



**EFEK VITAMIN E TERHADAP JUMLAH TOTAL LEUKOSIT
DAN NEUTROFIL TIKUS WISTAR YANG LEUKOSITOSIS
SETELAH DIBERI PAPAN ASAP ROKOK**

*THE EFFECT OF VITAMIN E ON LEUCOCYTE AND NEUTROPHIL COUNTS
IN WISTAR RATS WHICH LEUKOCYTOSIS INDUCED BY CIGARETTE
SMOKE*

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai derajat sarjana strata-1 kedokteran umum**

**DIPA YUNIHARILMY
G2A007061**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
TAHUN 2011**

EFEK VITAMIN E TERHADAP JUMLAH TOTAL LEUKOSIT DAN NEUTROFIL TIKUS WISTAR YANG LEUKOSITOSIS SETELAH DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK

Dipa Yuniharilmy¹, Andrew Johan²

ABSTRAK

Latar belakang : Peningkatan jumlah perokok yang cenderung naik pesat dari tahun ke tahun, bahkan saat ini Indonesia telah menduduki peringkat ketiga jumlah perokok terbesar di dunia. Perokok berat membutuhkan tambahan asupan antioksidan sebab kadar beta karoten dan vitamin C dalam plasma darah lebih rendah apabila dibandingkan dengan orang yang tidak merokok. Vitamin E juga merupakan salah satu antioksidan alami yang penting dan merupakan vitamin yang larut dalam lemak dan tidak larut dalam air .

Metode : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan *The Post Test-Only Control Group Design*. Populasi penelitian adalah tikus wistar yang dikembangkan di laboratorium Universitas Negeri Semarang, sampel dipilih secara *simple random* dibagi menjadi 2 kelompok dimana tiap kelompok terdapat 5 ekor wistar. Pada penelitian ini 1 kelompok sebagai kontrol hanya diberi asap rokok 1 batang perhari dan kelompok perlakuan yang diberi asap rokok dan vitamin E 100mg/kgBB. Perlakuan diberikan selama 30 hari, pada hari ke-31 dilakukan pengambilan sampel darah. Selanjutnya dihitung jumlah total leukosit dan neutrofil.

Hasil : Analisis deskriptif didapatkan nilai *mean* lebih tinggi pada kelompok kontrol baik pada jumlah total leukosit maupun neutrofil. Dengan uji *Saphiro-Wilk*, didapatkan distribusi data normal. Hasil uji parametrik *independent T-test* terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok kontrol dan perlakuan pada jumlah total leukosit ($p=0,02$). Sedangkan untuk kelompok kontrol dan perlakuan pada jumlah neutrofil juga menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,04$).

Simpulan : Jumlah total leukosit dan neutrofil pada tikus wistar yang terpapar asap rokok yang diberikan vitamin E lebih rendah secara bermakna dibanding dengan yang tidak diberi vitamin E.

Kata kunci : Vitamin E, jumlah total leukosit, jumlah neutrofil, rokok

¹Mahasiswa program pendidikan S-1 kedokteran umum FK Undip

²Staf pengajar Bagian Biokimia FK Undip, Jl.Dr.Sutomo No.18 Semarang

**THE EFFECT OF VITAMIN E ON LEUCOCYTE AND NEUTROPHIL
COUNTS IN WISTAR RATS WHICH LEUKOCYTOSIS INDUCED BY
CIGARETTE SMOKE**

ABSTRACT

Background : *An increasing number of smokers who tend to rise rapidly from year to year, even at this time Indonesia has been ranked the third largest number of smokers in the world. Heavy smokers need additional intake of antioxidants because level of beta carotene and vitamin C in blood plasma is lower when compared with non smoker. Vitamin E is also one of the important natural antioxidants and vitamins that are fat soluble and insoluble in water.*

Methods : *This study is an experimental research laboratory with the approach of The Post Test Only Control Group Design. The study population was wistar rats that developed in the laboratory of the Universitas Negeri Semarang, is selected by simple random sample is divided into two groups where each group contained five rats. In this first study as a control group given only one stick of cigarette smoked per day and treatment group were given vitamin E 100mg/kg. Treatment given for 30 days, at day 31 performed blood sampling. Then calculated the total number of Leukocytes and neutrophils.*

Result : *Descriptive analysis of the mean value obtained was higher in the control group in both the total number of leucocytes and neutrophils. With the Shapiro-Wilk test, obtained a normal data distribution. Parametric test results of independent T-test found significant difference between control and treatment groups in the total number of leucocytes ($p=0,02$). As for the control group and treatment on the number of neutrophils also showed a significant difference ($p=0,04$).*

Conclusion : *There are significant differences in the total number of leucocytes and neutrophils in wistar rats exposed to cigarette smoke are given vitamin E with those not given vitamin E.*

Keyword : *Vitamin E, total number of leucocytes, number of neutrophils, smoke*

PENDAHULUAN

Sudah umum untuk diketahui bahwa kebiasaan merokok dapat menyebabkan datangnya berbagai penyakit. Namun, tampaknya pengetahuan tentang bahaya nikotin dan racun-racun pada rokok tidak cukup ampuh dalam mengajak orang untuk berhenti merokok. Jumlah perokok aktif di Indonesia mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Jumlah perokok aktif di Indonesia yang pada tahun 1990-an sekitar 22,5 persen naik menjadi 60 persen dari jumlah penduduk pada tahun 2000. Dengan peningkatan jumlah perokok yang cenderung naik pesat dari tahun ke tahun, maka tak heran bila saat ini Indonesia telah menduduki peringkat ketiga jumlah perokok terbesar di dunia.¹

Hasil penelitian terdahulu telah melaporkan terdapat peningkatan kadar marker inflamasi (C- reactive protein/CRP, fibrinogen, dan limfosit) pada perokok aktif (orang yang merokok lebih dari 10 batang per hari) dari pada yang tidak pernah merokok.² Merokok dalam jangka panjang juga meningkatkan jumlah total leukosit, terutama jumlah polymorphonuclear neutrophil (PMN) pada sirkulasi darah perokok.³

Penelitian lain juga menjelaskan bahwa merokok dapat menurunkan kadar nitric oxide (NO)₂ dan dapat menyebabkan peningkatan kadar radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif (SOR) dalam darah.^{4,5}

Radikal bebas mampu secara langsung dan tidak langsung menginduksi stres oksidatif dalam tubuh. Hasil penelitian terdahulu juga melaporkan bahwa stress oksidatif dikaitkan dengan jantung koroner, penuaan, kanker, dan lain-lain.⁶

Beberapa penelitian menjelaskan pada perokok berat membutuhkan tambahan asupan antioksidan sebab kadar beta karoten dan vitamin C dalam plasma darah lebih rendah apabila dibandingkan dengan orang yang tidak merokok.⁷

Vitamin E juga merupakan salah satu antioksidan alami yang penting. Vitamin E atau tokoferol merupakan vitamin yang larut dalam lemak dan tidak larut dalam air. Vitamin E dapat bekerja sebagai antioksidan dengan cara memutus berbagai reaksi rantai radikal bebas peroksidasi asam lemak takjenuh ganda yang terperoksidasi.⁸

METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juni 2011, tikus wistar dipelihara di Laboratorium MIPA Universitas Diponegoro. Pemaparan asap rokok pada tikus dilakukan di laboratorium Universitas Negeri Semarang, dan pemeriksaan jumlah total leukosit dan neutrofil di balai laboratorium kesehatan provinsi Jawa Tengah

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimental dengan desain *The Post Test-Only Control Group Design*, menggunakan tikus wistar jantan dengan kriteria inklusi berat badan 150-250 gram, dalam dan leukositosis (leukosit meningkat 35%)⁹. Sedangkan kriteria eksklusi mencit mati sebelum dilakukan observasi.

Variabel bebas penelitian ini adalah pemberian vitamin E pada tikus wistar yang leukositosis akibat asap rokok dengan dosis 100 mg/kgBB, skala nominal. Variabel tergantung penelitian ini adalah jumlah total leukosit dan neutrofil pada tikus yang terpapar asap rokok.

Pemberian vitamin E adalah pemberian vitamin E dengan dosis 100 mg/kgBB perhari peroral dengan sonde lambung. Jumlah total leukosit dan neutrofil adalah Jumlah total leukosit dan neutrofil yang dihitung dengan hematology analyzer menggunakan alat Sysmex PooH-100i.

Tikus wistar sebanyak 14 ekor diadaptasikan selama 7 hari, wistar dibagi secara *simple random sampling* menjadi 2 kelompok. Seluruh populasi diukur jumlah total leukositnya kemudian diadaptasi selama 1 minggu di laboratorium dengan pakan minum standar, kemudian diberi perlakuan pemaparan asap rokok 1 batang per hari selama 2 minggu. Tikus diukur jumlah leukositnya untuk mengetahui bahwa sudah terjadi leukositosis. Kelompok K1 diberikan asap rokok, K2 diberikan asap rokok dan vitamin E dengan dosis 100 mg/kg berat badan selama 1 bulan. Lalu diukur jumlah total leukosit dan neutrofil tiap kelompok.

Hasil penghitungan jumlah total leukosit dan neutrofil tiap kelompok selanjutnya diolah dan dilakukan analisa dengan menggunakan SPSS versi 17. Dilakukan uji normalitas dengan uji *Saphiro-Wilk*. Jika distribusi data dinilai normal maka dilanjutkan ke uji hipotesis dengan uji *independent T test*. Apabila

distribusi data dinilai tidak normal maka uji hipotesis dilakukan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Batas nilai yang dianggap signifikan dalam penelitian adalah jika $p < 0,05$ dengan interval kepercayaan 95%.

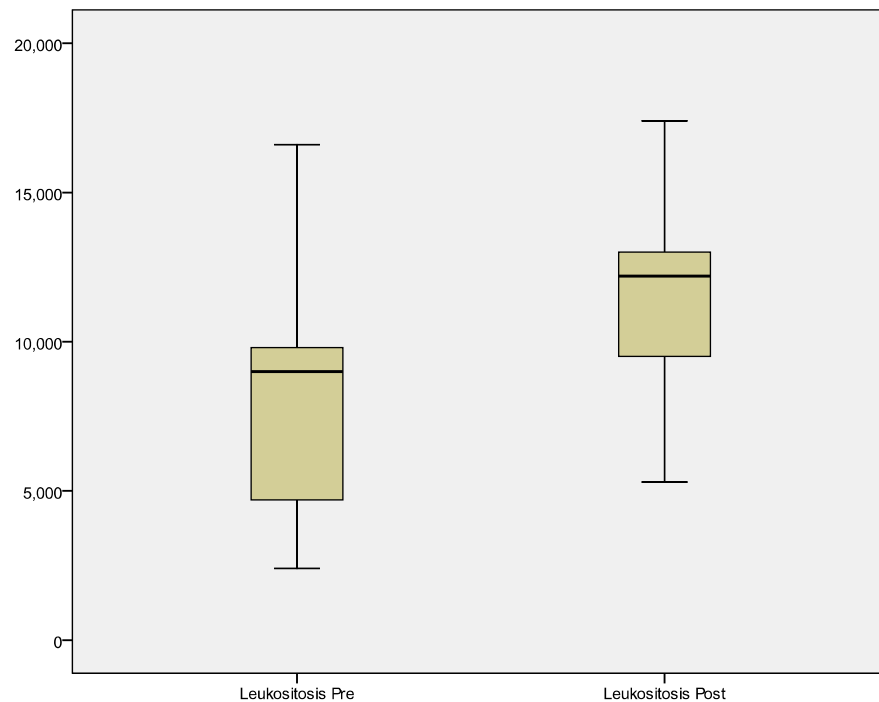
HASIL

Berdasarkan analisis pemeriksaan jumlah leukosit sebelum pemberian asap rokok (pre) dan setelah pemberian asap rokok (post) diperoleh data terdistribusi normal berdasarkan uji normalitas *Saphiro-wilk* ($p > 0,05$), yaitu kelompok pre didapatkan $p = 0,604$ dan kelompok post $p = 0,369$.

Tabel 5.1 Hasil Uji Statistik Jumlah Total Leukosit Sebelum dan Setelah Pemberian Asap Rokok

Kelompok	Rerata \pm standart deviasi	Uji normalitas (<i>Saphiro-wilk</i>)
Pre	8428 \pm 3890.705	0,604
Post	11635.71 \pm 3126.71	0.369

Tabel diatas menunjukkan nilai rerata jumlah total leukosit setelah pemberian asap rokok lebih tinggi dibandingkan sebelum pemberian asap rokok.



Gambar 5.1 Boxplot jumlah total leukosit Sebelum dan Setelah Pemberian Asap Rokok

Hasil uji parametrik diperoleh nilai $p=0,001$ sehingga dapat disimpulkan terdapat peningkatan jumlah total leukosit yang bermakna antara sebelum dan sesudah pemberian asap rokok.

5.2.1 Jumlah Total Leukosit

Data *post-test* yang diperoleh dari kedua kelompok (K1 dan K2) untuk jumlah total leukosit terdistribusi secara normal berdasarkan uji normalitas *Saphiro-wilk* ($p>0,05$), yaitu untuk kelompok K1 didapatkan $p=0,765$, kelompok K2 didapatkan $p=0,38$.

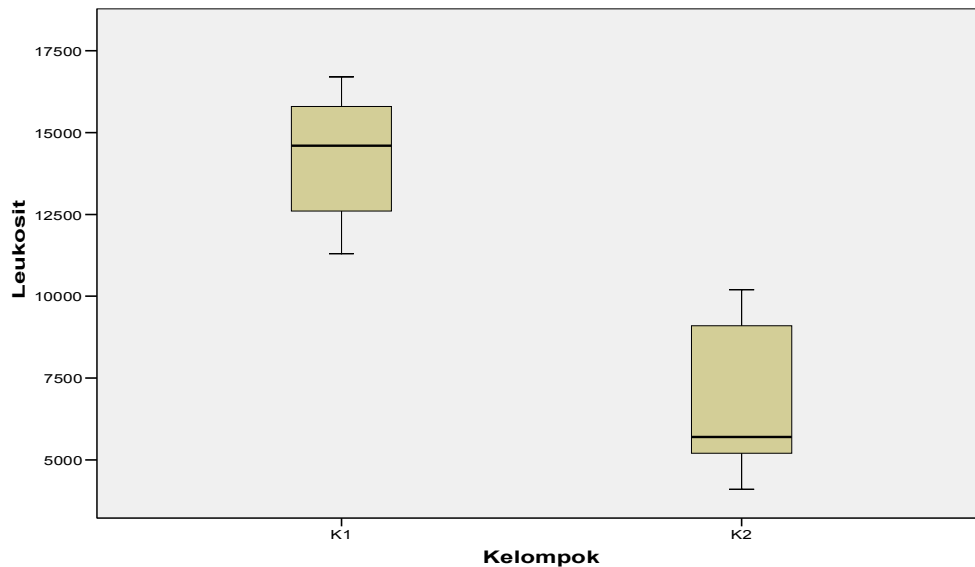
Tabel 5.2 Uji Statistik Jumlah Total Leukosit

Kelompok	Rerata \pm standart deviasi	Uji normalitas (<i>Saphiro-wilk</i>)
K1	14200 \pm 2232.711	0,765
K2	6860 \pm 2640.644	0,381

K1 adalah kelompok tikus yang diberi asap rokok.

K2 adalah kelompok tikus yang diberi asap rokok dan vitamin E

Tabel diatas menunjukkan nilai rerata jumlah total leukosit kelompok perlakuan lebih rendah dibanding kelompok kontrol.



Gambar 5.2 boxplot jumlah total leukosit

Hasil uji parametrik diperoleh nilai $p=0,02$ sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan jumlah total leukosit yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

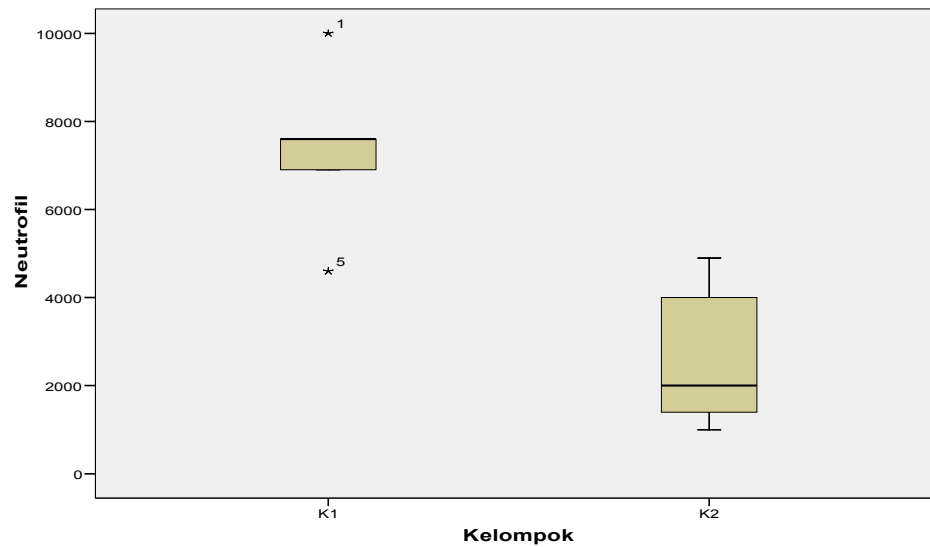
5.2.2 Jumlah Neutrofil

Data *post-test* yang diperoleh dari kedua kelompok (K1 dan K2) untuk jumlah neutrofil terdistribusi secara normal berdasarkan uji normalitas *Saphiro-wilk* ($p>0,05$), yaitu untuk kelompok K1 didapatkan $p=0,716$, kelompok K2 didapatkan $p=0,379$.

Tabel 5.3 Uji Statistik Jumlah Neutrofil

Kelompok	Rerata \pm standart deviasi	Uji normalitas (<i>Saphiro-wilk</i>)
K1	7340 \pm 1930.803	0,716
K2	2660 \pm 1702.351	0,379

Tabel diatas menunjukkan nilai rerata jumlah neutrofil kelompok perlakuan lebih rendah dibanding kelompok kontrol.



Gambar 5.3 boxplot jumlah neutrofil

Hasil uji parametrik diperoleh nilai $p=0,04$ sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan jumlah neutrofil yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Penelitian eksperimental ini dilakukan pada 2 kelompok tikus wistar, dimana tiap kelompok terdiri dari 5 ekor dan diberikan perlakuan yang berbeda. Penelitian ini dengan pendekatan *The Post Test-Only Control Group Design* yaitu dengan cara membandingkan hasil observasi pada kelompok kontrol dan perlakuan setelah diberi tindakan. Kelompok perlakuan diberi vitamin E 100 mg/kgBB dan diasapi rokok satu batang per hari, sedangkan pada kelompok kontrol diberi paparan asap rokok tanpa vitamin E.

Perlakuan yang diberikan pada tikus wistar sebelum diberi tindakan yaitu terlebih dahulu dipapar dengan asap rokok selama dua minggu sehingga menjadi leukositosis. Leukositosis yang dimaksud adalah leukosit meningkat 35 % setelah pemaparan. Uji statistik menunjukkan bahwa terdapat peningkatan bermakna pada jumlah total leukosit sebelum dan sesudah pemaparan. Rerata jumlah total

leukosit sebelum diasapi berjumlah $8428/\text{mm}^3$ kemudian setelah diberi asap rokok rerata jumlah total leukosit meningkat menjadi $11635/\text{mm}^3$.

Berdasarkan penghitungan jumlah total leukosit dan neutrofil, kemudian dilakukan uji statistik sehingga diperoleh rerata jumlah leukosit pada kelompok kontrol $14200/\text{mm}^3$ dan pada kelompok perlakuan berjumlah $6860/\text{mm}^3$. Rerata jumlah neutrofil $7340/\text{mm}^3$ untuk kelompok kontrol dan $2660/\text{mm}^3$ pada kelompok perlakuan. Uji hipotesis menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada jumlah leukosit dan neutrofil antara sebelum dan setelah perlakuan, yaitu pada jumlah leukosit $p=0,02$ sedangkan pada jumlah neutrofil $p=0,04$. Hal ini sesuai dengan hipotesis yang menyebutkan bahwa terdapat perbedaan jumlah total leukosit dan neutrofil pada tikus wistar yang terpapar asap rokok yang diberikan vitamin E dengan yang tidak diberi vitamin E.

Penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa merokok dapat menurunkan kadar antioksidan dalam serum.¹⁰ Asap rokok dapat menyebabkan inflamasi sistemik sehingga mediator inflamasi seperti leukosit dan neutrofil meningkat jumlahnya pada sirkulasi.^{11,12} Penelitian lain menyatakan bahwa perokok berat membutuhkan tambahan asupan antioksidan sebab kadar beta karoten dan vitamin C dalam plasma darah lebih rendah apabila dibandingkan dengan orang yang tidak merokok.⁷ Vitamin E juga merupakan salah satu antioksidan yang cara kerjanya memutus berbagai reaksi rantai radikal bebas peroksidasi asam lemak takjenuh ganda yang terperoksidasi.⁸

Berdasarkan hal tersebut diatas dapat dihubungkan bahwa pemberian vitamin E yang merupakan antioksidan dapat menurunkan jumlah total leukosit dan neutrofil pada tikus leukositosis yang telah diinduksi asap rokok.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization (WHO) : The WHO report on the global tobacco epidemic, The MPOWER package. Geneva, Switzerland : World Health Organization, 2008.
2. Bazzano LA, He J, Muntner P, Vupputuri S, Whelton PK, Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the united states. *Ann Intern Med* 2003; 138: 891-97
3. Wannamethee S.Goya, Lowe Gordon DO. Shaper A. Gerald, et al. Association between cigarette smoking, pipe/cigar smoking, and smoking cessation, and haemostatic and inflammatory markers for cardiovascular disease. *Eur Heart J* 2005; 26:1765-73
4. Barua RS, Ambrose JA, Eales-Reynolds LJ, DeVoe MC, Zervas JG, Saha DC. Dysfunctional endothelial nitric oxide biosynthesis in healthy smokers with impaired endothelium-dependent vasodilatation. *Circulation* 2001; 104: 1905–10
5. Murohara T, Kugiyama K, Ohgushi M, Sugiyama S, Yasue H. Cigarette smoke extract contracts isolated porcine coronary arteries by superoxide anion-mediated degradation of EDHF. *Am J Physiol* 1994; **266**: 874– 80
6. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2007;39:44–84
7. Farchi S, Forastiere F, Pistelli R, Baldacci S, Simoni M, Perucci CA, Viegi G Exposure to environmental tobacco smoke is associated with lower plasma beta-carotene levels among nonsmoking women married to a smoker. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001 Aug;10(8):907
8. Mayes PA. Struktur dan Fungsi Vitamin Larut-Lipid. In : Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodewell VW, editor. *Biokimia Harper*. Cetakan 1. Edisi 25. Jakarta: ECG.2003

9. Mitruka BM, Rawnsby. Clinical Biochemical and Haemathological Reference Value in Normal Experimental Animal and Normal Humans, 2nd edition. Chicago: Medical Publisher;1987
10. Wei W, Kim Y, Boudreau N. Association of smoking with serum and dietary levels of antioxidants in adults: NHANES III, 1988–1994. Am J Public Health, 2001; 91:258–64
11. van Eeden SF, Yeung A, Quinlam K, Hog JC. Systemic response to ambient particulate matter: relevance to chronic obstructive pulmonary disease. Proc Am Thorac Soc 2005; 2:61–67
12. Terashima T, English D, Hogg JC, Van Eeden SF, (1998). Release of polymorphonuclear leucocyte from the bone marrow by interleukin-8. Blood. 1998;92:1931-41.