan hasil yang linier pada ketiga indikator derajat kerusakan pada keempat kelompok perlakuan. Rerata skoring derajat kerusakan paru-paru hasil paling rendah yaitu kelompok V0 (1,14) dan rerata hasil paling tinggi pada kelompok V12 (1,86).

Tabel 5. Uji *Mann-Whitney U*

Kelompok	K	V0	V6	V12
K	-	-	-	-
V0	0,317	-	-	-
V6	0,060	0,254	-	-
V12	0,002*	0,010*	0,107	-

Keterangan tabel 5. *uji post hoc *Mann-Whitney U* bermakna ($p < 0,05$)

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan perubahan yang bermakna pada histomorfologi alveolus tikus paska paparan asap vapor dengan berbagai konsentrasi nikotin. Pengaruh paling bermakna terlihat pada kelompok paparan dengan nikotin 12 mg. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Rohmani (2018) yang menemukan kerusakan sedang pada paparan vapor dengan nikotin 4 mg, bahkan kerusakannya serupa saat dibandingkan dengan paparan rokok konvensional. Namun penelitian dengan hewan coba mencit menyatakan tidak terdapat perubahan bermakna pada paparan asap vapor terhadap struktur alveolus (Triana dan Ilyas, 2013). Skor derajat kerusakan histomorfologi alveolus akibat konsentrasi nikotin pada kelompok intervensi muncul secara *dose-dependent*. Hal ini sesuai dengan penelitian Schweitzer (2015) yakni terdapat pengurangan endotel dan inflamasi akut paru-paru secara *dose-dependent*.

Sartika (2018) menunjukkan paparan asap vapor menyebabkan gambaran degenerasi sel alveolus tipe I, proliferasi sel alveolus tipe II, dan penebalan septum alveolus. Hal tersebut sesuai penelitian ini dimana didapatkan proliferasi sel alveolus tipe II, dan adanya serbukan sel radang pada setiap kelompok yang diberi paparan nikotin. Serbukan sel neutrofil paling banyak ditemukan pada kelompok nikotin 0 mg dan nikotin 12 mg, namun kondisi ini serupa dengan kelompok nikotin 6 mg. Hal ini serupa dengan penelitian Garcia-arcos (2016) dimana jumlah neutrofil pada paparan nikotin 18 mg jumlahnya serupa dengan kelompok nikotin 0 mg. Temuan terjadinya proliferasi sel alveolus tipe II didapatkan muncul pada

semua kelompok intervensi tetapi paling banyak di kelompok nikotin 12 mg. Hal tersebut sesuai dengan penelitian lain, bahwa terdapat proliferasi sel alveolus tipe II pada $\frac{3}{4}$ populasi hewan coba yang diberikan paparan asap vapor (Sartika, Winaya, Adi, & Putra, 2018).

Skoring derajat kerusakan dengan rerata paling tinggi ada pada kelompok nikotin 12 mg. Pada kelompok nikotin 0 mg, dan nikotin 6 mg memiliki perbedaan rerata hasil skoring yang tidak jauh berbeda dibandingkan kelompok nikotin 12 mg. Hal tersebut sesuai dengan uji perbandingan hasil antar kelompok intervensi perbedaannya tidak bermakna. Hal ini berbeda dari penelitian Marianti A. (2009) dimana analisis skoring derajat kerusakan jaringan paru-paru mencit, perbandingan antar kelompoknya didapatkan adanya perbedaan yang bermakna. Sedangkan pada penelitian ini ditemukan bahwa ada perbedaan bermakna pada perbandingan hasil kelompok nikotin 12 mg dengan kelompok kontrol dan kelompok nikotin 0 mg.

Secara deskriptif tidak terlalu banyak perubahan yang terjadi pada pemaparan macam-macam kadar nikotin melalui asap vapor. Sel penyusun alveolus seperti sel alveolus tipe II yang mengalami proliferasi dapat diakibatkan terjadi kondisi stres oksidatif. Hal tersebut juga didukung dengan adanya gambaran proliferasi sel alveolus tipe II karena secara fisiologis mengkompensasi berkurangnya sel alveolus tipe I yang hilang karena karakteristik sel alveolus tipe I yang sensitif terhadap polutan. Menurut Widodo (2006), sel alveolus tipe I rentan terhadap paparan zat toksik dan tidak memiliki kemampuan replikasi sehingga mengandalkan proliferasi dari sel alveolus tipe II untuk mempertahankan jumlahnya. Pada penelitian lain didapatkan, perubahan kerapatan hubungan antar alveolus dan bentuk lumen diakibatkan proses fagosit dari makrofag alveolus untuk mempertahankan homeostasis dari sel-sel alveolus yang terpapar asap rokok. Makrofag mengeluarkan enzim fotolitik yang menyebabkan autolisis dan dilatasi dari dinding-dinding alveolus (Arch, Matulionis, & Robert, 1988). Hal tersebut sesuai dengan temuan penelitian ini dimana terdapat perubahan proporsionalitas lumen dan pelebaran hubungan antar alveolus.

Dalam sebuah penelitian *invitro* menunjukkan bahwa perasa *acetoin*, *pentanedione*, *diacetyl*, *cinnamaldehyde*, *ortho-vanillin*, *maltol*, dan *coumarin* dari liquid vapor tanpa nikotin menginduksi respon inflamasi dengan mekanisme peningkatan interleukin (IL)-8 dalam monosit yang dimediasi oleh peningkatan

pembentukan ROS (Muthumalage, Prinz, Ansah, Gerloff, & Sundar, 2018). Pada penelitian sebelumnya juga dikonfirmasi bahwa pembentukan kompleks ROS pada vapor disebabkan 2 mekanisme. Mekanisme pertama adalah proses pemanasan untuk menguapkan liquid pada vapor, diyakini terdapat pembentukan sedikit aerosol yang dihasilkan bahkan tanpa pemberian liquid. Mekanisme kedua adalah proses penguapan liquid, dimana terjadi proses fluoresensi dalam diklorofluoresen (DCF) yang teroksidasi pada elemen penghasil panas vapor setelah penggunaan ke-4 (Lerner et al., 2015). Nikotin sendiri tanpa digunakan sebagai liquid juga dapat menginduksi stress oksidatif. Penelitian lain melaporkan bahwa pemberian nikotin melalui injeksi subkutan pada tikus selama sebulan dapat menginduksi stres oksidatif secara *dose-dependent*. Stres oksidatif diukur melalui peningkatan jumlah *tumor necrosis factor* (TNF)- α , IL-17, dan *nuclear factor* (NF)- κ B (Elsonbaty et al., 2020). Pada paru-paru stres oksidatif tersebut dapat menyebabkan kerusakan struktural karena proteolysis, fibrosis, dan hipersekresi mucus jaringan paru. Inaktivasi antitriptin- α 1 (α 1-AT) karena stimulasi makrofag alveolus oleh substansi ROS yang menyebabkan kerusakan struktur protein paru sehingga dapat merusak septum alveolus (Rohmani, Yazid, & Rahmawati, 2018).

Hasil penelitian ini adalah paparan vape dapat menyebabkan kerusakan struktur alveolus secara *dose-dependent*. Penemuan ini menunjukkan bahwa penggunaan vape dapat berpengaruh terhadap kesehatan bahkan tanpa adanya nikotin dan agen perasa pada liquid-nya, yang memberikan implikasi bahwa vape tidaklah aman dan perlu dikontrol dalam penggunaannya.

4.2.1 Limitasi Penelitian

Keterbatasan penelitian ini adalah cakupan penelitian dalam mengatasi *cofounding* seperti pengaruh perilaku hewan coba dalam kerusakan struktur alveolus, pemeriksaan kesehatan hewan coba sebelum dilakukan penelitian, faktor predisposisi yang dimiliki oleh hewan coba, tidak dilakukannya pembacaan slide oleh pihak ke-3 secara *double-blinding* terhadap subjek penelitian, dan tidak mengamati tingkatan klasifikasi kerusakan struktural.

BAB V. SIMPULAN & SARAN

5.1 Simpulan

Pemberian paparan berbagai konsentrasi nikotin dalam asap vapor berpengaruh terhadap perubahan histomorfologi alveous tikus jantan *strain wistar* secara *dose-dependent*.

5.2 Saran

Berdasarkan kekurangan dan keterbatasan dalam penelitian ini, agar dapat menyempurnakan penelitian selanjutnya maka peneliti memberikan beberapa saran diantaranya yaitu;

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek konsentrasi nikotin beserta pengaruh jumlah frekuensi paparan asap vapor terhadap gambaran histomorfologi alveolus dengan desain *pretest-posttest*
2. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan analisis histologi yang dilakukan oleh pihak ke-3 yang tidak berhubungan dengan peneliti melalui *blinding* terhadap slide yang dianalisis.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait faktor predisposisi dan status kesehatan hewan coba yang mempengaruhi efek nikotin pada paparan asap vapor.
4. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan mengamati tingkat klasifikasi kerusakan struktural pada alveolus pasca intervensi.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, W. N. and Zahiruddin, W. M. (2017) 'Sample size calculation in animal studies using resource equation approach', *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 24(5), pp.101–105. doi: 10.21315/mjms2017.24.5.11.
- Barr, J., Sharma, C. S., Sarkar, S., Wise, K., Dong, L., Periyakaruppan, A. and Ramesh, G. T. (2007) 'Nicotine induces oxidative stress and activates nuclear transcription factor kappa B in rat mesencephalic cells', *Molecular and Cellular Biochemistry*, 297(1–2), pp. 93–99. doi: 10.1007/s11010-006-9333-1.
- Benowitz, N. L. and Fraiman, J. B. (2017) 'Cardiovascular effects of electronic cigarettes', *Nature Reviews Cardiology*, 14(8), pp. 447–456. doi: 10.1038/nrcardio.2017.36.
- Benowitz, N. L., Hukkanen, J. and Jacob, P. (2009) 'Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers', *Handbook of Experimental Pharmacology*, 192, pp. 29–60. doi: 10.1007/978-3-540-69248-5_2.
- Bowen, A. and Xing, C. (2015) 'US Patent No. US20150020824A1: Nicotine Salt Formulations for Aerosol Devices and Methods Thereof', 2(12), p. 4.
- Brody, A. L. (2006) 'Functional brain imaging of tobacco use and dependence', *Journal of Psychiatric Research*, 40(5), pp. 404–418. doi: 10.1016/j.jpsychires.2005.04.012.
- Chaffee, B. W. (2019) 'Electronic Cigarettes: Trends, Health Effects and Advising Patients Amid Uncertainty.', *Journal of the California Dental Association*, 47(2), pp. 85–92.
- Chatterjee, S. (2016) *Oxidative Stress, Inflammation, and Disease, Oxidative Stress and Biomaterials*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-803269-5.00002-4.
- Clapp, P. W. and Jaspers, I. (2017) 'Electronic Cigarettes: Their Constituents and Potential Links to Asthma', *Current Allergy and Asthma Reports*. Current Allergy and Asthma Reports, 17(11). doi: 10.1007/s11882-017-0747-5.
- Davis, B., Dang, M., Kim, J. and Talbot, P. (2015) 'Nicotine concentrations in electronic cigarette refill and do-it- yourself fluids', *Nicotine and Tobacco Research*, 17(2), pp. 134–141. doi: 10.1093/ntr/ntu080.
- DeVito, E. E. and Krishnan-Sarin, S. (2017) 'E-cigarettes: Impact of E-Liquid Components and Device Characteristics on Nicotine Exposure', *Current Neuropharmacology*, 15, pp. 438–459. doi: 10.2174/1570159x15666171016164430.

- Eroschenko, V. P. (2008) 'Atlas Histologi difiore'.
- Elsonbaty, S. and Ismail, A., 2020. Nicotine encourages oxidative stress and impairment of rats' brain mitigated by *Spirulina platensis* lipopolysaccharides and low-dose ionizing radiation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 689, p.108382.
- Farsalinos, K. E., Kistler, K. A., Gillman, G. and Voudris, V. (2015) 'Evaluation of electronic cigarette liquids and aerosol for the presence of selected inhalation toxins', *Nicotine and Tobacco Research*, 17(2), pp. 168–174. doi: 10.1093/ntr/ntu176.
- Ghosh, A., Beyazcicek, O., Davis, E. S., Onyenwoke, R. U., & Tarran, R. (2020). *Cellular effects of nicotine salt-containing e-liquids*. *Journal of Applied Toxicology*. doi:10.1002/jat.4060
- Gillman, I. G., Kistler, K. A., Stewart, E. W., & Paolantonio, A. R. (2016). *Effect of variable power levels on the yield of total aerosol mass and formation of aldehydes in e-cigarette aerosols*. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 75, 58–65. doi:10.1016/j.yrtph.2015.12.019
- Giroud, C., de Cesare, M., Berthet, A., Varlet, V., Concha-Lozano, N., & Favrat, B. (2015). *E-Cigarettes: A Review of New Trends in Cannabis Use*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(8), 9988–10008. doi:10.3390/ijerph120809988
- Goniewicz, M. L., Knysak, J., Gawron, M., Kosmider, L., Sobczak, A., Kurek, J., ... Benowitz, N. (2013). *Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes*. *Tobacco Control*, 23(2), 133–139. doi:10.1136/tobaccocontrol-2012-050859
- Goniewicz, M. L., Gawron, M., Smith, D. M., Peng, M., Jacob, P., & Benowitz, N. L. (2016). *Exposure to Nicotine and Selected Toxicants in Cigarette Smokers Who Switched to Electronic Cigarettes: A Longitudinal Within-Subjects Observational Study*. *Nicotine & Tobacco Research*, 19(2), 160–167. doi:10.1093/ntr/ntw160
- Grana, R., Benowitz, N. and Glantz, S. A. (2014) 'E-cigarettes: A scientific review',
- Jensen, K., Nizamutdinov, D., Guerrier, M., Afroze, S., Dostal, D., & Glaser, S. (2012). *General mechanisms of nicotine-induced fibrogenesis*. *The FASEB Journal*, 26(12), 4778–4787. doi:10.1096/fj.12-206458
- Knudsen, L. and Ochs, M. (2018) 'The micromechanics of lung alveoli: structure and function of surfactant and tissue components', *Histochemistry and Cell Biology*. Springer Berlin Heidelberg, 150(6), pp. 661–676. doi: 10.1007/s00418-018-1747-9.
- Korfei, M. (2018) 'The underestimated danger of E-cigarettes - also in the absence

- ofnicotine', *Respiratory Research*. *Respiratory Research*, 19(1), pp. 1–4. doi:10.1186/s12931-018-0870-4.
- Lerner, C. A., Sundar, I. K., Yao, H., Gerloff, J., Ossip, D. J., McIntosh, S., ... Rahman, I. (2015). *Vapors Produced by Electronic Cigarettes and E-Juices with Flavorings Induce Toxicity, Oxidative Stress, and Inflammatory Response in Lung Epithelial Cells and in Mouse Lung*. *PLOS ONE*, 10(2), e0116732. doi:10.1371/journal.pone.0116732
- Marianti, A. (2009) 'Aktivitas Antioksidan Jus Tomat pada Pencegahan Kerusakan Jaringan Paru-Paru Mencit yang Dipapar Asap Rokok', 1, pp. 1–7.
- Matulionis, D. and Yokel, o., 1988. Murine lung response to kaolin conveyed by cigarette smoke. *Virchows Archiv A Pathological Anatomy and Histopathology*, 413(3), pp.227-237.
- Mayhan, W. G. and Sharpe, G. M. (1999) *Chronic exposure to nicotine alters endothelium-dependent arteriolar dilatation: effect of superoxide dismutase*, *J. Appl. Physiol*. Available at: <http://www.jap.org>.
- Mcneill, A., Brose, L. S., Calder, R., and Hitchman, S. C. (2015) 'E-cigarettes: an evidence update', *Public Health England*, p.111.
- Mescher, L. A. (2016) 'Epitel respiratorik', *Histologi dasar junqueira teks dan atlas*, pp.292–308.
- Muthumalage, T., Prinz, M., Ansah, K. O., Gerloff, J., Sundar, I. K., & Rahman, I. (2018). *Inflammatory and Oxidative Responses Induced by Exposure to Commonly Used e-Cigarette Flavoring Chemicals and Flavored e-Liquids without Nicotine*. *Frontiers in Physiology*, 8. doi:10.3389/fphys.2017.01130
- Prasedya, E. S., Ambana, Y., Martyasari, N. W. R., Aprizal, Y., Nurrijawati, & Sunarpi. (2020). *Short-term E-cigarette toxicity effects on brain cognitive memory functions and inflammatory responses in mice*. *Toxicological Research*, 36(3), 267–273. doi:10.1007/s43188-019-00031-3
- Rohmani, A., Yazid, N. and Rahmawati, A. A. (2018) 'Rokok Elektrik dan Rokok Konvensional Merusak Alveolus Paru', 1, pp. 27–32.
- Sartika, N. A., Winaya, I. B. O., Adi, A. A. A. M., and Putra, I. P. W. J. (2018) 'Perubahan Histopatologi Paru-paru Mencit Jantan Pascapaparan Asap Rokok Elektrik', 7(4), pp. 402–412. doi: 10.19087/imv.2018.7.4.402.
- Sassano, M. F., Davis, E. S., Keating, J. E., Zorn, B. T., Kochar, T. K., Wolfgang, M. C., ... Tarran, R. (2018). *Evaluation of e-liquid toxicity using an open-source high-throughput screening assay*. *PLOS Biology*, 16(3), e2003904. doi:10.1371/journal.pbio.2003904

- Schweitzer, K. S., Chen, S. X., Law, S., Van Demark, M., Poirier, C., Justice, M. J., ... Petrache, I. (2015). *Endothelial disruptive proinflammatory effects of nicotine and e-cigarette vapor exposures*. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 309(2), L175–L187. doi:10.1152/ajplung.00411.2014
- Stanton, Bruce M.; Koeppen, B. A. (2008) *Berne & Levy physiology*. 6th edn. Philadelphia: Elsevier.
- Stevenson, T. and Proctor, R. N. (2008) 'The secret and soul of Marlboro: Phillip Morris and the origins, spread, and denial of nicotine freebasing', *American Journal of Public Health*, 98(7), pp. 1184–1194. doi: 10.2105/AJPH.2007.121657.
- Talih, S., Salman, R., El-Hage, R., Karaoghlanian, N., El-Hellani, A., Saliba, N., & Shihadeh, A. (2020). *Effect of free-base and protonated nicotine on nicotine yield from electronic cigarettes with varying power and liquid vehicle*. *Scientific Reports*, 10(1). doi:10.1038/s41598-020-73385-6
- Triana, N. and Ilyas, S. (2013) '(Mus musculus L .) SETELAH DIPAPARI ASAP ROKOK ELEKTRIK', (1).
- Vardavas, C. I., Anagnostopoulos, N., Kougias, M., Evangelopoulou, V., Connolly, G. N., & Behrakis, P. K. (2012). *Short-term Pulmonary Effects of Using an Electronic Cigarette*. *Chest*, 141(6), 1400–1406. doi:10.1378/chest.11-2443
- Verhaegen, A. and Van Gaal, L. (2017) 'Do E-cigarettes induce weight changes and increase cardiometabolic risk? A signal for the future', *Obesity Reviews*, 18(10), pp 1136–1146. doi: 10.1111/obr.12568.
- Widodo E. 2006. Pajanan Asap Rokok Kretek Pada Tikus Putih Sebagai Model Untuk Manusia: Perhatian Khusus pada Perubahan Histopatologi dan Ultrastruktur Saluran Napas. (Disertasi). Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ypsilantis, P., Politou, M., Anagnostopoulos, C., Kortsaris, A., & Simopoulos, C. (2012). A rat model of cigarette smoke abuse liability. *Comparative medicine*, 62(5), 395–399.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Ethical Clearance



FAKULTAS
KEDOKTERAN

Gedung Dr. Soeteman Wijonoedjaja
Komplek Rumah Sakit Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang km 14,5 Yogyakarta 55584
T. (0274) 808444 ext. 2096, 2097
F. (0274) 808459 ext. 2007
E. fk@uii.ac.id
W. uii.ac.id

Nomor : 14/Ka.Kom.Et/70/KE/VIII/2021

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :

"Analisis Pengaruh Variasi Konsentrasi Nikotin pada Penggunaan Vape terhadap Parameter Stres Oksidatif dan Histomorfologi Organ : Studi *In Vivo*"

Peneliti Utama : Naufal Arif Ismail
Principal Investigator

Nama Institusi : Program Studi Pendidikan Dokter FK UII
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
and approved the above-mentioned protocol.

Yogyakarta, 18 Agustus 2021
Ketua
Chairman

dr. Rahma Yuantari, M.Sc, Sp.PK

*Ethical Approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan

**Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini ethical clearance harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tengah jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (serious adverse events)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan informed consent

Lampiran 2. Hasil Skoring dan Analisis

Tabel 6. Data Hasil Skoring Pembacaan Slide Alveolus Tikus Strain Wistar

No	N	V0	V6	V12
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	1	2	2
4	1	1	1	2
5	1	1	2	2
6	1	1	1	2
7	1	1	1	2

Keterangan Tabel 3. (N) adalah kelompok kontrol normal yang tidak diberikan pemaparan asap vapor, (V0) adalah kelompok intervensi asap vapor dengan nikotin sebanyak 0 mg, (V6) adalah kelompok intervensi asap vapor dengan nikotin 6 mg, (V12) adalah kelompok intervensi asap vapor dengan nikotin 12 mg.

Tabel 7. Hasil Uji Normalitas

Kelompok	Saphiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
V0	0,453	7	0,000
V6	0,664	7	0,001
V12	0,453	7	0,000

Keterangan Tabel 4. Uji normalitas saphiro-wilk dilakukan karena sampel pada penelitian ini <50 sampel. Data dikatakan terdistribusi normal jika nilai Signifikansi (Sig. atau p) lebih besar dari 0,05. Hasil analisis uji normalitas saphiro wilk pada tabel 3 menunjukkan semua kelompok memiliki hasil Sig. lebih dari 0,05 yang bermakna data pada seluruh kelompok terdistribusi normal. Nilai N konstan sehingga tidak dilakukan uji normalitas.