

**PENGARUH CAIRAN ROKOK ELEKTRIK AROMA  
KAYU MANIS (*Cinnamomum sp.*) TERHADAP VIABILITAS DAN  
KONFLUENTITAS SEL PARU-PARU TIKUS (*Rattus norvegicus*)  
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**SITI KOLIPPATUS S.**  
NIM. 14620055



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2019**

**PENGARUH CAIRAN ROKOK ELEKTRIK AROMA  
KAYU MANIS (*Cinnamomum sp.*) TERHADAP VIABILITAS DAN  
KONFLUENTITAS SEL PARU-PARU TIKUS (*Rattus norvegicus*)  
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:  
SITI KOLIPPATUS S  
NIM. 14620055**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2019**

**HALAMAN PERSETUJUAN**  
**PENGARUH CAIRAN ROKOK ELEKTRIK AROMA**  
**KAYU MANIS (*Cinnamomum sp.*) TERHADAP VIABILITAS DAN**  
**KONFLUENTITAS SEL PARU-PARU TIKUS (*Rattus norvegicus*) SECARA**  
**IN VITRO**


**SKRIPSI**


Oleh:  
**SITI KOLIPPATUS S.**  
**NIM. 14620055**

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji  
Tanggal: 18 Juni 2019

Pembimbing I,

Pembimbing II,

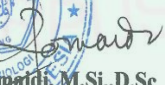
  
**Kholifah Holil, M.Si**  
NIP. 19751106 200912 2 002

  
**Umayyatus Syarifah, M.A**  
NIP. 19820925 200901 2 005

Mengetahui,

**Ketua Jurusan Biologi**







  
**Romaidi, M.Si., D.Sc**  
NIP. 19810201 200901 1 019

**PENGARUH CAIRAN ROKOK ELEKTRIK AROMA  
KAYU MANIS (*Cinnamomum sp.*) TERHADAP VIABILITAS DAN KONFLUENTAS  
SEL PARU-PARU TIKUS (*Rattus norvegicus*) SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:  
**SITI KOLIPPATUS S.**  
NIM. 14620055

telah dipertahankan  
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai  
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 14 Juni 2019

Penguji Utama	Dr. Drh. Hj. Bayyinatul M., M.Si NIP. 19710919 200003 2 001	
Ketua Penguji	Dr. Kiptiyah, M.Si NIP. 19731005 2002 12 2 003	
Sekretaris Penguji	Kholifah Holil, M.Si NIP. 19751106 200912 2 002	
Anggota Penguji	Umayyatus Syarifah, M.A NIP. 19820925 200901 2 005	

Mengesahkan,  
Ketua Jurusan Biologi

  
  
**Romaidi, M.Si., D.Sc**  
NIP. 19810201 200901 1 019

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Alhamdulillah atas segala nikmat yang telah Engkau berikan.*

*Alhamdulillah atas segala Rahman dan Rahim yang telah Engkau curahkan. Terimakasih ya Rabb telah Engkau berikan kesempatan kepadaku untuk merasakan kasih sayang seorang Ayah. Terimakasih ya Rabb telah Engkau kirimkan seorang Malaikat yang bernama "Emal" untuk merawatku dan menjagaku, yang kasih sayangnya tak akan pernah luntur oleh waktu. Alhamdulillah ya Rabb Engkau telah memberikanku kesempatan merasakan kasih sayang seorang kakak, saudara, dan keluarga. Terimakasih juga atas teman-teman baik dan lingkungan yang baik yang selalu Engkau berikan kepada hamba selama ini. Dan terimakasih juga atas guru-guru dan dosen-dosen terhebat yang tak pernah lelah mengajariku. Karya sederhana ini, ingin kupersembahkan untuk Emak, Ayah, kakak, keluarga besar, guru, dosen dan teman-teman semuanya.*

*Semoga Allah senantiasa Merahmati dan Meridhoi kita.  
Aamiin.*

### *Special Thanks to:*

- 1. Emak dan Bapak tersayang, Yahmi dan Alm. Mujiono*
- 2. Mbak Yun, Mas Malik, dan Mas Heru*
- 3. Keluarga besar tersayang*

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siti Kolippatus S.  
NIM : 14620055  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Skripsi : Pengaruh Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis (*Cinnamomum sp.*) terhadap Viabilitas dan Konfluenitas Sel Paru-Paru Tikus (*Rattus norvegicus*) Secara *In Vitro*

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 14 Juni 2019  
Yang membuat pernyataan,



Siti Kolippatus S.  
NIM. 14620055

## MOTTO

إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

“Sesungguhnya setelah kesulitan itu ada kemudahan”

Qs. Al-Insyirah (94):6

فَإِذَا فَرَغْتَ فَانصَبْ

“Maka disepakati kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain”

Qs. Al-Insyirah (94):7

Jangan pernah berputus asa, karena sesungguhnya pertolongan Allah itu dekat. Lakukanlah apa yang menjadi bagianmu (ikhtiar) dengan sungguh-sungguh lalu berdoalah dengan sepenuh hati kepada Allah. Dan Yakinkan bahwa Allah adalah sebaik-baik pemberi takdir. ☺

**PENGARUH CAIRAN ROKOK ELEKTRIK AROMA KAYU MANIS  
(*Cinnamomum sp.*) TERHADAP VIABILITAS DAN KONFLUENTITAS SEL  
PARU-PARU TIKUS (*Rattus norvegicus*) SECARA *IN VITRO***

Siti Kolippatus S, Kholifah Holil, Umayyatus Syarifah

**ABSTRAK**

Rokok elektrik merupakan salah satu alat yang digunakan sebagai program berhenti merokok. Akan tetapi kurangnya data objektif terkait keamanan rokok elektrik menimbulkan penggunaan rokok elektrik diragukan. Oleh karena itu, penelitian terkait keamanan rokok elektrik sangat dibutuhkan. Aroma yang diuji dalam penelitian ini adalah aroma kayu manis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh cairan rokok elektrik aroma kayu manis terhadap viabilitas dan konfluenitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan sampel sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) umur 3-4 hari yang dikultur dalam media DMEM dengan 10% FBS dan diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% suhu 37°C sampai mencapai konfluen 80%. Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu perlakuan tanpa pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis P1 (kontrol) dan perlakuan dengan pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis yaitu P2 (0.25%), P3 (0.5%), P4 (0.75%), dan P5 (1%). Data hasil penelitian berupa nilai viabilitas dan konfluenitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*), dianalisis menggunakan *one way* ANOVA ( $\alpha=0.05$ ). Hasil analisis yang berpengaruh kemudian diuji lanjut sesuai dengan besar nilai koefisien keragaman (KK) yang dihasilkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa cairan rokok elektrik aroma kayu manis berpengaruh terhadap viabilitas dan konfluenitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro*. Pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis sebanyak 1% merupakan perlakuan yang paling berpengaruh dalam menurunkan viabilitas dan konfluenitas yaitu  $56.13 \pm 2.298\%$  dan  $53.4 \pm 3.209\%$ .

Kata kunci: cairan rokok elektrik aroma kayu manis, *in vitro*, viabilitas, konfluenitas, sel paru-paru



**INFLUENCE OF ELECTRONIC CIGARETTES LIQUID WITH CINNAMON  
(*Cinnamomum sp.*) FLAVOR ON VIABILITY AND CONFLUENCY OF RAT  
(*Rattus norvegicus*) LUNG CELLS *IN VITRO***

Siti Kolippatus S, Kholifah Holil, Umayyatus Syarifah

**ABSTRACT**

Electronic cigarette is one of the tools that used for stop smoking program. But the lack of objective data regarding the safety of e-cigarettes is debated. Therefore, research related the safety of e-cigarettes is needed. The flavor that tested in this study is cinnamon flavor. The purpose of this study was to determine the effect of e-cigarette liquid with cinnamon flavor on the viability and confluence of rat lung cells (*Rattus norvegicus*) *in vitro*. This study was an experimental study that used about 3-4 days old of rat lung cell. (*Rattus norvegicus*). The sample were cultured in DMEM media with 10% FBS and incubated in a 5% CO<sub>2</sub> incubator at 37°C until 80% confluent. The design of this study used a completely randomized design (CRD) with 5 grup and 5 replications. The grup used were grup without e-cigarette liquid with cinnamon flavor treatment namely P1 (control) and grup e-cigarette liquid with cinnamon flavor namely P2 (0.25%), P3 (0.5%), P4 (0.75%) and P5 (1 %). The viability and confluence values of rat lung cells (*Rattus norvegicus*) from the research were analyzed using one way ANOVA ( $\alpha = 0.05$ ). The influential analys was results were then further tested according to the size of the diversity coefficient value produced. The results showed that e-cigarette liquid wih cinnamon flavor had an effect on the viability and confluence of rat lung cells (*Rattus norvegicus*) *in vitro*. The application of 1% e-cigarette liquid with cinnamon flavor was the most influential treatment in reducing viability and confluence, namely  $56.13 \pm 2.298\%$  and  $53.4 \pm 3.209\%$ .

Keywords: e-cigarette liquid with cinnamon flavor, *in vitro*, viability, confluence, lung cells.

تأثير سائل سيجارة الكهربائية برائحة القرفة (*Cinnamomum sp*) في القابلية وتوافق خلايا رئة  
الفئران (*Rattus norvegicus*) بداخلية الزجاجي (*In vitro*)  
سيبي قليفة س، خليفه هوليل ، عمية الشارفة

### ملخص البحث

سيجارة الكهربائية احدى الأدوات التي تُعمل كبرامج للتوقف دخان. بل نقص المعلومات التجرد متعلقة بتأمين  
سيجارة الكهربائية تسببها مشكولة في المجتمع. لذلك البحث المتربطة بسيجارة الكهربائية لوازمة جدا. رائحة المختبر  
في هذا البحث هي رائحة القرفة. الهدف من هذه الدراسة هو لتعريف تأثير سائل سيجارة الكهربائية برائحة القرفة  
(*Cinnamomum sp*) في القابلية وتوافق خلايا رئة الفئران (*Rattus norvegicus*) بداخلية الزجاجي  
(*In vitro*). هذا البحث بحث تجريبية وتستخدم 3-4 أيام من عينات خلايا رئة الفئران (*Rattus norvegicus*)  
المستزرعة في وسائط DMEM بنسبة 10% FBS وحضنت في حاضنة 5 CO<sub>2</sub> عند 37 درجة مئوية حتى تصل إلى 80% متكدسة. استخدم تصميم هذه الدراسة تصميماً عشوائياً تماماً (CRD) مع 5  
علاجات و 5 نسخ متماثلة. كانت المعالجات المستخدمة هي العلاج دون إعطاء رائحة السيجارة الإلكترونية P1  
رائحة القرفة (السيطرة) والعلاج مع إدارة السجائر الإلكترونية رائحة القرفة السائلة وهي P2 (0,25%) و P3  
(0,5%) و P4 (0,75%) و P5 (1%). قد تم تحليل البيانات من نتائج جدوى والتقاء خلايا الرئة الفئران  
(*Rattus norvegicus*) باستخدام طريقة واحدة (ANOVA  $\alpha = 0.05$ ). يتم بعد ذلك اختبار نتائج  
التحليل المؤثر وفقاً لحجم قيمة معامل التنوع المنتجة. أظهرت النتائج أن رائحة قرفة السائل السيجارة الإلكترونية لها  
تأثير على قابلية خلايا الرئة بالماوس (*Rattus norvegicus*) في المختبر والتقاءها. يعتبر تطبيق 1% من سائل  
السجائر الإلكترونية على رائحة القرفة هو العلاج الأكثر نفوذاً في الحد من قابلية الحياة والتقاء، أي  $56.13 \pm$   
 $2.298$  و  $53.4 \pm 3.209$ .

الكلمات الأساسية: سائل سيجارة الكهربائية، رائحة القرفة، بداخلية الزجاجي، القابلية وتوافق، خلية رئة.

## KATA PENGANTAR

*Assalaamu'alaikum warahmatullaahi wabarakaatuh*

*Alhamdulillahirobbil 'alamiin*, puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala Rohman dan Rohim-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan segala rangkaian penyusunan skripsi dengan judul “**Pengaruh Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis (*Cinnamomum sp.*) terhadap Viabilitas dan Konfluenitas Sel Paru-Paru Tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in Vitro***”. Sholawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW, yang telah membawa cahaya terang bagi peradaban, termasuk bidang pendidikan.

Selesainya penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan, bantuan, dukungan, serta do'a dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag., selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si., D.Sc., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Kholifah Holil, M.Si., selaku dosen pembimbing utama yang dengan penuh keikhlasan, kesabaran dalam memberikan bimbingan, pengarahan, dan motivasi spiritual selama penyusunan skripsi ini.

5. Umaiyatus Syarifah, M.A., selaku dosen pembimbing agama yang dengan sabar telah membimbing dan mengarahkan penyusunan skripsi ini pada kajian al-Quran dan as-sunnah.
6. Ruri Siti Resmisari, M.Si., selaku dosen wali yang senantiasa memberikan pengarahan, semangat dan nasehat.
7. Seluruh dosen, staf dan administrasi, serta laboran terutama laboran kultur jaringan hewan Jurusan Biologi yang telah banyak membantu selama proses penyusunan skripsi ini.
8. Bapak ku tercinta Mujiono (Alm.) dan Emak ku tercinta Yahmi yang dengan penuh perjuangan, keikhlasan dan kesabaran telah memberikan segala bentuk dukungan serta do'a kepada penulis untuk menyelesaikan studi sampai penulisan skripsi ini.
9. Kakak-kakaku tercinta Imam Malik, Yunita Pertiwi dan Putut Heru Susilo yang senantiasa memberikan do'a, semangat serta dukungan kepada penulis.
10. Seluruh keluarga besar yang selalu memberikan dukungan materil maupun moril kepada penulis dalam menyelesaikan proses belajar dan skripsi.
11. Miftakhul Jannah, S.Si., Almeris Hanifah B, S.Si., Khalimatus Sa'diyah, S.Si., Noer Istiana, S.Si., Ermaswati Lamadike, S.Si., selaku rekan penelitian di *Aniaml Cell Culture* (ACC) yang selalu memberikan dukungan, motivasi dan do'a kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
12. Abrianti Pradita, S.Si., Alif Qurrotul, S.Si., Aisyah Silmi Kaffah, S.Si., Dwi Rizqi, S.Si., Yunita Indawati, S.Si., Ainul Khatimah, S.Si., Setya Jenio Malangi, S.Si., Yayang Nia, S.Si., Dian Eka Sari, S.Si., Alvina Khoirul, S.H.,

Faizatur Rizka Bella, S.Si., dan Arina Khusnah, S.Si., yang selalu menyemangati dengan do'a dan senyuman.

13. Teman-teman Medicare dan Biologi khususnya angkatan 2014 yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih telah menjadi teman dan saudara selama 4 tahun perkuliaan, hingga berjuang bersama menyelesaikan tugas akhir untuk memperoleh gelar S.Si.

14. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, baik materil maupun moril.

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang lebih baik atas bantuan, dukungan, pemikiran, dan do'a terbaiknya. Sebagai akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi para pembaca.

*Aamiin yaa robbal 'aalamiin.*

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb*

Malang, 18 Juni 2019

Penulis

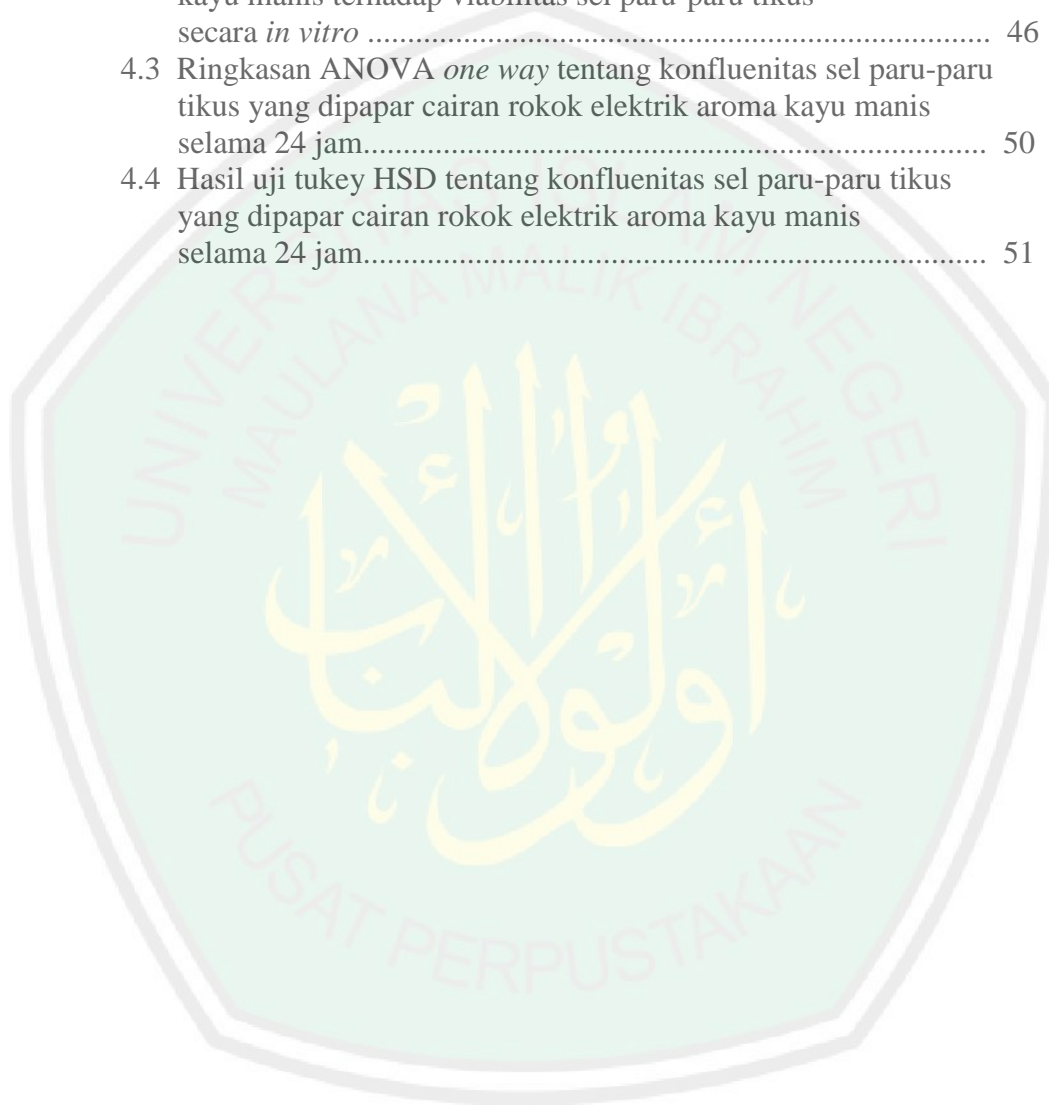
## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	v
MOTTO .....	vi
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
ملخص البحث .....	ix
KATA PENGANTAR .....	x
DAFTAR ISI .....	xiii
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR GAMBAR .....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvii
 <b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	9
1.3 Tujuan .....	10
1.4 Hipotesis .....	10
1.5 Manfaat .....	10
1.6 Batasan Masalah .....	11
 <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Tinjauan Umum Rokok Elektrik .....	12
2.2 Kandungan Cairan Rokok Elektrik .....	13
2.2.1 <i>Propylene Glycol</i> .....	13
2.2.2 <i>Glycerin</i> .....	15
2.2.3 Nikotin .....	16
2.2.4 Aroma pada Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis .....	17
2.3 Paru-Paru .....	18
2.4 Kultur Sel Paru-Paru <i>In Vitro</i> .....	19
2.5 Proliferasi Sel Paru-Paru <i>In Vitro</i> .....	22
2.6 Pengaruh Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis Terhadap Sel Paru-Paru .....	27
2.7 Pengamatan Viabilitas dan Konfluenitas Sel .....	29
 <b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Rancangan Penelitian .....	31
3.2 Variabel Penelitian .....	32
3.3 Alat dan Bahan .....	32
3.3.1 Alat-Alat Penelitian .....	32
3.3.2 Bahan-Bahan Penelitian .....	33

3.4	Prosedur Penelitian .....	33
3.4.1	Sterilisasi Ruang, Alat, dan Bahan .....	33
3.4.2	Pembuatan Media Stock DMEM .....	34
3.4.3	Sterilisasi Cairan Rokok Elektrik .....	35
3.4.4	Kultur Sel Paru-Paru .....	35
3.4.5	Pemberian Cairan Rokok Elektrik .....	36
3.4.6	Pengamatan Viabilitas dan Konfluenitas Sel .....	36
3.5	Analisis Data .....	37
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>		
4.1	Pengaruh Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis ( <i>Cinnamomum sp.</i> ) terhadap Viabilitas Sel Paru-Paru Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) secara <i>In Vitro</i> .....	43
4.2	Pengaruh Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis ( <i>Cinnamomum sp.</i> ) terhadap Konfluenitas Sel Paru-Paru Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) secara <i>In Vitro</i> .....	49
<b>BAB V PENUTUP</b>		
5.1	Kesimpulan .....	56
5.2	Saran .....	56
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		57
<b>LAMPIRAN.....</b>		66

## DAFTAR TABEL

4.1 Ringkasan ANOVA <i>one way</i> tentang pengaruh cairan rokok elektrik aroma kayu manis terhadap viabilitas sel paru-paru tikus secara <i>in vitro</i> .....	45
4.2 Hasil uji LSD tentang pengaruh cairan rokok elektrik aroma kayu manis terhadap viabilitas sel paru-paru tikus secara <i>in vitro</i> .....	46
4.3 Ringkasan ANOVA <i>one way</i> tentang konfluenitas sel paru-paru tikus yang dipapar cairan rokok elektrik aroma kayu manis selama 24 jam.....	50
4.4 Hasil uji tukey HSD tentang konfluenitas sel paru-paru tikus yang dipapar cairan rokok elektrik aroma kayu manis selama 24 jam.....	51





## DAFTAR GAMBAR

2.1. Struktur Rokok Elektrik .....	13
2.2. Struktur Kimia <i>Propylene Glycol</i> .....	13
2.3. Struktur Kimia <i>Cinnamaldehyde</i> .....	18
2.4. Bagian-Bagian pada Paru-Paru Tikus .....	19
2.5. Siklus Sel .....	23
2.6. Kultur Sel Epitel Paru-Paru Tikus .....	26
2.7. Kurva Pertumbuhan Kultur Primer Sel Paru-Paru Tikus.....	27
4.1 Kultur Sel Paru-Paru Tikus selama 12 hari dalam Media DMEM 10% .....	40
4.2. Hasil Pewarnaan Sel dengan Menggunakan <i>trypan blue 0.4%</i> .....	44
4.3 Kultur Sel Paru-Paru Tikus Setelah Pemberian Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis.....	53

## DAFTAR LAMPIRAN

1. Pengenceran Konsentrasi Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis .....	66
2. Analisis Data tentang Viabilitas Sel Paru-Paru Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	67
3. Analisis Data tentang Persentase Kofluenitas Sel Paru-Paru Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....	73
4. Perhitungan Viabilitas Sel Sebelum ditanam.....	73
5. Sel Sebelum ditanam .....	73
6. Perhitungan Nilai PDT pada hari ke-12 setelah Kultur .....	74
7. Dokumentasi Penelitian .....	74



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Merokok merupakan kebiasaan buruk yang dapat menyebabkan masalah kesehatan. Dampak buruk merokok ini sudah diketahui oleh banyak orang, namun jumlah perokok tidak mengalami penurunan melainkan terus mengalami peningkatan (Astuti, 2010). Sepanjang tahun 2014, konsumsi rokok di dunia mencapai 5.8 triliun batang, dan 240 miliar batang (4.14%) diantaranya dikonsumsi oleh perokok di Indonesia. Hal ini menyebabkan Indonesia berada pada urutan ke empat negara pengonsumsi rokok terbesar di dunia setelah China (2.57 triliun batang), Rusia (321 triliun batang), dan Amerika Serikat (281 triliun batang)(Kadir, 2015).

Banyaknya jumlah perokok ini tentu berdampak pada semakin tingginya penyakit yang disebabkan oleh rokok dan bertambahnya kematian akibat rokok. Menurut Riskesdas (2010), rokok dapat membunuh 1 dari 10 orang dewasa di seluruh dunia, dengan angka kematian dini mencapai 5,4 juta jiwa per tahun. Pada tahun 2030, diperkirakan angka kematian perokok di dunia akan mencapai 10 juta jiwa, dan 70% diantaranya berasal dari negara berkembang. Selain itu, pada akhir abad ini diperkirakan rokok dapat membunuh lebih dari 1 miliar orang jika tidak ada usaha untuk menanggulangnya. Oleh karena itu, WHO membentuk WHO *Framework Convention on Tobacco Control* (WHO-FCTC) yang menyediakan solusi untuk masalah epidemi tembakau yang telah mendunia. Hingga saat ini WHO mendorong

masyarakat untuk berhenti merokok dengan berbagai metode, salah satunya adalah dengan menggunakan NRT atau *Nicotine Replacement Therapy* (terapi pengganti nikotin)(WHO, 2009).

NRT merupakan metode yang menggunakan suatu media untuk memberikan nikotin tanpa melalui pembakaran tembakau yang merugikan. Walaupun NRT hanya ditujukan untuk menghilangkan pembakaran pada proses merokok, namun pada saat penggunaannya NRT dapat digunakan sebagai program berhenti merokok dengan cara menurunkan dosis nikotin secara bertahap. Ada beberapa macam NRT yang saat ini beredar di masyarakat, salah satunya adalah rokok elektrik. Rokok elektrik merupakan salah satu NRT yang menggunakan listrik dari baterai untuk memberikan nikotin dalam bentuk uap, WHO menyebutnya sebagai *electronic nicotine delivery system* (ENDS) (WHO, 2009 ; William *et al.*, 2010).

Rokok elektrik pertama kali dibuat oleh salah satu perusahaan di Cina pada tahun 2003 dan dengan cepat menyebar ke seluruh dunia, termasuk di Indonesia. Struktur rokok elektrik ini terdiri atas tiga bagian yaitu: *cartridge* (berisi cairan rokok elektrik yang disebut *electronic liquid* atau *e-liquid*), *battery* (bagian yang berisi baterai), dan *atomizer* (bagian yang digunakan untuk memanaskan dan menguapkan larutan nikotin)(*Electronic Cigarette Association*, 2009). Di Indonesia rokok elektrik dapat dengan mudah dibeli karena dijual melalui penjualan *online* (BPOM, 2015). Mudahnya pembelian rokok elektrik ini menyebabkan penggunaan rokok elektrik di Indonesia semakin banyak. Akan tetapi, sampai saat ini belum ada data pasti terkait banyaknya pengguna rokok elektrik di Indonesia, namun Riskesdas (2013)

melakukan survei dari total remaja yang ditemukan, dan 2.1% remaja menggunakan rokok elektrik selama 30 hari terakhir (Kemenkes RI, 2013).

Banyak perokok tembakau beralih menggunakan rokok elektrik (*Electronic cigarette*) dengan alasan untuk membantu berhenti merokok, mengurangi konsumsi merokok, tetapi dengan dampak kesehatan yang lebih sedikit (Caponeto *et al.*, 2013). Survei lain melaporkan bahwa beralihnya perokok untuk mencoba rokok elektrik dengan alasan karena rokok elektrik dapat memberikan nikotin ke dalam tubuh dan dapat mengurangi penggunaan tembakau. Selain itu, rokok elektrik juga dipercaya dapat mengganti kebiasaan merokok seseorang. Kelebihan menggunakan rokok elektrik bagi pengguna rokok elektrik adalah mereka tetap dapat mengkonsumsi rokok tanpa melalui proses pembakaran (Polosa *et al.*, 2011). Tidak seperti pada saat merokok secara konvensional yang melalui pembakaran dan menimbulkan asap. Asap hasil pembakaran rokok konvensional ini memiliki kandungan yang berbahaya seperti tar yang dapat menyebabkan kanker (Nururrahmah, 2014). Selain tar, dalam asap rokok juga terdapat kandungan *hidroquinon* dan *semiquinon* yang dapat menyebabkan meningkatnya pelepasan ion besi di dalam tubuh, sehingga menyebabkan penurunan kerja sel tubuh (Muliartha, 2009).

Meskipun pada awal kemunculnya rokok elektrik ini digunakan sebagai alat bantu berhenti merokok, namun kurangnya data obyektif terkait keamanan rokok elektrik menyebabkan adanya perdebatan. Para pendukung rokok elektrik berpendapat bahwa rokok elektrik dapat digunakan sebagai strategi yang baik

pengurangan penggunaan tembakau (Phillips, 2009; Hajek, 2012). Para pendukung rokok elektrik juga berpendapat bahwa bahan-bahan cairan rokok elektrik dan kandungan racun yang dihasilkan dari uap rokok elektrik memiliki konsentrasi yang lebih rendah jika dibandingkan dengan rokok tembakau (Cahn dan Siegel, 2011). Sedangkan penentang rokok elektrik memiliki berbagai kekhawatiran seperti keamanan penggunaan jangka panjang rokok elektrik (Cobb *et al.*, 2010) potensi bahaya yang dapat ditimbulkan dari rokok elektrik tersebut (Trtchounian dan Talbot, 2011; Avdalovic dan Murin, 2012), selain itu adanya rokok elektrik yang tersedia dalam berbagai macam aroma ini juga dapat menarik remaja untuk menggunakan rokok elektrik, yang dapat mengarahkan pada penggunaan nikotin dan berpotensi beralih menggunakan rokok konvensional (Cobb *et al.*, 2010; Grana, 2013).

Oleh karena itu, penelitian terkait keamanan rokok elektrik sangat dibutuhkan. Terutama penelitian terkait bahaya yang dapat ditimbulkan dari perangkat rokok elektrik, paparan uap rokok elektrik, dan konstituen rokok elektrik, seperti cairan rokok elektrik. Cairan rokok elektrik merupakan komponen utama dalam rokok elektrik yang nanti akan diuapkan dan dihirup oleh pengguna. Pada umumnya cairan rokok elektrik ini berisi larutan yang terdiri dari 4 jenis campuran yaitu, *propylene glycol*, *glycerin*, air, aroma (*flavoring*) dan nikotin (BPOM RI, 2015). Secara umum dalam cairan rokok elektrik mengandung sekitar 65% *propylene glycol*, 35% *glycerin*, dan 1%-5% bahan kimia aroma dalam suatu botol (Behar *et al.*, 2016 ; Beauval *et al.*, 2017). Sedangkan kandungan nikotin pada cairan rokok elektrik bervariasi. Ada yang tidak mengandung nikotin, mengandung nikotin dengan

konsentrasi yang rendah, dan ada juga yang mengandung nikotin dalam jumlah yang tinggi (NSW, 2014).

Banyak penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh rokok elektrik terhadap sel secara *in vivo*, seperti menguji pengaruh uap rokok elektrik terhadap berbagai sel (Romagna *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2014; Schweitzer *et al.*, 2015; Sancilio *et al.*, 2016), dan ada juga yang menguji pengaruh cairan rokok elektrik langsung terhadap berbagai sel secara *in vitro* (Bahl *et al.*, 2012; Behar *et al.*, 2014; Lerner *et al.*, 2015; Muthumalange *et al.*, 2018). Menurut Behar *et al.*, (2016) pengaruh yang ditimbulkan cairan rokok elektrik dan uap rokok elektrik terhadap sel adalah sama, meskipun ada beberapa emisi yang ada pada uap rokok elektrik terlewatkan. Akan tetapi, dengan menggunakan cairan rokok elektrik, pengujian sitotoksitas yang dilakukan menjadi lebih mudah, lebih cepat dan lebih murah jika dibandingkan dengan menggunakan uap cairan rokok elektrik.

Bahaya cairan rokok elektrik dilaporkan berkorelasi dengan jumlah dan jenis bahan kimia aroma yang digunakan (Bahl *et al.*, 2012; Behar *et al.*, 2014; Lerner *et al.*, 2015). Saat ini ada lebih dari 7.000 aroma dalam rokok elektrik (Zhu *et al.*, 2014). Jika diklasifikasikan, ada delapan kategori aroma dalam cairan rokok elektrik yaitu, aroma buah, krim, tembakau, menthol, minuman, aroma manis, aroma bumbu, dan kacang-kacangan (Wang *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian terdahulu, dari sekian banyak aroma cairan rokok elektrik yang telah dipelajari, ternyata aroma kayu manis yang termasuk dalam kategori aroma bumbu merupakan aroma yang paling

berbahaya terhadap sel (*high cytotoxic*,  $IC_{50} < 0.1\%$ ) (Bahl *et al.*, 2012 ; Behar *et al.*, 2014).

Allah SWT telah mengajarkan kepada kita sebagai umat Islam untuk tidak mengonsumsi sesuatu yang dapat membahayakan tubuh, seperti rokok elektrik. Menurut Kasdi (2013) dalam mengonsumsi harus mempunyai prinsip yaitu menghalalkan yang halal dan mengharamkan yang haram. Allah SWT berfirman dalam al-Quran surat al-Imran (3): 57, sebagai berikut.

وَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا وَعَمِلُوا الصَّالِحَاتِ فَيُوَفِّيهِمْ أُجُورَهُمْ ۗ وَاللَّهُ لَا يُحِبُّ  
الظَّالِمِينَ

*“Adapun orang-orang yang beriman dan mengerjakan amalan-amalan yang saleh, maka Allah akan memberikan kepada mereka dengan sempurna pahal amalan-amalan mereka, dan Allah tidak menyukai orang-orang yang zalim”*(QS. al-Imran (3): 57).

Menurut tafsir Ath-Thabari (2008), kalimat “*وَاللَّهُ لَا يُحِبُّ الظَّالِمِينَ*” (*Allah tidak menyukai orang-orang yang berlaku zalim*) menjelaskan bahwa Allah tidak menyukai orang yang berlaku zalim, baik dengan mengambil hak orang lain atau meletakkan sesuatu bukan pada tempatnya. Secara terminologi, zalim dapat diartikan sebagai tindakan yang melampaui batas dan cenderung kepada keburukan (Tabbara, 1986). Sikap zalim juga dapat dilakukan kepada diri sendiri, seperti dengan melakukan dosa, kejahatan, dan keburukan. Dalam hal ini, menggunakan rokok elektrik dapat dikategorikan sebagai perbuatan zalim terhadap diri sendiri. Karena menyebabkan keburukan seperti masalah kesehatan pada tubuh.



Bahaya cairan rokok elektrik aroma kayu manis ini dilaporkan karena adanya *cinnamaldehyde* yang merupakan bahan kimia utama aroma dalam cairan rokok elektrik aroma kayu manis. Selain terdapat di cairan rokok elektrik aroma kayu manis, *cinnamaldehyde* juga terdapat dalam cairan rokok elektrik aroma tembakau, aroma manis (seperti karamel), dan aroma buah dalam konsentrasi yang tinggi maupun rendah. Pada konsentrasi yang rendah dilaporkan bahwa *cinnamaldehyde* dapat menyebabkan terjadinya penurunan pertumbuhan sel, perlekatan, dan penyebaran pada kultur sel, menyebabkan terjadinya perubahan morfologi sel dan meningkatkan kematian sel pada kultur sel paru-paru, sehingga dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi yang rendah *cinnamaldehyde* dalam rokok elektrik sudah bersifat sitotoksik dan genotoksik serta mempengaruhi kelangsungan hidup sel (Behar *et al.*, 2016).

Di Indonesia, saat ini telah banyak beredar cairan rokok elektrik yang beraroma kayu manis dalam bentuk aroma tunggal (aroma kayu manis saja) maupun campuran (aroma kayu manis dicampur dengan aroma lain untuk membentuk aroma baru yang lebih menarik). Beredarnya cairan rokok elektrik aroma kayu manis tanpa adanya data yang cukup terkait keamanannya tentu sangat berbahaya. Apalagi status keamanan rokok elektrik yang masih diperdebatkan. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui bagaimana pengaruh cairan rokok elektrik aroma kayu manis terhadap viabilitas dan konfluenitas sel paru-paru tikus secara *in vitro*.

Sel paru-paru yang dikultur dalam penelitian ini adalah sel paru-paru yang berasal dari tikus *neonatus* sekitar umur 3-4 hari. Sel paru-paru tikus *neonatus* ini

digunakan sebagai model untuk mengetahui pengaruh yang dapat ditimbulkan selain pengguna rokok elektrik, seperti pada bayi dan anak kecil. Hal ini karena potensi terpaparnya rokok elektrik paling tinggi dapat terjadi pada bayi dan anak-anak, seperti menghirup paparan rokok elektrik yang berasal dari orang dewasa dan dapat juga melalui kontak dengan benda yang terkontaminasi dengan rokok elektrik (Drummond dan Dona, 2014).

Cairan rokok elektrik aroma kayu manis yang digunakan dalam penelitian ini adalah cairan rokok elektrik aroma kayu manis dalam bentuk tunggal tanpa campuran dari aroma lain. Hal ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh cairan rokok elektrik aroma kayu manis sebelum dicampur dengan aroma lain terhadap sel. Cairan rokok elektrik yang digunakan dalam penelitian ini adalah cairan rokok elektrik aroma kayu manis yang diproduksi oleh USA. Hal ini karena rokok elektrik yang saat ini beredar di Indonesia merupakan barang impor. Badan POM telah mendorong pihak terkait agar kebijakan tentang rokok elektrik ini dapat segera ditetapkan. Hal ini merujuk kepada fakta-fakta dan perkembangan penggunaan rokok elektrik yang semakin banyak di Indonesia. Oleh karena itu, pengendalian dampak rokok bagi kesehatan perlu menjadi prioritas utama dengan mempertimbangkan perspektif jangka panjang untuk kesehatan bagi perokok maupun non-perokok (BPOM, 2015).

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada penelitian Behar *et al.*, (2014) yang melaporkan bahwa 1% cairan rokok elektrik aroma kayu manis merupakan konsentrasi yang toksik terhadap sel paru-paru secara *in vitro* , sehingga rentang konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini dimulai dari 0%

sampai 1%, yaitu 0%, 0.25%, 0.5%, 0.75%, dan 1%. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah viabilitas sel. Viabilitas sel merupakan respon sel jangka pendek seperti perubahan permeabilitas membran atau adanya gangguan pada jalur metabolisme tertentu dalam sel. Viabilitas sel ini sering digunakan sebagai penanda sitotoksitas suatu bahan. Sifat ini dapat digunakan untuk mengetahui sifat biologis suatu bahan apakah bersifat toksik pada sel tertentu atau tidak (Freshney, 2000). Sedangkan konfluenitas sel adalah suatu keadaan dimana sel hasil kultur sudah menempel dan berkembang memenuhi wadah kultur (Djati, 2006). Konfluenitas sel dapat digunakan untuk melihat banyaknya sel yang tumbuh dan melekat satu dengan yang lain pada wadah kultur (Freshney, 2000).

### 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Apakah cairan rokok elektrik aroma kayu manis (*Cinnamomum sp.*) berpengaruh terhadap viabilitas dan konfluenitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro*?
2. Cairan rokok elektrik aroma kayu manis (*Cinnamomum sp.*) konsentrasi berapakah yang paling berpengaruh terhadap viabilitas dan konfluenitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro* ?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui pengaruh cairan rokok elektrik aroma kayu manis (*Cinnamomum sp.*) terhadap viabilitas dan konfluenitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi cairan rokok elektrik aroma kayu manis (*Cinnamomum sp.*) berapakah yang paling berpengaruh terhadap viabilitas dan konfluenitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro*.

### 1.4 Hipotesa

Cairan rokok elektrik aroma kayu manis (*Cinnamomum sp.*) berpengaruh terhadap viabilitas dan konfluenitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro*.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi tentang pengaruh cairan rokok elektrik aroma kayu manis (*Cinnamomum sp.*) terhadap viabilitas dan konfluenitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro*.
2. Diharapkan masyarakat tidak menggunakan rokok elektrik aroma kayu manis (*Cinnamomum sp.*) yang berbahaya.

## 1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Cairan rokok elektrik aroma kayu manis (*Cinnamomum sp.*) yang diuji dalam penelitian ini yaitu *red hot cinnamon*, produksi USA dan tidak mengandung nikotin (0 mg).
2. Organ paru-paru yang digunakan berasal dari tikus yang berumur 3-4 hari. Kemudian dikultur dalam media DMEM 10%, dalam kondisi CO<sub>2</sub> 5% dan pada suhu 37°C.
3. Cairan rokok elektrik aroma kayu manis ditambahkan setelah hasil kultur sel primer paru-paru konfluent sekitar 80%. Cairan rokok elektrik yang ditambahkan pada *tissue culture dish* sebanyak 0.25%, 0.5%, 0.75%, dan 1% dalam media DMEM 10%, pada kondisi CO<sub>2</sub> 5% dan suhu 37°C. Pemaparan cairan rokok elektrik ini dilakukan selama 24 jam. Parameter yang diamati adalah viabilitas dan konfluenitas sel.

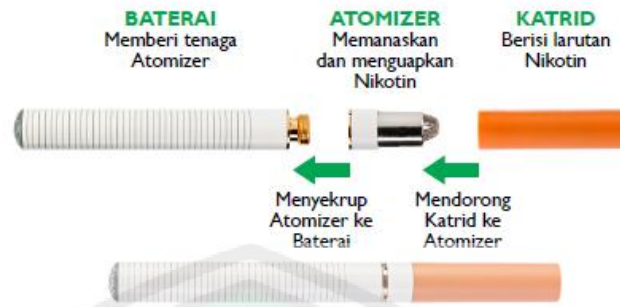
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Umum Rokok Elektrik

Rokok elektrik (*Electronic cigarette* atau *e-cigarette*) dikenal sebagai salah satu jenis rokok yang menggunakan listrik dari baterai untuk memberikan nikotin dalam bentuk uap. *World Health Organization* (WHO) menyebut rokok elektrik ini sebagai *Electronic Nicotine Delivery System* (ENDS) (WHO, 2009; *Electronic Cigarette Association*, 2009). Rokok elektrik pertama kali dibuat oleh Herbert A. Gilbert. Namun, yang pertama kali memproduksi rokok elektrik secara *modern* adalah Hon Lik, seorang apoteker asal Tiongkok. Hon Lik memproduksi rokok elektrik pertama kali pada tahun 2003, kemudian dipatenkan pada tahun 2004. Dan pada tahun 2006 sampai tahun 2007 rokok elektrik mulai menyebar ke seluruh dunia dengan berbagai merek (Caponneto *et al.*, 2014).

Struktur rokok elektrik ini terdiri atas 3 bagian yaitu *cartridge* (berisi larutan nikotin yang disebut *e-juice* atau *e-liquid*), *battery* (bagian yang berisi baterai), dan *atomizer* (bagian yang digunakan untuk memanaskan dan menguapkan larutan nikotin) seperti yang terlihat pada gambar 2.1 di bawah ini (*Electronic Cigarette Association*, 2009).



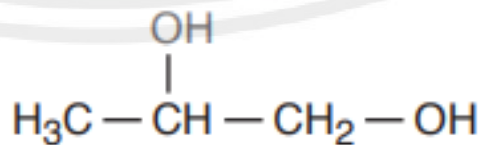
Gambar 2.1. Struktur Rokok Elektrik (Sumber : BPOM RI, 2015)

Cara penggunaan rokok elektrik ini seperti merokok biasa, yaitu dengan cara menghisapnya hingga lampu indikator pada ujung rokok elektrik menyala. Hisapan ini membuat *chip* dalam rokok elektrik mengaktifkan baterai yang akan memanaskan larutan nikotin dan menghasilkan uap yang akan dihisap oleh pengguna (Cobb *et al.*, 2010 ; *Electronic Cigarette Association*, 2009).

## 2.2. Kandungan Cairan Rokok Elektrik

Cairan rokok elektrik merupakan komponen utama dalam rokok elektrik yang nanti akan diuapkan dan dihirup oleh pengguna. Pada umumnya cairan rokok elektrik ini berisi larutan yang terdiri dari 4 jenis campuran yaitu, *propylene glycol*, *glycerin*, air, aroma (*flavoring*) dan nikotin (BPOM RI, 2015) sebagai berikut :

### 2.2.1. *Propylene Glycol*



Gambar 2.2. Struktur Kimia *Propylene Glycol* (NTP, 2004)

*Propylene glycol* ( $C_3H_8O_2$ ) merupakan senyawa organik yang memiliki karakteristik berupa cairan bening, kental, tidak berwarna, memiliki sedikit bau, dan rasa yang sedikit pahit. *Propylene glycol* ini memiliki sifat higroskopis, yaitu dapat menyerap air dengan baik, dan karena sifatnya tersebut, *propylene glycol* menjadi pelarut yang baik untuk melarutkan komponen hidrofobik. Selain itu, *propylene glycol* juga dapat digunakan sebagai pengemulsi untuk menstabilkan dua atau lebih cairan yang tidak dapat tercampur dengan baik. Hal inilah yang menyebabkan *propylene glycol* sering digunakan sebagai pelarut makanan, obat, dan kosmetik (Kumar *et al.*, 2011; Bischoff, 2013; Laino *et al.*, 2012).

Dalam cairan rokok elektrik, *propylene glycol* digunakan sebagai pelarut dan menjadi salah satu komponen dasar penyusun cairan rokok elektrik. Proporsi *propylene glycol* dalam rokok elektrik bervariasi tergantung pada merek rokok elektrik tersebut. Namun, secara umum dalam cairan rokok elektrik tersebut mengandung sekitar 65% *propylene glycol* (Beauval *et al.*, 2017).

*Food and Drug Administration* menyebutkan bahwa *propylene glycol* merupakan bahan yang aman dan tidak bersifat toksik. Nilai *lethal dose* (LD50) dari *propylene glycol* sebesar 20 gram/kg berat badan. Tanda dan gejala toksisitas akut *propylene glycol* meliputi peningkatan laju pernapasan, kehilangan keseimbangan, analgesia, koma, dan dapat menyebabkan kematian dalam 18 jam hingga 36 jam (Stratton *et al.*, 2018). Konradova *et al.*, (1978) mengevaluasi efek *propylene glycol* pada epitel saluran pernapasan kelinci yang diberi paparan asap *propylene glycol* (10%) selama 20 menit dan 120 menit. Paparan 20 menit tidak memiliki efek yang terlihat pada sel bersilia epitel



trakea, tetapi menghasilkan perubahan dalam sel goblet. Paparan selama 120 menit, terjadi perubahan pada sel goblet dan pada sel epitel silia. Sedangkan pemberian *propylene glycol* secara oral pada tikus dengan dosis 2.450 mg / kg setiap hari tidak menimbulkan adanya toksisitas pada sistem organ (LaKind *et al.*, 1999; Morris *et al.*, 1942).

### 2.2.2. *Glycerin*

*Glycerin* merupakan cairan tidak berwarna agak kuning, tidak berbau, berasa manis, bertekstur kental, dan bersifat higroskopis. *Glycerin* sering digunakan dalam pembuatan sabun, detergen, kosmetik, makanan, minuman, dan sebagai bahan tambahan pangan (pengemulsi, pengental, penstabil) (BPOM RI, 2011).

Dalam cairan rokok elektrik, *glycerin* menjadi salah satu komponen dasar cairan rokok elektrik, selain *propylene glycol*. Proporsi *glycerin* dalam rokok elektrik ini juga bervariasi tergantung pada merek rokok elektrik tersebut. Namun, secara umum dalam cairan rokok elektrik tersebut mengandung sekitar 35% *glycerin* (Beauval *et al.*, 2017). *Glycerin* biasanya digunakan sebagai zat pelarut dan pemanis dalam industri makanan. Dalam rokok elektrik, *glycerin* dan *propylene glycol* ini digunakan untuk mengatur kelembapan rokok elektrik (Carmines dan Gaworski, 2005).

*Food and Drug Administration* menyebutkan bahwa *glycerin* merupakan bahan yang aman dan tidak bersifat toksik. Dalam rokok elektrik, *glycerin* lebih tidak menyebabkan iritasi pada saluran pernapasan jika dibandingkan dengan

*propylene glycol*. Jadi tidak ada laporan terkait efek kesehatan yang dapat ditimbulkan dari *glycerin* (Stratton *et al.*, 2018).

### **2.2.3. Nikotin**

Nikotin mempunyai sifat fisika-berwujud cair seperti minyak, warna kuning pucat dan akan berubah menjadi coklat apabila terkena udara atau sinar. Namun karena dalam jumlah sedikit nikotin sukar untuk diidentifikasi, maka nikotin diendapkan sebagai nikotin dipikrat. Sifat kimia nikotin adalah larut dalam alkohol, klorofoam, eter, petroleum eter, dieter eter, dan bensin (Aji *et al.*, 2015). Nikotin merupakan senyawa kimia organik kelompok alkaloid yang dihasilkan secara alami oleh berbagai macam tumbuhan, seperti famili *solanaceae* dan tembakau. Nikotin ini merupakan zat yang bersifat sangat adiktif. Pada cairan rokok elektrik, kandungan nikotin yang terkandung bervariasi. Ada yang tidak mengandung nikotin, mengandung nikotin dengan konsentrasi yang rendah, dan ada juga yang mengandung nikotin dalam jumlah yang tinggi. Penggunaan nikotin dalam jangka pendek dapat menyebabkan peningkatan tingkat pernapasan, peningkatan denyut nadi, dan peningkatan tekanan darah. Sedangkan penggunaan nikotin dalam jangka panjang dikaitkan pada reproduksi kesehatan, termasuk terjadinya pengembangan paru-paru janin (NSW, 2014).

Pada cairan rokok elektrik seringkali konsentrasi nikotin tidak sesuai dengan label yang berada dalam botol setelah dilakukan pengujian secara ilmiah (Talih *et al.*, 2015). Padahal pada dosis yang tinggi, nikotin dapat menyebabkan keracunan dengan gejala yang ditimbulkan meliputi pusing, mual, muntah, sakit

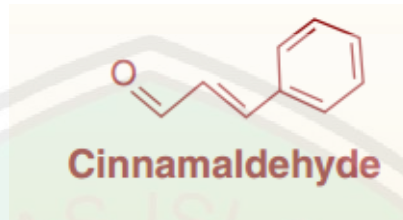
perut, diare, memperlambat detak jantung dan tingkat pernapasan, dan pada kasus yang parah dapat menyebabkan kematian (NSW, 2014).

#### **2.2.4. Aroma pada Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis**

Bahan keempat komponen penyusun cairan rokok elektrik adalah aroma. Konsentrasi bahan kimia dalam aroma rokok elektrik sebesar 1%-5% dalam suatu botol (Behar *et al.*, 2016). Terdapat lebih dari 7.000 aroma dalam rokok elektrik (Zhu *et al.*, 2014). Dan sebagian besar aroma rokok elektrik ini dilaporkan aman oleh *Flavor and Extracts Manufacturers Association* ketika dijadikan sebagai aroma makanan, tetapi berbahaya ketika menjadi aerosol dan dihirup (Barrington-Trimis *et al.*, 2016; FEMA, 2015). Misalnya seperti aroma yang bearomal dari golongan aldehida yang dapat menyebabkan iritasi pada saluran pernapasan (Tierney *et al.*, 2016). Pada penelitian ini, aroma rokok elektrik yang digunakan adalah aroma kayu manis. Menurut Behar *et al.*, (2014), bahan kimia aroma utama pada aroma kayu manis adalah *cinnamaldehyde*.

*Cinnamaldehyde* merupakan bahan kimia utama dalam produk rokok elektrik aroma kayu manis, tetapi juga telah ditemukan pada rokok elektrik aroma tembakau, aroma karamel, dan aroma buah (Behar *et al.*, 2016). *Cinnamaldehyde* merupakan minyak atsiri natural yang berasal dari daun dan ranting pohon kayu manis atau tumbuhan dari genus *Cinnamomum*. *Cinnamaldehyde* berwarna kuning pucat, dan beraroma hangat, manis, dan mempunyai rasa yang sedikit pedas khas seperti kayu manis (Blakemore dan Thompson, 1983; Katayama *et al.*, 1990). *Cinnamaldehyde* secara luas digunakan sebagai penyedap, serta sebagai pewangi dalam kosmetik, sabun dan

deterjen. Selain itu, *Cinnamaldehyde* juga sering digunakan sebagai obat perut, antipiretik dan anti sebagai tonik dalam obat tradisional Cina (Bretherick, 1985; Broeckx *et al.*, 1987).

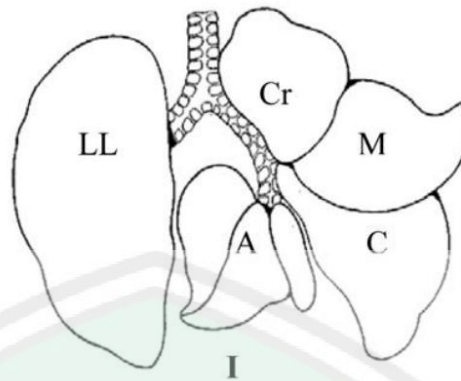


Gambar 2.3. Struktur Kimia *Cinnamaldehyde*  
(Groeger dan Bruce, 2010)

### 2.3 Paru-Paru

Paru-paru merupakan yang berfungsi sebagai alat respirasi utama dalam tubuh. Paru-paru terletak di dalam rongga dada dan dibagi menjadi dua bagian yaitu paru-paru kanan dan paru-paru kiri. Paru-paru terdiri dari beberapa lobus, ada satu lobus pada paru-paru kiri dan empat lobus pada paru-paru kanan (Herbert *et al.*, 2017; Sloane, 2003; Conti *et al.*, 2004).

Paru-paru dibungkus oleh membran serosa yang disebut dengan pleura. Pleura terdiri dari dua macam, yaitu pleura visceralis yang menyelubungi paru-paru dan pleura parietalis yang melapisi rongga dada. Tikus memiliki pleura visceralis yang relatif lebih tipis dibandingkan dengan manusia dan hewan besar. Paru-paru sebelah kanan dan kiri dipisahkan oleh mediastinum, yaitu jaringan ikat longgar yang terletak di tengah rongga thoraks (Herbert *et al.*, 2017).



Gambar 2.4. Bagian-bagian pada paru-paru tikus. Keterangan: A: Lobus aksesoris, C: Lobus kaudal, Cr: Lobus kranial, LL: Lobus kiri, M: Lobus medial (Junior *et al.*, 2005).

Paru-paru tersusun atas beberapa macam sel, seperti sel digest, sel makrofag alveolar, sel clara, sel alveolar tipe I dan sel alveolar tipe II. Sel makrofag alveolar merupakan sel yang berfungsi untuk menfagosit benda-benda asing yang masuk ke paru-paru. Sel clara berfungsi mensekresi zat yang disebut *clara cell secretory protein* (CCSP) yang berfungsi untuk mendetoksifikasi zat berbahaya yang masuk selama inhalasi. Sel alveolar tipe I merupakan sel yang bertanggung jawab dalam pertukaran gas (oksigen dan karbondioksida) dalam alveolus. Sel alveolar tipe II merupakan sel-sel yang aktif secara metabolik, mensekresi surfaktan, suatu fosfolipid yang melapisi permukaan dalam dan mencegah alveolar agar tidak kolaps (Dixon *et al.*, 1999; Bills dan Christie, 1980; Herbert dan Leininger, 1999).

#### 2.4 Kultur Sel Paru-Paru *in Vitro*

Kultur sel pertama kali dikembangkan pada awal tahun 2000. Kultur sel ini digunakan sebagai metode untuk mempelajari sel hewan secara *in vitro* (Thorpe, 2007). Kultur sel berkaitan dengan proses yang kompleks mengenai isolasi sel dari lingkungan aslinya (*in vivo*) maupun dalam kondisi lingkungan yang dikontrol (*in*

*vitro*). Hasil dari kultur sel ini dapat digunakan sebagai alat yang sangat diperlukan pada pengobatan modern dan diagnosis infeksi pada manusia (Hudu *et al.*, 2016). Selain itu, kultur sel juga dapat digunakan pada studi metabolisme dan fisiologi manusia yang tidak mudah dilakukan secara *in vivo* (Mitry *et al.*, 2012).

Kultur sel dimulai dari mengisolasi sel dari jaringan, lalu membiakkan dalam media penumbuhkultur sel selama beberapa hari atau beberapa minggu. Kultur sel ini harus dilakukan di dalam laboratorium yang steril dan lingkungan yang terkendali dengan melibatkan suhu, gas, dan tekanan. Hal ini karena, kondisi kultur sel harus menyesuaikan lingkungan sel secara *in vivo* sehingga sel dapat bertahan hidup dan melakukan proliferasi. Sel yang akan ditumbuhkan dalam kultur sel, dapat diperoleh dari jaringan normal maupun dari jaringan yang sakit, seperti sel kanker atau tumor yang diambil selama operasi sebagai bagian dari terapi untuk pasien (Mitry *et al.*, 2012).

Kultur sel primer merupakan penanaman pertama sel pada kondisi sintetik (Freshney, 2005). Kultur sel primer ini mengisolasi sel langsung dari jaringan tubuh (Klingbeil *et al.*, 2009). Ada beberapa teknik yang dapat digunakan untuk mengisolasi sel paru-paru, salah satunya adalah dengan cara mekanik dengan cara mencacahnya (Van overveld *et al.*, 1987; Lavinikova *et al.*, 1993) atau dengan cara menghaluskannya dengan cara menumbuk (Lavinikova *et al.*, 1993), atau dengan cara menambahkan *trypsin* (Kikkawa dan Yoneda, 1974; Brown dan Longmore, 1986). Hasil isolasi sel paru-paru kemudian dikultur dalam media kultur yang sesuai dengan kondisi sel secara *in vivo*.

Ada beberapa komponen yang harus diperhatikan dalam kultur *in vitro* antara lain adalah kondisi psikokimia dan fisiologis dari medium penumbuh sel. Hal ini juga mempengaruhi kultur sel primer karena pemilihan medium kultur harus didasarkan pada kebutuhan sel yang ditumbuhkan. Medium penumbuh sel harus menyediakan semua kondisi lingkungan yang sama dengan keadaan alami sel dalam lingkungan *in vivo*, agar sel tersebut dapat bertahan hidup, berkembang, dan berdiferensiasi (Malole 1990).

Medium juga merupakan komponen yang harus diperhatikan dalam kultur sel. Media yang umum digunakan dalam kultur sel mamalia adalah *Dulbecco's modified Eagle's medium* (DMEM). Medium ini merupakan medium kultur berupa buffer bikarbonat yang didesain untuk pH 7,2–7,4 pada keadaan 5% CO<sub>2</sub> dan 95% udara (Hogan *et al.*, 1994). Menurut Yadav dan Tyagi (2005) untuk memenuhi kebutuhan nutrisi sel selama pertumbuhan, medium dapat ditambahkan serum atau ekstrak embrio. Penambahan serum atau ekstrak embrio ini memang sangat beresiko terhadap kontaminasi, oleh karena itu perlu juga dilakukan penambahan antibiotik seperti penisilin atau streptomisin ke dalam medium untuk mencegah terjadinya kontaminasi.

Temperatur lingkungan kultur sel juga harus diperhatikan. Temperatur optimal untuk kultur sel tergantung pada suhu tubuh hewan dari mana sel diisolasi, perbedaan letak anatomis (misalnya temperatur kulit dan testis akan lebih rendah dibandingkan temperatur tubuh), dan pengaturan faktor keamanan untuk menghindari kesalahan (error) pada inkubator seperti kejadian overheating (Freshney 2005). Temperatur ini berpengaruh langsung terhadap pertumbuhan sel hasil kultur. Selain

itu, juga mempengaruhi pH melalui peningkatan kelarutan CO<sub>2</sub> pada temperatur rendah (Malole, 1990).

pH merupakan komponen yang juga memegang peranan penting dalam kultur (Malole 1990). Walau demikian, pH optimum untuk pertumbuhan sel relatif sedikit bervariasi berdasarkan jenis sel masing-masing (Freshney 2005). Sistem buffer yang biasa terdapat dalam medium adalah sistem karbondioksida – bikarbonat yang sama seperti kondisi darah. Saat sel tumbuh, sel menghasilkan CO<sub>2</sub>, tetapi CO<sub>2</sub> tersebut tidak dapat keluar karena sudah banyak CO<sub>2</sub> di atas medium. Akibatnya, terjadi penguraian NaHCO<sub>3</sub> dari medium yang menghasilkan kelebihan ion H<sup>+</sup> sehingga pH akan turun. Oleh karena itu, volume ruangan di atas medium perlu diperhatikan karena pada waktu kultur dimulai diperlukan 5% CO<sub>2</sub> untuk mempertahankan pH dan mencegah keluarnya CO<sub>2</sub> dari medium (Malole 1990).

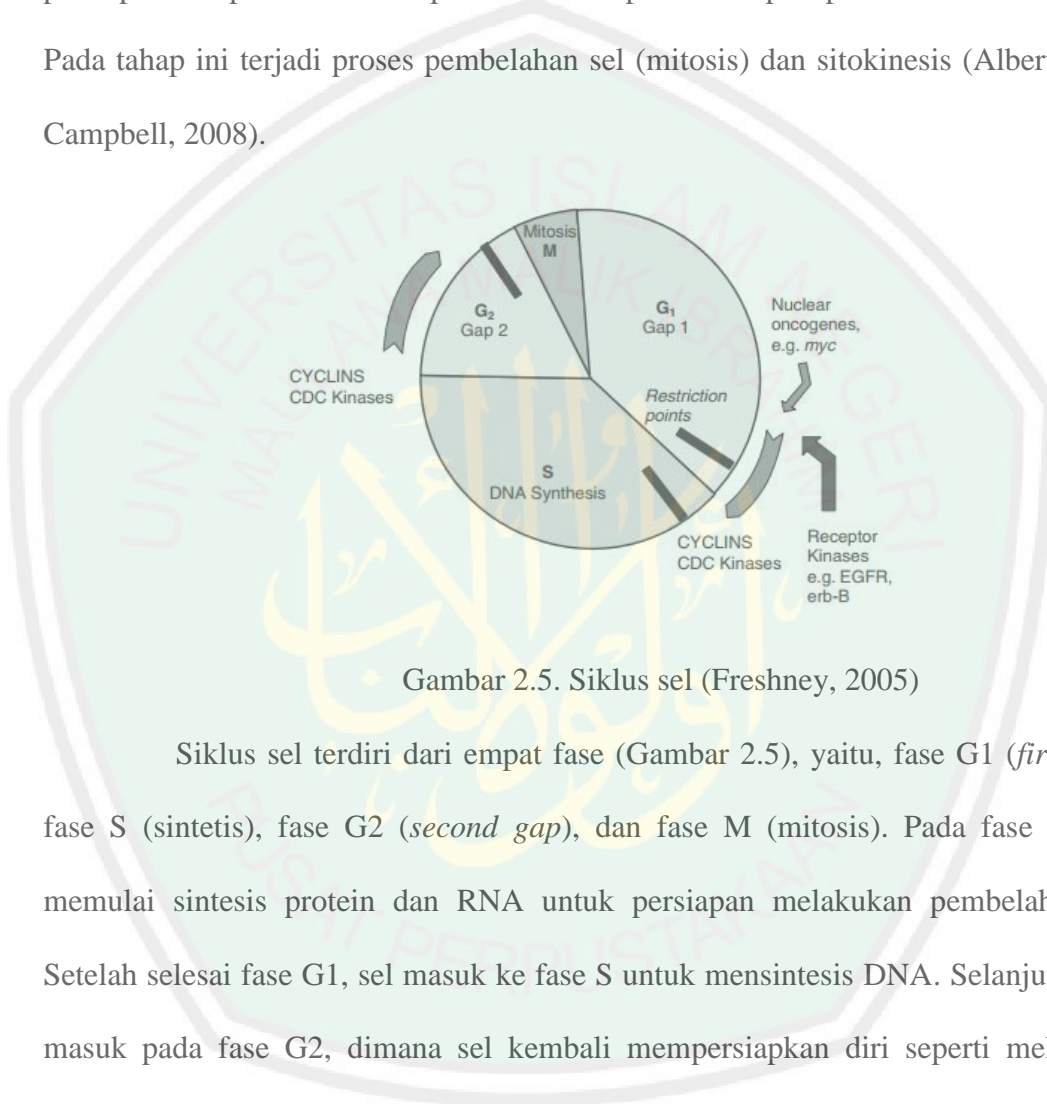
Peningkatan produksi sel pada kultur sangat tergantung pada kecukupan penyediaan oksigen. Oksigen yang terlarut dalam media hanya sedikit yaitu 7,6 mikrogram/mL sedangkan tingkat penggunaannya oleh sel kurang lebih 6 mikrogram/10 juta sel setiap jam. Pemberian oksigen pada kultur dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain pemberian udara pada permukaan medium, difusi membrane, perfusi medium, dan pemompaan oksigen langsung ke dalam media (Malole 1990).

## **2.5 Proliferasi Sel Paru-Paru *In Vitro***

Proliferasi merupakan proses pertumbuhan sel yang meliputi pembelahan sel secara aktif yang mengarah pada penambahan jumlah sel. Pembelahan sel secara fisiologis berlangsung dalam suatu siklus sel. Siklus sel dibagi menjadi dua tahap,



yaitu tahap interfase (I) dan tahap mitotik (M). Tahap interfase merupakan tahap terpanjang (90% dari siklus sel). Dalam tahap interfase sel mengalami proses pertumbuhan dan pembuatan salinan kromosom-kromosom yang digunakan untuk persiapan tahap mitotik. Tahap mitotik merupakan tahap terpendek dalam siklus sel. Pada tahap ini terjadi proses pembelahan sel (mitosis) dan sitokinesis (Albert, 2002; Campbell, 2008).



Gambar 2.5. Siklus sel (Freshney, 2005)

Siklus sel terdiri dari empat fase (Gambar 2.5), yaitu, fase G<sub>1</sub> (*first gap*), fase S (sintetis), fase G<sub>2</sub> (*second gap*), dan fase M (mitosis). Pada fase G<sub>1</sub>, sel memulai sintesis protein dan RNA untuk persiapan melakukan pembelahan sel. Setelah selesai fase G<sub>1</sub>, sel masuk ke fase S untuk mensintesis DNA. Selanjutnya sel masuk pada fase G<sub>2</sub>, dimana sel kembali mempersiapkan diri seperti melakukan sintesis RNA untuk melakukan pembelahan sel pada fase selanjutnya yaitu fase M. Pada fase M, sel mengalami pembelahan sel menjadi dua sel (Freshney, 2005; Pustztai, 1996).

Siklus sel menyebabkan jumlah sel semakin bertambah dan sel mengalami pertumbuhan. Pada kultur sel *in vitro*, pertumbuhan hasil kultur sel ini dibagi menjadi tiga fase (Freshney, 2010), yaitu:

1. *Lag phase*

*Lag phase* merupakan fase setelah penanaman kultur sel. Pada fase ini terjadi sedikit sekali proliferasi sel. *Lag phase* ini merupakan periode adaptasi bagi sel. Pada fase ini sel harus melekatkan diri terlebih dahulu pada substrat dan melakukan penyebaran diri (Freshney, 2010).

2. *Log phase*

*Log phase* merupakan fase terjadinya peningkatan jumlah sel atau proliferasi sel setelah *lag phase*. Panjang fase ini tergantung pada kecepatan tumbuh sel, kepadatan penanaman kultur sel, dan kepadatan sel (Freshney, 2010).

3. *Plateau phase*

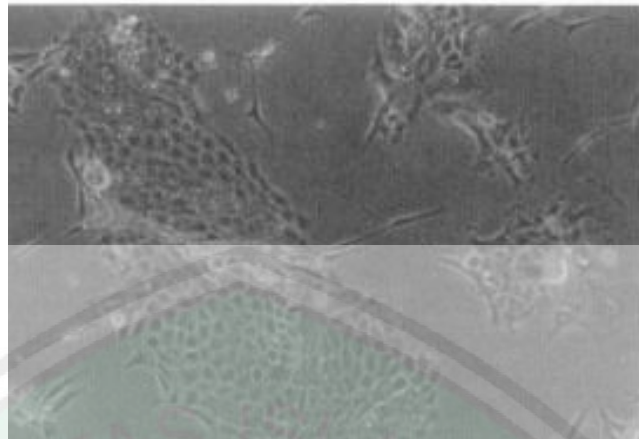
*Plateau phase* merupakan fase terakhir pada kultur sel. Pada fase ini terjadi penurunan proliferasi sel setelah jumlah sel konfluen. Fase plateau ini populasi sel yang tumbuh turun menjadi 0-10% (Trenggono, 2009).

Fase-fase pertumbuhan sel secara *in vitro* ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam al-Quran surah an-Nuh (71) ayat 14, sebagai berikut:

## وَقَدْ خَلَقَكُمْ أَطْوَارًا

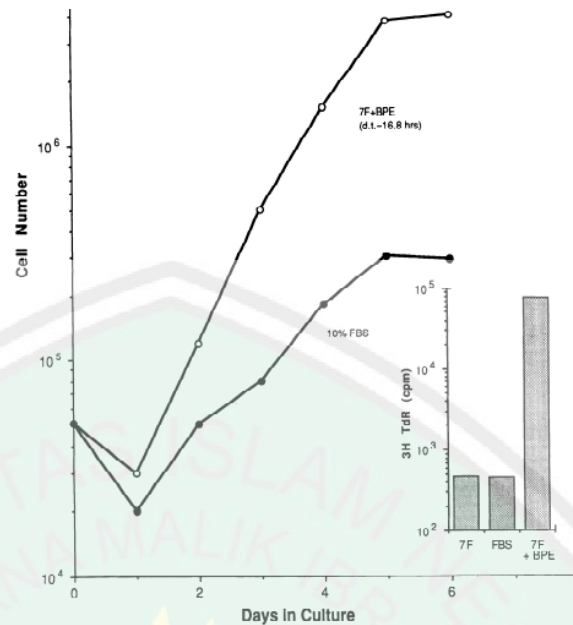
“Padahal sesungguhnya Dia telah menciptakan kalian dalam beberapa tingkatan kejadian” (Qs. an-Nuh (71): 14).

Kata “أَطْوَارًا” berasal dari kata “طور” yang berarti *masa* atau *fase*. Selain itu, kata “طور” juga dapat berarti kondisi yang dialami sesuatu, yang dalam kondisi ini dapat ditujukan pada fase-fase pertumbuhan sel secara *in vitro* (Shihab, 2002). Pada kultur sel paru-paru tikus, hari kedua setelah kultur sel paru-paru tikus akan menyebar di cawan kultur atau *tissue culture dish* (Bundschuh *et al.*, 1995). Selanjutnya sel akan mengalami pertumbuhan dan mengalami peningkatan proliferasi sampai hari ke lima setelah kultur (Roberts *et al.*, 1990). Bentuk sel dalam kultur primer paru-paru tikus akan menunjukkan bentuk sel *polimorfisme* yang tumbuh padat dan menyebar di cawan kultur, yang disebabkan karena banyaknya sel-sel penyusun paru-paru tikus (Tompa *et al.*, 1979). Akan tetapi, ketika mencapai konfluen, kultur sel paru-paru akan menjadi bipolar dan tidak menyebar (Trenggono, 2009).



Gambar 2.6. Kultur Sel Epitel Paru-Paru Tikus  
(Roberts *et al.*, 1990)

Ketika hasil kultur sel primer sudah berproliferasi dan berkembang, maka sel harus di subkultur. Subkultur hasil kultur sel primer dilakukan dengan mentrasfer sel-sel tersebut ke *petridish* baru dengan medium yang baru. Hal ini bertujuan untuk memberikan ruang bagi sel untuk pertumbuhan selanjutnya (Thermo Fisher Scientific, 2015). Berikut ini adalah kurva pertumbuhan hasil kultur sel epitel paru-paru tikus.



Gambar 2.7. Kurva Pertumbuhan Kultur Primer Sel Epitel Paru-Paru Tikik dalam Media yang Mengandung Serum (a. 7F+BPE, b.10%FBS ) (Roberts *et al.*, 1990)

## 2.6 Pengaruh Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis terhadap Sel Paru-Paru

Berdasarkan penelitian Behar *et al.*, (2014), sitotoksitas cairan rokok elektrik aroma kayu manis berkaitan dengan banyaknya jumlah bahan kimia *cinnamaldehyde* dalam botol. *Cinnamaldehyde* merupakan salah satu senyawa elektrofilik alami yang terdapat di kulit batang kayu manis (*Cinnamomum sp.*). Secara umum, *cinnamaldehyde* merupakan senyawa bioaktif yang diidentifikasi memiliki aktivitas anti-karsinogenik. Akibat dari aktivitas anti-karsinogenik ini, *cinnamaldehyde* memiliki sifat anti-proliferatif dan pro-apoptosis terhadap beberapa sel kanker (Wu *et al.*, 2005).

Reddy *et al.*, (2004) juga melaporkan bahwa *cinnamaldehyde* dapat menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B (*Nuclear factor kappa B*). NF- $\kappa$ B merupakan faktor

transkripsi sel yang berperan dalam kelangsungan hidup sel, dengan mentranskripsi gen-gen anti-apoptosis sel. Oleh karena itu, terhambatnya aktivasi NF- $\kappa$ B menyebabkan terjadinya penurunan ekspresi gen-gen anti-apoptosis endogen yang ditranskripsi oleh NF- $\kappa$ B termasuk *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS), *The Cellular Inhibitor of Apoptosis 1* (cIAP1) dan cFLIPL (Ke *et al.*, 2015; Taylor *et al.*, 1997).

Selain dikarenakan kandungan *cinnamaldehyde* pada cairan rokok elektrik aroma kayu manis, campuran berbagai komponen dalam cairan rokok elektrik juga dapat menyebabkan efek yang tidak terduga (Hanno *et al.*, 2018). Clapp *et al.*, (2019) melaporkan bahwa pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis pada sel paru-paru secara *in vitro* dilaporkan dapat mengganggu fungsi mitokondria pada sel, selain itu juga dapat meningkatkan stress oksidaif pada sel (Lerner *et al.*, 2015).

Behar *et al.*, (2016) telah mengevaluasi toksisitas *cinnamaldehyde* dalam 39 cairan rokok elektrik. Penelitian ini menggunakan spektrometri massa kromatografi gas dan menemukan bahwa 20 dari 39 cairan rokok elektrik mengandung *cinnamaldehyde* dengan konsentrasi yang sitotoksik untuk kultur sel embrio manusia dan kultur sel paru-paru. Pada konsentrasi yang tidak menyebabkan sitotoksitas, *cinnamaldehyde* dilaporkan menyebabkan penurunan pertumbuhan sel, perlekatan, dan penyebaran pada kultur sel, menyebabkan terjadinya perubahan morfologi seldan meningkatkan kematian sel. Secara umum, penelitian di atas menjelaskan bahwa pada konsentrasi yang rendah, *cinnamaldehyde* pada rokok elektrik sudah bersifat sitotoksik dan genotoksik serta mempengaruhi kelangsungan hidup sel.

## 2.7 Viabilitas dan Konfluenitas Sel

Viabilitas sel merupakan kemungkinan sel untuk bertahan hidup (Freshney, 2000) serta perbandingan jumlah sel yang hidup dan mati (Wulandari, 2003). Viabilitas sel menunjukkan respon sel jangka pendek seperti perubahan permeabilitas membran atau adanya gangguan pada jalur metabolisme tertentu dalam sel. Viabilitas sel ini sering digunakan sebagai penanda sitotoksitas suatu bahan. Sifat ini dapat digunakan untuk mengetahui sifat biologis suatu bahan apakah bersifat toksik pada sel tertentu atau tidak (Freshney, 2000).

Metode yang dapat digunakan untuk melihat viabilitas sel salah satunya adalah dengan menggunakan *trypan blue*. Bolt (2001) menjelaskan bahwa *trypan blue* merupakan pewarna yang efektif digunakan untuk uji viabilitas sel karena tidak menyebabkan perubahan terhadap integritas membran sel dan dapat memperlambat kematian sel. Pemberian *trypan blue* ini bertujuan untuk membedakan sel yang hidup dan sel yang mati. Sel yang mati akan berwarna biru karena membran sel nya mengalami lisis, sehingga protein dan plasmanya berikatan dengan *trypan blue*. Sedangkan sel yang hidup, tidak terwarnai oleh *trypan blue* karena tidak mengalami kerusakan pada membran sel nya (Djajanegara, 2009). Setelah sel terwarnai oleh *trypan blue*, jumlah sel yang hidup dan mati dapat dihitung dengan menggunakan *hemocytometer*.

Konfluen merupakan suatu keadaan dimana sel tumbuh dan melekat menutupi cawan kultur. Konfluen sel dapat digunakan sebagai parameter untuk melihat pertumbuhan sel dan interaksinya dengan lingkungannya. Menurut Budiono (2002)

konfluen sel merupakan suatu keadaan dimana semua substrat sudah terpakai oleh sel, dan sel saling berhubungan antara sel satu dengan sel lain.





## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian tentang pengaruh cairan rokok elektrik terhadap kultur sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro* merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Cairan rokok elektrik yang digunakan dalam penelitian ini adalah cairan rokok elektrik yang beraroma kayu manis yang tidak mengandung nikotin (0 mg). Menurut Hanafiah (2009), penentuan banyaknya ulangan menggunakan rumus seperti berikut:  $(t-1)(r-1) \geq 15$

Keterangan :  $t = Treatment$  / perlakuan

$r = Replikasi$  / ulangan

Berdasarkan rumus di atas, maka perlakuan dalam penelitian ini masing-masing dilakukan dalam 5 kali ulangan, sehingga pembagian perlakuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- P1 : Perlakuan satu (kultur sel paru-paru tikus dengan pemberian 0 % cairan rokok elektrik aroma kayu manis)
- P2 : Perlakuan dua (kultur sel paru-paru tikus dengan pemberian 0.25% cairan rokok elektrik aroma kayu manis)
- P3 : Perlakuan tiga (kultur sel paru-paru tikus dengan pemberian 0.5 % cairan rokok elektrik aroma kayu manis).

P4 : Perlakuan empat (kultur sel paru-paru tikus dengan pemberian 0.75% cairan rokok elektrik aroma kayu manis)

P5 : Perlakuan lima (kultur sel paru-paru tikus dengan pemberian 1% cairan rokok elektrik aroma kayu manis)

### 3.2 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Variabel bebas (*independent variable*), yang meliputi konsentrasi cairan rokok elektrik.
2. Variabel terikat (*dependent variable*), yang meliputi persentase hidup dan mati serta konfluenitas sel.
3. Variabel terkontrol, yang meliputi media kultur sel DMEM, sel paru-paru tikus dan cairan rokok elektrik.

### 3.3 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.3.1 Alat-Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spatula, aluminium foil, timbangan analitik (Sartorius Finlandia), botol scott, *Laminar Air Flow* (LAF) (Vertical Air Flow, AlabTech, Korea), *incubator* CO<sub>2</sub> (HERA Cell 150 ThermoScientific, Jepang), oven (Heraeus ThermoScientific, Jerman), autoklaf (Daihan Labtech, BioMedic, Korea), sentrifuse (Labatuge 200, ThermoScientific, Jepang), mikroskop inverted (Nikon Eclipse, Jepang), kulkas (Clasio XD7, Thosiba), *hemocytometer* (Marienfeld, Germany) spuit 10 cc, *syringe filter* 0.20µm, cawan petri, gelas beaker, corong gelas, mikropipet (20-200 µL dan 100-1000 µL), *Tissue culture dish* (TC dish), *tube sentrifuge*, botol jem, rak

tabung reaksi, tip (*yellow tip* dan *blue tip*), kain saring, spuit 1 cc, pinset, dan gunting.

### 3.3.2 Bahan-Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM)(12100-038, Gibco, USA), HEPES (Promega, USA), NaHCO<sub>3</sub> (Himedia), *streptomycin* (Meiji, Indonesia), *penicillin* (Meiji, Indonesia), *diionized water* (DI), aquades, NaCl 0.9%, cairan rokok elektrik aroma kayu manis (Vaporfi, USA), alkohol 70%, *tripan blue*, tripsin dan tikus *neonatus* umur 3 - 4 hari.

### 3.4 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui tiga tahap yaitu tahap persiapan meliputi sterilisasi ruang, alat dan bahan kultur jaringan hewan, pembuatan medium stock DMEM kultur jaringan hewan, dan sterilisasi cairan isi ulang rokok elektrik, tahap pelaksanaan meliputi kultur primer sel paru-paru tikus dan pemberian cairan isi ulang rokok elektrik, dan yang terakhir adalah tahap pengambilan data meliputi perhitungan jumlah sel yang hidup dan mati dan persentase konfluenitas sel.

#### 3.4.1. Sterilisasi Ruang, Alat dan Bahan Kultur Jaringan Hewan

Sterilisasi ruang kultur jaringan hewan meliputi lantai ruang kultur, *LAF*, dan *incubator* CO<sub>2</sub>. Lantai ruang kultur disterilisasi dengan menggunakan teknik sterilisasi secara mekanik dan kimiawi. Sterilisasi secara mekanik dilakukan dengan cara menyapu lantai ruang kultur, sedangkan secara kimiawi dengan menggunakan desinfektan. Sterilisasi *LAF* dan *incubator* CO<sub>2</sub> dilakukan secara

kimiawi dengan menggunakan alkohol 70%. Selanjutnya, seluruh ruang kultur jaringan hewan disterilisasi secara fisika dengan menggunakan sinar UV.

Sterilisasi alat kultur jaringan hewan menggunakan teknik sterilisasi basah dan kering. Sterilisasi basah digunakan untuk alat-alat yang terbuat dari plastik, sedangkan sterilisasi kering digunakan untuk alat-alat yang terbuat dari besi dan *stainless*. Sterilisasi basah dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit, sedangkan sterilisasi kering dengan menggunakan oven pada suhu 121°C selama 3 jam. Sebelum dilakukan sterilisasi, alat-alat kultur jaringan hewan terlebih dahulu dicuci untuk membersihkannya dari kotoran. Selanjutnya, direndam dengan menggunakan teepol selama 24 jam untuk membersihkan sisa-sisa sabun. Setelah perendaman, dilakukan pembilasan sebanyak 21 kali dan pembilasan terakhir dengan menggunakan aquades. Pengeringan alat-alat kultur jaringan hewan dilakukan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 1 jam.

Sterilisasi bahan kultur jaringan hewan meliputi sterilisasi NaCl 0.9% dan aquades. NaCl 0.9% digunakan sebagai medium pencuci pada kultur jaringan hewan. DI digunakan sebagai pelarut medium kultur jaringan hewan, dan aquades digunakan untuk *incubator* CO<sub>2</sub>. DI disterilkan dengan menggunakan *syringe filter* 0.20µm. Sedangkan NaCl 0.9% dan aquades disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit.

### **3.4.2. Pembuatan Medium Stock DMEM**

Proses pembuatan media dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Medium stock DMEM dibuat sebanyak 100 mL dengan cara ditimbang

DMEM 1,35 g, hepes 0.238 g,  $\text{NaHCO}_3$  0.37 g, *streptomycin* 0.01 g, *penicillin* 0.006 g, dan dilarutkan dalam 100 mL DI steril. Larutan tersebut dihomogenkan dan disaring dengan *syringe filter* 0.20 $\mu\text{m}$ . Medium stock dapat disimpan di lemari es suhu 4°C atau langsung digunakan.

#### 3.4.3. Sterilisasi Cairan Isi Ulang Rokok Elektrik

Cairan isi ulang rokok elektrik dengan aroma kayu manis disterilisasi dengan menggunakan *syringe filter* 0.20 $\mu\text{m}$ , kemudian disimpan dalam botol pada suhu ruang sampai cairan isi ulang digunakan.

#### 3.4.4. Kultur Sel Paru-Paru Tikus (*Rattus norvegicus*)

Kultur sel paru-paru tikus dimulai dengan mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan di dalam LAF untuk di sterilisasi dengan menggunakan sinar UV selama 30 menit. Selanjutnya, dibuat medium tanam kultur DMEM yang ditambah dengan *fetal bovine serum* (FBS) sebanyak 10%. Dimasukkan 3 mL medium tanam tersebut ke dalam TC dish dan diinkubasi di *incubator* pada suhu 37°C dan 5%  $\text{CO}_2$  sampai digunakan.

Tikus *neonatus* sekitar umur 3-4 hari yang akan diisolasi disterilkan terlebih dahulu dengan disemprot menggunakan alkohol 70%. Selanjutnya tikus didislokasi dan dibedah bagian abdomennya dengan menggunakan gunting steril. Diambil organ paru-paru tikus dengan menggunakan pinset. Paru-paru tikus dicuci dengan menggunakan NaCl 0.9% sebanyak 3 kali yang telah dicampur dengan *streptomycin* 0.01 g dan *penicillin* 0.006 g. Dipindah organ paru-paru tikus ke dalam larutan 1 ml tripsin. Didiamkan sebentar agar larutan tripsin masuk ke dalam organ. Selanjutnya, paru-paru tikus dicacah dan dihomogenasi

dengan menggunakan spuit 3 cc dan diinkubasi selama 10 menit. Hasil inkubasi kemudian disaring dengan menggunakan kain saring steril. Hasil penyaringan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit sebanyak 3 kali. Hasil sentrifugasi pertama sampai ketiga supernatant dibuang dan ditambahkan 2 mL DMEM 0%, sedangkan sentrifugasi terakhir ditambahkan 2 mL DMEM 10%. Hasil sentrifugasi terakhir supernatant disisakan sekitar 300  $\mu$ L. Selanjutnya pelet dihomogenasi dengan menggunakan mikropipet. Ditanam 50  $\mu$ L pelet yang telah dihomogenasi tersebut ke dalam medium tanam DMEM 10%. Sisa pelet hasil sentrifugasi kemudian dihitung dengan menggunakan *hemocytometer* untuk menghitung banyaknya sel yang dikultur di *TC Dish*.

#### **3.4.5. Pemberian Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis**

Pemberian konsentrasi cairan rokok elektrik aroma kayu manis dilakukan setelah hasil kultur sel paru-paru tikus konfluent 80%. Kemudian diinkubasi dalam *incubator* 5% CO<sub>2</sub> pada suhu 37°C selama 24 jam.

#### **3.4.6. Pengamatan Viabilitas dan Konfluenitas Sel**

Sebelum dilakukan pengamatan viabilitas sel, sel terlebih dahulu diamati konfluenitasnya. Pengamatan konfluenitas sel dilakukan dengan menggunakan mikroskop *inverted*. Objek yang diamati adalah banyaknya sel yang telah tumbuh melekat pada cawan kultur. Sedangkan pengamatan viabilitas dilakukan dengan cara melakukan tripsinasi untuk memisahkan sel dengan substratnya. Langkah pertama yang dilakukan adalah dibuang terlebih dahulu medium kultur sel. Selanjutnya sel dicuci dengan PBS sebanyak 2 kali. Kemudian sel diberi 500  $\mu$ L tripsin-EDTA 0.25%, dikocok secara perlahan dan diinkubasi pada suhu 37°C

dan 5% CO<sub>2</sub> selama 3 menit. Untuk menonaktifkan tripsin-EDTA 0.25%, ditambahkan 1500 µL media DMEM 10%. Homogenasi dengan menggunakan mikropipet agar sel tidak bergerombol.

Perhitungan persentase hidup dan mati sel dilakukan dengan cara mengambil 10µL pelet hasil tripsinasi kemudian dicampur dengan 10µL *tripan blue* 0.4% diletakkan pada *hemocytometer* dan didiamkan selama 30 detik. Kemudian slide diamati dibawah mikroskop. Semua sel yang berada di dalam kamar hitung dihitung, meliputi banyaknya sel hidup dan sel mati. Sel hidup tidak terwarnai oleh *trypan blue*, sedangkan sel mati terwarnai oleh *trypan blue*. Hasil perhitungan tersebut kemudian dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Besta, 2004):

$$\% \text{ Viabilitas sel} = \frac{\Sigma \text{ sel hidup}}{\Sigma \text{ sel hidup} + \text{ sel mati}} \times 100$$

### 3.5. Analisis Data

Analisis data hasil pengamatan dengan menggunakan uji statistik *Analysis of Variance* (ANOVA) *One Way*, bertujuan untuk mengetahui perbedaan hasil yang diperoleh dari masing-masing perlakuan secara statistik. Beberapa hal yang perlu dipenuhi untuk melakukan uji ANOVA adalah sampel yang diuji harus bersifat *independen*, distribusi sampel yang diuji normal, dan variasi dari masing-masing populasi tidak menunjukkan perbedaan yang *significant* satu sama lain (Hadi, 1988 ; Saunders, 1990).

Apabila hasil uji ANOVA terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilakukan uji lanjut dengan  $\alpha=0.05$ . Apabila nilai koefisien keragaman (KK) kecil, maka

dilakukan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ), nilai KK sedang, dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) dan nilai KK besar, maka uji lanjut dilakukan dengan menggunakan uji Duncan (Hanafia, 1991).



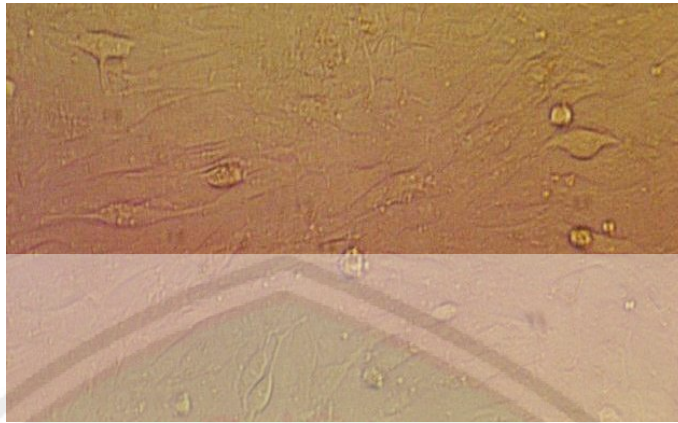


## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Rokok elektrik merupakan salah satu jenis rokok yang menggunakan listrik dari baterai untuk memberikan nikotin dalam bentuk uap (WHO, 2009). Banyak perokok beralih menggunakan rokok elektrik dengan alasan untuk membantu berhenti merokok dan mengurangi konsumsi rokok, tetapi dengan dampak kesehatan yang lebih sedikit (Capponeto *et al.*, 2013). Namun, data obyektif terkait rokok elektrik masih belum cukup, terutama data terkait keamanan cairan rokok elektrik yang beraroma kayu manis. Oleh karena itu, dilakukanlah penelitian untuk mengetahui pengaruh cairan rokok elektrik aroma kayu manis terhadap kultur sel paru-paru tikus secara *in vitro*. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah viabilitas sel. Hal ini karena viabilitas dapat digunakan untuk mengetahui sifat biologis suatu bahan apakah bersifat toksik atau berbahaya pada sel tertentu atau tidak (Freshney, 2000).

Dalam penelitian ini, sel paru-paru tikus ditumbuhkan terlebih dahulu dalam media DMEM yang mengandung 10% FBS sampai mencapai konfluen sebesar 80%. Ketika mencapai konfluen 80% sel akan tumbuh pada permukaan substrat hingga mencapai 80% dari seluruh dasar cawan (Budiono, 2002). Viabilitas pada saat sel mencapai konfluen sangat tinggi, hal ini karena sel sudah beradaptasi dengan lingkungan dan sudah mampu berproliferasi (Trenggono, 2009). Berikut ini adalah hasil kultur sel paru-paru tikus dalam media DMEM 10% .



Gambar 4.1 Kultur Sel Paru-Paru Tikus selama 12 hari dalam Media DMEM 10% yang dilihat dengan menggunakan mikroskop *inverted* (200x). Keterangan: kultur sel paru-paru tikus telah mencapai konfluent sebesar 80%.

Berdasarkan gambar 4.1 dapat dilihat bahwa sel paru-paru tikus pada penelitian ini telah melekat dan menyebar pada permukaan substrat dan membentuk juluran-juluran sel yang menyebabkan perlekatan sel dengan substrat semakin kuat. Terjadinya perlekatan sel dengan substrat dimediasi oleh adanya protein transmembran. Freshney (2005) menjelaskan ada tiga protein transmembran yang berperan dalam interaksi sel dengan sel yang lain dan interaksi sel dengan substrat, yaitu CAM dan cadherin, integrin, dan proteoglikan transmembran. CAM dan cadherin terlibat dalam interaksi antara sel-sel homolog (Rosenman dan Gallatin, 1991; Alberts *et al.*, 2002), sedangkan interaksi sel dengan substrat dimediasi oleh integrin. Integrin merupakan protein transmembran yang berfungsi sebagai reseptor untuk molekul matriks seperti fibronectin, entaktin, laminin, dan kolagen yang mengikat mereka melalui motif tertentu (Yamada dan Geiger, 1997). Proteoglikan transmembran juga berinteraksi dengan matriks sama seperti integrin. Namun, ikatan

yang terjadi antara proteoglikan transmembran dan matriks tidak sama dengan ikatan yang terjadi pada integrin (Freshney, 2005).

Bahan substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *polystyrene*. Menurut Freshney (2005) *polystyrene* merupakan substrat yang umum dan murah, selain itu *polystyrene* memiliki permukaan yang datar sehingga hasil kultur sel terdistribusi secara merata. Ryan (2008) menjelaskan bahwa melekatnya sel pada *polystyrene* ini terjadi karena *polystyrene* telah dimodifikasi permukaannya yang awalnya hidrofobik menjadi hidrofilik sehingga sel lebih mudah melekat. Selain itu, penggunaan serum dalam media kultur juga berdistribusi dalam perlekatan sel dengan substrat. Menurut Freshney (2005) selain mengandung faktor pertumbuhan, serum juga menginduksi proliferasi sel, faktor adhesi, dan aktivitas antitripsin yang menginduksi perlekatan sel.

Pada penelitian ini, lama waktu sel paru-paru tikus mencapai konfluen 80% adalah selama 12 hari. Trenggono (2009) menjelaskan bahwa ada beberapa faktor yang mempengaruhi lama hasil kultur sel mencapai konfluen yaitu kepadatan penanaman, kecepatan tumbuh sel, dan kepadatan sel yang menghambat proliferasi sel. Kepadatan penanaman dipengaruhi oleh konsentrasi sel yang ditanam, jika konsentrasi sel yang ditanam terlalu rendah (sedikit) maka waktu yang dibutuhkan sel untuk tumbuh dan berkembang menjadi lebih lama begitupun sebaliknya.

Pada penelitian Bunshuch *et al.*, (1995) konsentrasi sel paru-paru tikus yang ditanam adalah  $1,25 \times 10^5$  sel/mL dalam multiwell 24 (luas permukaan  $2 \text{ cm}^2$ ) mencapai konfluen pada hari ke-5. Akan tetapi, pada penelitian ini sel kultur paru-paru tikus mencapai konfluen pada hari ke-12. Hal ini karena penelitian ini

menggunakan TC *dish* 35 mm (luas permukaan 9 cm<sup>2</sup>), dan konsentrasi sel yang ditanam sebesar  $2,25 \times 10^5$  sel/mL (lampiran 4). Jika melihat luas permukaan TC *dish* yang digunakan, maka konsentrasi sel yang harus ditanam agar dapat mencapai konfluen selama 5 hari adalah  $5,625 \times 10^5$  sel/mL. Selisih antara sel yang ditanam dan sel yang seharusnya ditanam adalah  $3,375 \times 10^5$  sel/mL. Dengan demikian, konsentrasi sel yang ditanam dalam penelitian ini masih kurang (terlalu sedikit), sehingga waktu sel untuk mencapai konfluen membutuhkan waktu lebih lama.

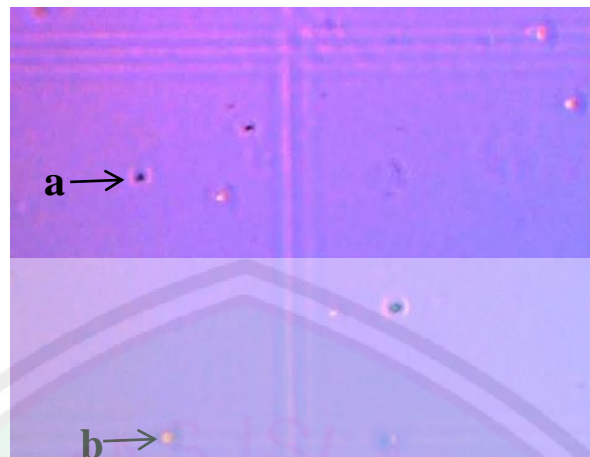
Selain konsentrasi sel yang ditanam, kecepatan tumbuh sel juga dapat mempengaruhi lama hasil kultur sel mencapai konfluen. Kecepatan tumbuh sel ini bisa dipengaruhi dari beberapa faktor seperti tingkat viabilitas sel (kemampuan hidup) sebelum ditanam. Jika sel yang ditanam memiliki viabilitas yang rendah, maka kemampuan hidup sel hasil kultur juga memiliki kualitas yang rendah. Hal ini tentu dapat mempengaruhi kecepatan tumbuh sel hasil kultur. Menurut Li *et al.*, (2009) kualitas sel yang baik sebelum ditanam harus memiliki viabilitas sekitar 90%. Sedangkan dalam penelitian ini, viabilitas sel sebelum ditanam sebesar 86.67% (lampiran 4). Selisih tingkat viabilitas sel yang seharusnya ditanam dengan sel yang ditanam dalam penelitian ini hanya 3.33%. Dengan demikian, viabilitas sel yang ditanam dalam penelitian ini tergolong cukup tinggi.

Lama waktu konfluen sel juga dapat dipengaruhi oleh tingkat proliferasi sel. Tingkat proliferasi sel secara *in vitro* dapat diketahui dengan menentukan waktu yang dibutuhkan sel-sel tersebut untuk menjadikan jumlahnya dua kali lipat jumlah semula, yang disebut dengan *population doubling time* (PDT). Nilai PDT yang tinggi menunjukkan bahwa tingkat proliferasi sel lebih lambat dibandingkan dengan nilai

PDT yang rendah (Trenggono, 2009). Pada penelitian ini hasil perhitungan nilai PDT sel paru-paru tikus perlakuan P1 (tanpa pemberian cairan rokok elektrik) selama 13 hari adalah 3.688 hari (Lampiran 5). Dengan demikian, dapat diketahui bahwa setiap kurang lebih 3 hari jumlah sel paru-paru dalam penelitian mengalami peningkatan sebanyak dua kali lipat. Hal ini menunjukkan bahwa sel pada penelitian ini mengalami peningkatan jumlah sel.

#### **4.1 Pengaruh Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis (*Cinnamomum sp.*) Terhadap Viabilitas Sel Paru-Paru Tikus (*Rattus norvegicus*) secara *In Vitro***

Pada umumnya uji viabilitas sel didasarkan pada kerusakan membran. Hal ini karena sel yang mati atau sel yang membrannya mengalami kerusakan akan menyerap zat warna, sedangkan sel yang hidup atau sel normal bersifat *impermeable* terhadap zat warna (Trenggono, 2009). Dalam penelitian ini, pewarna yang digunakan dalam uji viabilitas sel adalah *trypan blue* 0.4%. Ketika menggunakan *trypan blue*, sel yang mati akan berwarna biru karena membran selnya mengalami lisis, sehingga protein dan plasmanya berikatan dengan *trypan blue*. Sedangkan sel yang hidup, tidak terwarnai oleh *trypan blue* karena tidak mengalami kerusakan pada membran selnya (Djajanegara, 2009). Sel yang telah diwarnai oleh *trypan blue* selanjutnya dihitung dengan menggunakan *hemocytometer*. Berikut ini hasil pengamatan viabilitas sel dengan menggunakan *hemocytometer*.



Gambar 4.2. Hasil Pewarnaan Sel dengan Menggunakan *trypan blue* 0.4% di bawah Mikroskop *inverted* (200x). Keterangan: sel hidup (b) yang tidak terwarnai *trypan blue* (berwarna terang), sel mati (a) yang terwarnai oleh *trypan blue* (berwarna gelap).

Pengamatan viabilitas sel dengan menggunakan *hemocytometer* menghasilkan data berupa nilai persentase sel yang hidup dari masing-masing perlakuan. Data hasil perhitungan viabilitas sel paru-paru tikus yang diperoleh kemudian diuji normalitas dan homogenitas untuk mengetahui jenis analisis yang digunakan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh cairan rokok elektrik aroma kayu manis terhadap viabilitas sel paru-paru tikus secara statistik. Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen dengan nilai signifikansi  $p > 0.05$ , yaitu 0.54 untuk uji normalitas (Lampiran 2.3.a) dan 0.232 untuk uji homogenitas (Lampiran 2.3.b). Dengan demikian data tersebut telah memenuhi syarat untuk dianalisis menggunakan ANOVA *one way* sehingga diperoleh hasil seperti pada tabel 4.2 berikut.

Tabel 4.1 Ringkasan ANOVA *one way* tentang pengaruh cairan rokok elektrik aroma kayu manis terhadap viabilitas sel paru-paru tikus secara *in vitro*.

SK	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel (5%)
Perlakuan	4	3562.16002	890.79	21.03415*	2.776289
Galat	20	846.99404	42.3497		
Total	24	4410.15406			

**Keterangan:** \* F hitung > F tabel 5%, menunjukkan bahwa perlakuan berbeda nyata.

Berdasarkan tabel 4.2 di atas, F hitung > F tabel 5% yang menunjukkan bahwa secara statistik, pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis terhadap sel paru-paru tikus secara nyata berpengaruh terhadap viabilitas sel. Oleh karena itu, data diuji lanjut untuk mengetahui perbedaan pengaruh masing-masing perlakuan. Jenis uji lanjut yang digunakan, tergantung pada besar nilai koefisien keragaman (KK). Berdasarkan hasil perhitungan yang dilakukan, nilai KK yang diperoleh sebesar 9.66% (Lampiran 2.2.i), sehingga uji lanjut yang digunakan adalah uji BNT (Beda Nyata Terkecil) atau lebih dikenal sebagai uji LSD (*Least Significance Different*). Uji lanjut LSD digunakan apabila nilai KK pada data homogen antara 5%-10% (Hanafiah, 2016). Berikut ini adalah tabel 4.2 hasil analisis uji lanjut dengan menggunakan uji lanjut LSD.

Tabel 4.2 Hasil uji LSD tentang pengaruh cairan rokok elektrik aroma kayu manis (*Cinnamomum sp.*) terhadap viabilitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro*.

Perlakuan	Rata-Rata Viabilitas $\pm$ SD (%)	Notasi
P1 (0%)	89.43 $\pm$ 2.298	a
P2 (0.25%)	69.03 $\pm$ 6.852	b
P3 (0.5%)	63.79 $\pm$ 7.900	bc
P4 (0.75%)	58.19 $\pm$ 8.783	c
P5 (1%)	56.13 $\pm$ 4.465	c

**Keterangan:** Notasi dengan huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata (signifikan). Besar nilai LSD 0.05 adalah 8.58.

Berdasarkan tabel 4.3, secara statistik dapat diketahui bahwa P5, P4, dan P3 merupakan perlakuan yang memiliki pengaruh yang tidak berbeda (tidak berbeda nyata) dalam menurunkan viabilitas sel paru-paru tikus secara *in vitro*. Hal ini dapat dilihat dari notasi pada P5, P4, dan P3 yang memiliki notasi yang sama yaitu c. Selain itu, perlakuan P3 juga memiliki pengaruh yang sama (tidak berbeda secara nyata) dengan perlakuan P2, karena memiliki notasi yang sama yaitu b. Berdasarkan hasil uji lanjut di atas, tidak ada perlakuan yang memiliki notasi yang sama dengan P1 (tanpa pemberian cairan rokok elektrik). Dengan demikian, perlakuan dengan cairan rokok elektrik aroma kayu manis (P5, P4, P3, dan P2) memiliki pengaruh yang berbeda secara nyata dengan perlakuan P1 (tanpa pemberian cairan rokok elektrik) dalam mempengaruhi viabilitas sel paru-paru tikus secara *in vitro*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi cairan rokok elektrik aroma kayu manis yang diberikan pada kultur sel paru-paru tikus, maka viabilitas sel semakin menurun. Menurunnya viabilitas sel paru-paru tikus ini dimungkinkan karena adanya *cinnamaldehyde* yang terkandung dalam cairan rokok



elektrik aroma kayu manis. *Cinnamaldehyde* merupakan bahan kimia utama penyusun aroma cairan rokok elektrik kayu manis. Berdasarkan penelitian Behar *et al.*, (2014) dari semua komponen penyusun cairan rokok elektrik yang paling berbahaya terhadap sel adalah *cinnamaldehyde*. Pemberian perasa *cinnamaldehyde* murni dilaporkan dapat menyebabkan penurunan viabilitas sel paru-paru dan dapat meningkatkan kematian sel. Hal ini terjadi karena secara molekuler, *cinnamaldehyde* dilaporkan dapat menghambat Nf-Kb (*nuclear factor kappa B*), yang merupakan faktor transkripsi sel yang terlibat dalam proses perkembangan sel, dengan cara mentranskripsi gen-gen anti-apoptosis sel, yang menyebabkan tingkat viabilitas sel semakin menurun (Reddy *et al.*, 2004).

Bahl *et al.*, (2012) dan Behar *et al.*, (2014) melaporkan bahwa komponen cairan rokok elektrik aroma kayu manis yang berbahaya bagi sel hanya *cinnamaldehyde* saja, sedangkan komponen penyusun lainnya seperti *propylene glycol* dan *glycerin* yang merupakan komponen utama penyusun cairan rokok elektrik dilaporkan hanya berbahaya pada dosis yang sangat tinggi. Akan tetapi, ketika sudah bercampur menjadi satu konstituen dalam cairan rokok elektrik aroma kayu manis dengan komponen-komponen yang lain, Hanno *et al.*, (2018) melaporkan bahwa sistem kimia dalam cairan rokok elektrik berpotensi membentuk senyawa baru dengan efek yang tidak terduga. Terbentuknya senyawa baru yang lebih berbahaya ini terjadi setelah pencampuran konstituen maupun selama proses penyimpanan.

Gonzales *et al.*, (2016), melaporkan bahwa campuran *propylene glycol* dan *glycerin* dengan dosis yang sama seperti pada cairan rokok elektrik dapat menyebabkan terjadinya penurunan massa mitokondria pada sel epitel paru-paru

secara *in vitro*. Penurunan massa mitokondria sel ini mengindikasikan adanya kerusakan pada mitokondria yang dapat menyebabkan produksi energi pada sel berkurang, sehingga berakibat pada terganggunya fungsi sel yang jika terjadi secara berkelanjutan dapat mengganggu kelangsungan hidup sel. Campuran komponen yang pada awalnya dianggap aman saja sudah berbahaya bagi sel. Apalagi jika komponen tersebut bercampur menjadi satu dengan *cinnamaldehyde* yang pada saat menjadi komponen tunggal sudah dapat mempengaruhi viabilitas sel.

Pada penelitian ini, perlakuan P5 (1%) merupakan perlakuan yang memiliki viabilitas paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya (P1, P2, P3, P4). Hasil dalam penelitian ini sama seperti pada penelitian terdahulu yang melaporkan bahwa pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis sebesar 1% dapat menurunkan viabilitas sel *human pulmonary fibroblast* (HPF). Bahkan dalam penelitian ini, cairan rokok elektrik aroma kayu manis termasuk dalam kategori *high cytotoxic* karena  $IC_{50} < 1\%$ , yaitu 0.039% (Bahl *et al.*, 2012; Behar *et al.*, 2014).

Terjadinya penurunan viabilitas sel paru-paru tikus pada perlakuan P5 (1%) terjadi karena pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis pada sel paru-paru dapat meningkatkan stress oksidatif pada sel (Lerner *et al.*, 2015). Terjadinya stress oksidatif dapat menyebabkan mekanisme seluler terganggu dan menyebabkan terjadinya kematian sel (Chow, 1979), sehingga semakin tinggi konsentrasi cairan rokok elektrik aroma kayu manis yang diberikan maka viabilitas sel semakin menurun.

Pada perlakuan P2 (0.25%) yang merupakan perlakuan dengan pemberian cairan rokok elektrik paling sedikit dibandingkan dengan perlakuan lainnya (P3, P4,

P5) dapat mempertahankan viabilitasnya sebesar  $69.03 \pm 8.783\%$ , sedangkan perlakuan P1 (0%) yang merupakan perlakuan tanpa pemberian cairan rokok elektrik memiliki viabilitasnya sebesar  $89.43 \pm 4.465\%$ . Selisih antara kedua perlakuan tersebut sebesar 20.4%. Adanya penurunan viabilitas sel ini terjadi karena pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis pada sel paru-paru secara *in vitro* dilaporkan dapat mengganggu fungsi mitokondria pada sel. Terganggunya fungsi mitokondria sel ini dapat menyebabkan produksi ATP pada sel menurun (Clapp *et al.*, 2019). Hal ini menyebabkan terganggunya proses seluler, seperti kelangsungan hidup sel, sehingga viabilitas sel setelah pemaparan cairan rokok elektrik aroma kayu manis menjadi menurun.

#### **4.2. Pengaruh Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis (*Cinnamomum sp.*) Terhadap Konfluenitas Sel Paru-Paru Tikus (*Rattus norvegicus*) secara *In Vitro***

Konfluen merupakan suatu keadaan dimana sel hasil kultur sudah menempel dan berkembang memenuhi wadah kultur (Djati, 2006). Pengamatan hasil konfluenitas sel dapat dilihat dari persentase banyaknya sel yang tumbuh dan melekat satu dengan yang lain pada wadah kultur (Freshney, 2000). Hasil pengamatan konfluenitas ini digunakan untuk mengetahui pengaruh cairan rokok elektrik aroma kayu manis terhadap pertumbuhan sel paru-paru tikus secara *in vitro*. Hasil pengamatan konfluenitas berupa rata-rata persentase konfluenitas dari masing-masing perlakuan. Hasil rata-rata tersebut kemudian diuji normalitas dan homogenitas untuk mengetahui jenis uji lanjut yang digunakan.

Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen dengan nilai signifikansi  $p > 0.05$ , yaitu 0.8 untuk uji normalitas (Lampiran 3.2.a) dan 0.218 untuk uji homogenitas (Lampiran 3.2.b). Dengan demikian data tersebut telah memenuhi syarat untuk dianalisis menggunakan ANOVA *one way* sehingga diperoleh hasil seperti pada tabel 4.3 berikut.

Tabel 4.3 Ringkasan ANOVA *one way* tentang konfluenitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) yang dipapar cairan rokok elektrik aroma kayu manis (*Cinnamomum sp.*) selama 24 jam.

SK	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel (5%)
Perlakuan	4	3424.64	856.16	92.859*	2.776289
Galat	20	184.4	9.22		
Total	24	3609.04			

**Keterangan:** \* F hitung > F tabel 5%, menunjukkan 44perlakuan berbeda nyata.

Berdasarkan tabel 4.2 di atas, F hitung > F tabel 5%. Hal ini menunjukkan bahwa secara statistik, pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis terhadap sel paru-paru tikus secara nyata dapat menyebabkan penurunan konfluenitas sel. Oleh karena itu, data diuji lanjut untuk mengetahui perbedaan pengaruh masing-masing perlakuan. Jenis uji lanjut yang digunakan, tergantung pada besar nilai koefisien keragaman (KK). Berdasarkan hasil perhitungan yang dilakukan, nilai KK yang diperoleh sebesar 4.3% (Lampiran 3.1.i), sehingga uji lanjut yang digunakan adalah uji BNJ (Beda Nyata Jujur) atau lebih dikenal sebagai uji Tukey HSD. Uji lanjut tukey HSD digunakan apabila nilai KK pada data homogen maksimal 5% (Hanafiah, 2016). Berikut ini adalah tabel hasil analisis uji lanjut dengan menggunakan uji lanjut tukey HSD.

Tabel 4.4 Hasil uji tukey HSD tentang konfluenitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) yang dipapar cairan rokok elektrik aroma kayu manis (*Cinnamomum sp.*) selama 24 jam.

Perlakuan	Rata-Rata Konfluenitas $\pm$ SD (%)	Notasi
P1 (0%)	86.2 $\pm$ 1.304	a
P2 (0.25%)	75 $\pm$ 1.871	b
P3 (0.5%)	70.4 $\pm$ 3.647	b
P4 (0.75%)	58.6 $\pm$ 4.519	c
P5 (1%)	53.4 $\pm$ 3.209	c

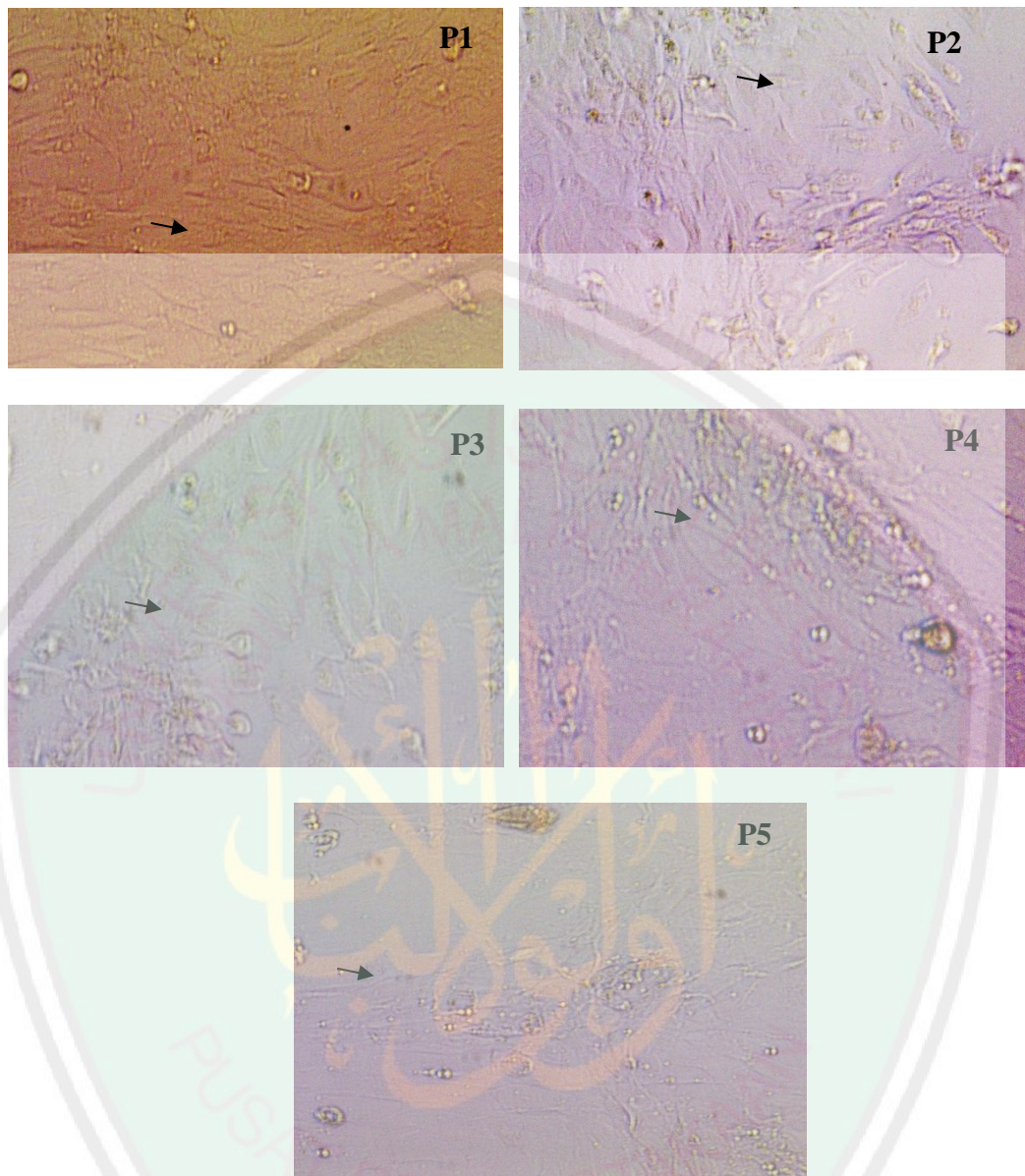
**Keterangan:** Notasi dengan huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata (signifikan). Berdasarkan perhitungan, besar nilai tukey adalah 5.74.

Berdasarkan tabel 4.4 dapat diketahui bahwa perlakuan P5 (1%) dan perlakuan P4 (0.75%) memiliki pengaruh yang sama (tidak berbeda secara nyata) dalam menurunkan konfluenitas kultur sel paru-paru tikus secara *in vitro* karena memiliki notasi yang sama yaitu c. Sedangkan pada perlakuan P3 (0.5%) dan perlakuan P2 (0.25%) yang juga memiliki pengaruh yang sama (tidak berbeda secara nyata) karena memiliki notasi yang sama yaitu b. Diantara kelima perlakuan dalam penelitian ini, perlakuan P1 (0%) yang merupakan perlakuan tanpa pemberian cairan rokok elektrik memiliki notasi yang berbeda yaitu a. Tidak ada yang memiliki notasi yang sama dengan perlakuan P1 (0%). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian cairan rokok elektrik dalam konsentrasi yang sedikit maupun banyak berpengaruh dalam menurunkan konfluenitas sel paru-paru tikus secara *in vitro*.

Pada penelitian ini, perlakuan P5 (1%) merupakan perlakuan yang memiliki konfluenitas paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya (P1, P2, P3, P4) yang hanya memiliki konfluenitas sebesar 53.4  $\pm$  3.209%. Jika dibandingkan dengan konfluenitas sel sebelum pemberian perlakuan, dapat diketahui bahwa selisih antara

keduanya sebesar 26.6%. Hal ini menunjukkan bahwa dalam waktu pemaparan selama 24 jam, sel paru-paru mengalami penurunan konfluenitas sebesar 26.6%,

Terjadinya penurunan konfluenitas sel ini menunjukkan bahwa cairan rokok elektrik aroma kayu manis dapat menyebabkan penurunan pertumbuhan sel paru-paru tikus secara *in vitro*. Hasil penelitian ini sesuai dengan Rowell *et al.*, (2016) yang melaporkan bahwa pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis dapat menyebabkan penurunan viabilitas dan proliferasi sel paru-paru. Hal ini dapat dilihat pada perlakuan P1 (0%) tanpa pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis masih mengalami pertumbuhan dan proliferasi sel sampai mencapai konfluen 86.2 ± 1.304%. Berikut ini gambar konfluenitas sel paru-paru tikus yang diberi cairan rokok elektrik aroma kayu manis dengan berbagai konsentrasi selama 24 jam.



Gambar 4.3 Kultur sel paru-paru tikus setelah pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis selama 24 jam yang diamati dengan menggunakan mikroskop *inverted* (200x). P1: 0%, P2: 0.25%, P3: 0.5%, P4: 0.75%, P5: 1%. Tanda panah menunjukkan juluran-juluran sel.

Berdasarkan gambar 4.3 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi cairan rokok elektrik yang diberikan, maka kepadatan sel semakin menurun. Dapat dilihat bahwa pada perlakuan P2 (0.25%) dan P3 (0.5%) kepadatan sel semakin

menurun jika dibandingkan dengan perlakuan P1 (0%). Begitu pula pada perlakuan P4 (0.75%) dan P5 (1%) yang terdapat banyak bagian dalam TC *dish* yang tidak ditumbuhi oleh sel. Hal ini terjadi karena sel yang pada awalnya sudah melekat pada cawan menjadi terlepas setelah pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis, seperti yang telah dilaporkan oleh Behar *et al.*, (2016) bahwa *cinnamaldehyde* pada cairan rokok elektrik aroma kayu manis dapat menyebabkan menurunnya pertumbuhan sel, perlekatan, dan penyebaran pada kultur sel paru-paru. Menurunnya kepadatan sel ini juga terjadi karena viabilitas sel menurun. Menurunnya viabilitas sel ini akan mempengaruhi kualitas hidup sel. Semakin rendah viabilitas sel, maka kemampuan hidup sel untuk tumbuh dan berkembang juga semakin rendah.

Menurunnya pertumbuhan sel ini juga terjadi karena pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis pada sel paru-paru secara *in vitro* dapat menyebabkan produksi ATP pada sel menurun (Clapp *et al.*, 2019). Menurunnya ATP pada sel dapat mengganggu fungsi seluler sel. Campbell (2004) menjelaskan bahwa ATP pada sel digunakan untuk proses kerja sel seperti pembelahan sel. Menurunnya ATP menyebabkan energi untuk sel melakukan pembelahan juga menurun, maka proses pembelahan sel juga terhambat. Hal ini karena, jumlah energi yang tersedia harus sesuai dengan kebutuhan sel tersebut, sebagaimana firman Allah dalam surat al-Qomar (54) ayat 49, sebagai berikut:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

“*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*”  
(Q.S al-Qomar (54): 49)



Kata **بَقَدَّرَ** pada ayat di atas artinya menurut ukuran. Allah SWT menciptakan segala sesuatu berdasarkan ukuran yang telah ditetapkan berdasarkan kebutuhan (al-Qarni, 2007). Kebutuhan sel adalah memperoleh energi yang cukup untuk menjalankan aktivitas seluler, seperti pembelahan sel. Campbell (2008) menjelaskan bahwa pada saat fase G1, sel mensintesis protein dan RNA untuk persiapan pembelahan sel. Oleh karena itu, pada fase ini, sel mengambil banyak nutrisi, dan mensintesis banyak energi. Dengan demikian, berkurangnya sumber energi pada sel dapat menyebabkan proses pembelahan sel menurun.



## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis berpengaruh terhadap viabilitas dan konfluenitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro*.
2. Konsentrasi cairan rokok elektrik aroma kayu manis yang paling berpengaruh dalam menurunkan viabilitas dan konfluenitas sel paru-paru tikus (*Rattus norvegicus*) secara *in vitro* adalah 1%.

#### **5.2 Saran**

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disarankan:

1. Perlu dilakukan optimasi untuk mengetahui kesesuaian antara konsentrasi sel yang ditanam dengan luas *TC Dish* yang digunakan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait pengaruh cairan rokok elektrik terhadap parameter lain, seperti abnormalitas sel.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aji, A., Leni M., dan Sayed A. 2015. Isolasi Nikotin dari Putung Rokok sebagai Insektisida. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 4(1):100-120.
- Albert, B. D. 2002. *Cell Communication in Molecular Biology of the Cell, edisi 4*. New York : Garland Publishing Inc.
- An-Nadwy, S. M.U. 2004. *Tafsir Ibnu Qayyim*. Jakarta : Darul Falah.
- Astuti, K. 2010. *Model Kognitif Sosial Perilaku Merokok pada Remaja*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Avdalovic M.V., dan Murin S. 2012. Electronic Cigarettes: No Such Thing as a Free Lunch or Puff. *Chest*. 141 (6): 1371-1372.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). 2015. Bahaya Rokok Elektrik, Racun Berbalut Teknologi. *InfoPOM*. 16(5): 1-12.
- Bahl, V., Lin, S., Xu, N., Davis, B., Wang, Y.H., Talbot, P., 2012. Comparison of Electronic Cigarette Refill Fluid Cytotoxicity Using Embryonic and Adult Models. *Reprod. Toxicol*. 34( 1): 529-537.
- Barrington-Trimis, J. L., R. Urman, A. M. Leventhal, W. J. Gauderman, T. B. Cruz, T. D. Gilreath, S. Howland, J. B. Unger, K. Berhane, J. M. Samet, and R. McConnell. 2016. Ecigarettes, Cigarettes, and the Prevalence of Adolescent Tobacco Use. *Pediatrics*. 138(2): 1-10.
- Beauval, N., Sebastien A., Melissa S., Nicolas G., Nathalie G., Michael H., Emilie M.H., Marc F., Brice M.R.A., Jean-Francois G., Delphine A., Guillaume G., Jean-Marc L., dan Anne G. 2017. Chemical Evaluation of Electronic Cigarettes Multicomponent Analysis of Liquid Refills and Their Corresponding Aerosols. *Journal of Analytical Toxicology*. 1(9): 670-678.
- Behar, R., B.Davis, Y.Wang, V. Bahl, S.Lin, dan P.Talbot. 2014. Identification of Toxicants in *Cinnamomum sp.*-Flavored Electronic Cigarette Refill Fluids. *Toxicology in vitro*. 28(198): 198-208.
- Behar, R., Wentai L., Sabrina C., Yuhuan W., Jackelyn V., James F., dan Prue T. 2016. Distribution, Quatification and Toxicity of Cinnamaldehyde in Electronic Cigarette Refill Fluids and Aerosols. *Tob Control*. 25 (2): 94-102.
- Bills, R.F., dan Christie B.R. 1980. The Experimental Pathology of Oxidant and Air Pollutant Inhalation. *Int. Exp Pathol*. 21: 195-293.

- Bischoff, K. 2013. *Propylene Glycol*. In: Peterson M.E., dan Talbot P. *Small Animal Toxicology*. Elsevier.
- Blakemore, W.M., dan Thompson H.C. 1983. Trace Analysis of Cinnamaldehyde in Animal Fedd, Human Urine, and Waste Water by Electron Capture Gas Chromatography. *J. Agric Food Chem.* 31 (47): 1047-1052.
- Bretherick, L. 1985. *Handbook of Reactive Chemical Hazards, Third Edition*. Boston: Butterworths.
- Broeckx, W. 1987. Cosmetic Intolerance. *Contact Dermatitis*. 16(189) : 198-94.
- Budiono, A. 2000. *Teknik Aseptic dan Upaya Mencegah Kumanisasi pada Kultur Jaringan*. Modul Pelatihan Dosen Universitas Bogor.
- Bolt, M. W. 2001. Effect of Vitamin E on Cytotoxicity of Amidorane and N-desethylamidarone in Isolated Hamster Lung Cell. *Toxicology*. 166 (3):18-109.
- Cahn, Z., dan Siegel M. 2011. Electronic Cigarettes as a Harm Reduction Strategy for Tobacco Control: a Step Forward or a Repeat of Past Mistakes?. *Journal Public Policy*. 32 (1): 16-31.
- Campbell, Neil. 2008. *Biologi Jilid I*. Jakarta: Erlangga.
- Caponnetto, P., Davide C., Fabio C., Jaymin B.M., Massimo C., Cristina R., dan Riccardo P. 2013. Efficiency and Safety of an Electronic Cigarette as Tobacco Cigarettes Substitute: A Prospective 12-Month Randomized Control Design Study. *Plos One*. 8 (6): 1-12.
- Carmines, E. L., and Gaworski C. L. 2005. Toxicological Evaluation of Glycerin as a Cigarette Ingredient. *Food and Chemical Toxicology*. 43(10): 1521-1539.
- Chow, C.K. 1979. Vitamin E and Oxidative Stress. Free Radical. *Journal of Biology Medicine*. 11 (2):215-232.
- Clapp, P., Erica A., Justin T. L., James E. K., Steven L., Gary, dan Ilona J. 2017. Flavored E-cigarette Liquids and Cinnamaldehyde Impair Respiratory Innate Immune Cell Function. *Articles In Press. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 313 (2): 278-292.
- Cobb, N. K., Byron M. J., Abrams D. B., Shields P. G. 2010. Novel Nicotine Delivery Systems and Public Health: The Rise of The "E-Cigarette". *Am J Public Health*. 100 (2): 2340-2342.

- Conti, C. J., Gimenez-Conti I. B., Benavides F., Frijhoff dan Conti M.A. 2004. *Atlas of Laboratory Mouse Histology*. Texas (USA): American College of Laboratory Animal Medicine.
- Department of Health and Human Services. 1997. *Toxicological Profile for Propylene Glycol*. Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Dixon, D., Herbert, R.A., Sills, R.C., dan Boorman G.A. 1999. *Lungs, Pleura, and Mediastinum in: Maronpot R.R., Boorman G.A., Gaul B.W. Pathology of the Mouse Reference and Atlas*. Illinois: Cache River Press.
- Djajanegara, I. 2009. Pemakaian Sel Hela dalam Uji Sitotoksisitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun *Annona squamosa*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 7 (1): 7-11.
- Djati, M. S. 2006. *Teknologi Manipulasi dan Kultur Sel Jaringan Hewan*. Malang: UB Press.
- Drummond, B., dan Dona U. 2014. Electronic Cigarettes: Potential Harms and Benefits. *Annals of American Thoracic Society*. 11 (2): 42-236.
- Electronic Cigarette Association. 2009. *The Facts About Electronic Cigarettes*. Washington.
- FEMA (Flavor and Extract Manufacturers Association of the United States). 2015. The Safety Assessment and Regulatory Authority to Use Flavors—Focus on e-Cigarettes. [https://www.femaflavor.org/sites/default/files/FEMAGRAS\\_Ecig\\_March\\_3\\_2015.pdf](https://www.femaflavor.org/sites/default/files/FEMAGRAS_Ecig_March_3_2015.pdf). Diakses 19 April 2018.
- Freshney, R. I. 2005. *Culture of Animal Cells: a Manual of Basic Technique and Specialized Applications 6<sup>th</sup>*. Inc : A John Wiley dan Sons.
- Grana, R. A. 2013. Electronic Cigarettes: a New Nicotine Gateway. *J Adolesc Health*. 52(2): 6-135.
- Groeger, A., dan Bruce A. F. 2010. *Signaling Action of Electrophiles*. *Department of Pharmacology & Chemical Biology, University of Pittsburgh*. 10(1): 39-50.
- Hadi, S. 1986. *Analisa Varians Klasifikasi Tunggal*. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada Press.
- Hajek, P. 2012. Commentary on Wagener: E-Cigarettes: a Vulnerable Promise. *Addiction*. 107(9): 1549-1550.

- Hanafiah, K. A. 2016. *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi*. Palembang: Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
- Hanno, C.E., Sairam V., Tamara M., Melissa M., Paul T. A., Sven E., dan Julie B. 2018. Formation of Flavorant-Propylene Glycol Adducts with Novel Toxicological Properties in Chemical Unstable E-Cigarette Liquids. *Nicotine and Tobacco Research*. 20 (20):1-11.
- Herbert, R., dan Leininger, J.R. 1999. *Nose, Larynx, and Trachea In: Pathology of the Mouse Reference and Atlas*. Maronpot R.R., Boorman G.A., Gaul B.W. Illinois: Cache River Press.
- Hudu S. A., Alshrari A. S., Syahida A., Sekawi Z. 2010. Cell Culture, Technology: Enhancing The Culture Of Diagnosing Human Diseases. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 10 (3):1-5.
- Istanti, A. P., dan Listyorini D. 1999. *Biologi Sel*. Malang: Imstepjiica Fmipa Universitas Negeri Malang.
- Kadir, R. 2015. Konsumsi Rokok Penduduk Indonesia Yang Mengkhawatirkan. <http://indonesiana.tempo.co/read/51291/2015/10/13/kadirst/konsumsi-rokok-penduduk-indonesia-yang-menghawatirkan>. Diakses pada 20 Mei 2019.
- Kasdi, A. 2013. Tafsir Ayat-Ayat Konsumsi dan Implikasinya Terhadap Pengembangan Ekonomi Islam. *EQUILIBRIUM*. 1 (1): 18-33.
- Katayama, M., Mukai Y., Taniguchi H. 1990. High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Cinnamaldehyde. *Analysis*. 115 (9):1-10.
- Ke, B., Zhiyun Z., Xin Y., Zhanguo G., Vincent M., Bin W., dan Jianping Y. 2015. Inactivation of NF-Kb p65 (RelA) in Liver Improves Insulin Sensitivity and Inhibits Camp/PKA Pathway. *Diabetes*. 64(10):55-62.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *InfoDATIN: Hari Tanpa Tembakau Sedunia*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Republik Kesehatan RI.
- Kementerian Kesehatan. 2013. *Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS)*. [http://www.litbang.depkes.go.id/sites/download/rkd2013/Laporan\\_Riskesdas2013.PDF](http://www.litbang.depkes.go.id/sites/download/rkd2013/Laporan_Riskesdas2013.PDF). Diakses pada tanggal 23 Maret 2018.
- Klingbeil, M.F.G., Herson, M.R., Cristo, E.B., Pinto, Jr.D.S., Yosshito, D., Mathor, M.B. 2009. Comparison of Two Cellular Harvesting Methods For Primary Human Oral Culture Of Keratinocytes. *Cell Tissue Bank*. 10 (3):197-204.

- Konradova, V., V. Vavrova, dan J. Janota. 1978. Effect of the Inhalation of a Surface Tensionreducing Substance (Propylene Glycol) on the Ultrastructure of Epithelium of the Respiratory Passages in Rabbits. *Folia Morphologica (Praha)*. 26 (1):28-34.
- Kreiss, K., A. Gomaa, G. Kullman, K. Fedan, E. J. Simoes, and P. L. Enright. 2002. Clinical Bronchiolitis Obliterans in Workers at a Microwave-Popcorn Plant. *New England Journal of Medicine*. 347(5): 8-330.
- Kumar, C., Kelsey H., Samuel T. 2011. *Gliserol Menjadi Propilen Glikol*. University of Pennsylvania: Penn Libraries.
- Laino, T., Tuma C., Moor P., Martin E., Stolz S., dan Curioni A. 2012. Mechanisms of Propylene Glycol and Triacetin Pyrolysis. *J Phys Chem*. 116 (18): 4602-9.
- LaKind, J. S., E. A. McKenna, R. P. Hubner, dan R. G. Tardiff. 1999. A Review of the Comparative Mammalian Toxicity of Ethylene Glycol and Propylene Glycol. *Critical Reviews in Toxicology*. 29 (4): 331-65.
- Lazarowski, R., dan C. Boucher. 2009. Mechanisms of Signal Transduction: Thrombin Promotes Release of ATP from Lung Epithelial Cells Through Coordinated Activation of Rho- and Ca<sup>2+</sup>-dependent Signaling Pathways. *J. Biol. Chem*. 284 (31): 28-38.
- Lerner, C. A., Isaac K., Hongwei Y., Janice G., Deborah J., Scott M., Risa R., dan Irfan R. 2015. Vapor Produce by Electronic Cigarettes and E-juice with Flavoring Induce Toxicity, Oxidative Stress, and Inflammatory Response in Lung Epithelial Cells and in Mouse Lung. *Plos One*. 10(2):1-12.
- Li, Z., Rusen Y., Min Y., Fan B., Cheng L., dan Zhong L. W. 2009. Cellular Level Biocompatibility and Biosafety f ZnO Nanowires. *The Journal of Physical Chemistry*. 112(51): 1-14.
- Malole, M. B. 1990. Kultur sel dan jaringan hewan. Pusat Antar Universitas, IPB. Bogor.
- Mitry R. R., Hughes R. D. 2012. Introduction to Cell Culture. Human Cell Culture Protocols. *Methods in Molecular Biology*.
- Morris, H. J., A. A. Nelson, dan H. O. Calvery. 1942. Observations on the Chronic Toxicities of Propylene Glycol, Ethylene Glycol, Diethylene Glycol, Ethylene Glycol Mono-ethyl-ether, and Diethylene Glycol Mono Ethyl-ether. <http://jpet.aspetjournals.org/content/74/3/266> Diakses 25 Maret 2018.

- Muliartha, I. K. G., Endang S., dan Yuliawati. 2009. Pemberian Kombinasi Vitamin C dan E peroral Memperbaiki Kerusakan Hepar Akibat Paparan Rokok Kretek Sun Kromik. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 27 (10):23-27.
- Muthumalage, T., Melanie P., Kwadwo O., Janice G., Isaac K., dan Irfan R. 2018. Inflammatory and Oxidative Responses Induced by Exp-posure to Commonly Used e-Cigarette Flavoring Chemicals and Flavored e-Liquids without Nicotine. *Frontiers in Physiology*. 8 (1): 1-13.
- National Toxicology Program (NTP). 1993. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Coumarin in F344/N Rats and B6C3F Mice (Gavage Studies) (NTP-TR-422; NIH Publication No. 93-3]53). NYP, Research Triangle Park, NC.
- NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health). 2016. Exposures to flavoring chemicals: How and where exposures may occur. <https://www.cdc.gov/niosh/topics/flavorings/exposure.html> Diakses 12 Maret 2018.
- NSW. 2004. Are Electronic Cigarettes and E-Liquids Safe?. *State Health Publication*. 15 (5): 244-249.
- Nururrahma. 2004. *Pengaruh Rokok terhadap Kesehatan dan Pembentukan Karakter Manusia*. Prosiding Seminar Nasional. 1 (1): 78-84.
- Phillips C.V. 2009. Debunking the Claim taht Abstinance is Usually Healthier for Somkers than Switching to a low-risk Alternative, and Other Observations About Anti-Tobacco-Harm-Reduction Arguments. *Journal Harm Reduct*. 6 (9): 1-13.
- Polosa, R., Caponneto P., Morjaria J.B., Papale G., Campagna D. 2011. Effect of an Electronic Nicotine Delivery Device (E-Cigarette) on Smoking Cessation and Reduction: a Prospective Pilot Study. *BMC Public Health*. 11 (1): 1-12.
- Pusztai, L., C.E. Lewis, dan E. Yap. 1996. *Cell Proliferation in Cancer Regulation Mechanisms of Neoplastic Cell Growth*. New York: Oxford University Press.
- Reddy, A.M., Seo, J.H., Ryu, S.Y., Kim, Y.S., Kim, Y.S., Min, K.R., dan Kim, Y., 2004. Cinnamaldehyde and 2-methoxycinnamaldehyde as NF-kappaB Inhibitors from *Cinnamomum cassia*. *Planta. Med*. 70(9): 7-823.
- Robert, P., David M., dan Jennie P.M. 1995. A Novel Epithelial Cell from Neonatal Rat Lung: Isolation and Differentiated Phenotype. New York: Departemen of Cell Biology, South San Francisco.



- Romagna G., Alliffranchini E., Bocchietto E., Todeschi S., Esposito M., Farsalinos K.E. 2013. Cytotoxicity Evaluation of Electronic Cigarette Vapor Extract on Cultured Mammalian Fibroblast (ClearStream-LIFE): Comparison with Tobacco Cigarette Smoke Extract. *Inhal. Toxicology*. 25 (6): 354-61.
- Rosenman, S.J., dan W.M. Gallatin. 1991. Cell Surface Glycoconjugates in Intercellular and Cell-Substratum Interactions. *Sem. Canc. Biol.* 2 (6): 357-66.
- Rowell, T., Steven L., Shernita L., Rachel A., Rachel C., Amy H. Herring, Gary L., dan Robert T. 2017. Flavored E-cigarette Liquids Reduce Proliferation and Viability in the CALU3 Airway Epithelial Cell Line. *Articles in Press. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 313(1): 32-66.
- Ryan, J. A. 2008. Evolusi Permukaan Kultur Sel. *BioFiles*. 3 (8): 1-6.
- Sancilio S., Gallorini M., dan Cataldi A. 2016. Cytotoxicity and Apoptosis Induction by E-cigarette Fluids in Human Gingival Fibroblasts. *Clin Oral Investig*. 20 (3): 477-83.
- Schweitzer K.S., Chen S.X., Law S., Van Demark, Poirier C., Justice M.J., dan Hubbar W.c. 2015. Endothelial Disruptive Proinflammatory Effects of Nicotine and E-Cigarette Vapour Exposure. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 309 (2): 157-87.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian al-Quran*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sloane, E. 2004. *Anatomi dan Fisiologi untuk Pemula*. Jakarta: EGC.
- Stratton, K., Leslie Y., dan David L. 2018 *Public Health Consequences of E-Cigarettes*. Washington : The National Academies Press.
- Tabbara, Afif. 1986. *Al-Khatayah fi Nasar al-Islam*, terjemahan Bahrun Abu Bakar: *Dosa dalam Pandangan Islam*. Bandung: Risalah.
- Talih, S., El-Hellani A., R. El-Hage, R. Baalbaki, R. Salman, A. Shihadeh, dan N. A. Saliba. 2015. Free-base and Protonated Nicotine in Electronic Cigarette Liquids and Aerosols. *Chemical Research in Toxicology*. 28 (8): 1532-7.
- Taylor, B. S., Young-Myeong K., Qi W., Shapiro R.A., Billiar T.R., dan Geller D.A. 1997. Nitric Oxide Down-regulates Hepatocyte-inducible Nitric Oxide Synthase Gene Expression. *Archives of Surgery*. 132 (11): 1177-83.
- Thermo Fisher Scientific. 2015. *Cell Culture Basics Handbook*. UK: Gibco. [www.lifetechnologies.com/cellculturebasics](http://www.lifetechnologies.com/cellculturebasics). Diakses 13 Juni 2018.

- Thorpe T. A. 2007. History of Plant Tissue Culture. *Molecular Biotechnology*. 37 (2): 169-80.
- Tierney, P. A., Clarissa D. K., Jessica E. B., Wentai L., dan James F. P. 2015. *Flavor Chemicals in Electronic Cigarette Fluids*. USA: BMJ Publishing Group Ltd under licence.
- Trenggono, B. S. 2009. *Metode Dasar Kultur Jaringan Hewan*. Jakarta : Universitas Trisakti.
- Trtchounian, A., dan Talbot P. 2011. Electronic Nicotine Delivery Systems: is There a need for Regulation?. *Tobacco Control*. 20 (1): 1-10.
- U.S. Food and Drug Administration (FDA). 2011. *Flavored Tobacco*. <http://www.fda.gov/TobaccoProducts/ProtectingKidsfromTobacco/FlavoredTobacco/default.htm>. Diakses 29 Maret 2018.
- Vansickel A. R., Cobb C. O., Weaver M. F., Eissenberg T. E. 2010. A Clinical Laboratory Model for Evaluating the Acute Effects of Electronic 'Cigarettes': Nicotine Delivery profile and Cardiovascular and Subjective Effects. *Cancer EpidemiolBiomarkers Prev* . 19 (8): 1945-53.
- Wang, L., Yongcheng Z., Qiudan L. I., Daniel D., Scott J., dan Janet O. 2015. An Examination of Electronic Cigarette Content on Social Media: Analysis of E-Cigarette Flavor Content on Reddit. *Internation Journal of Enviromental Research and Public Health*. 12 (11): 14916-35.
- William, M., Trtchounian A, dan Talbot P. 2010. Conventional and Electronic Cigarette (e-Cigarette) have Different Smoking Characteristics. *NicotineTobacco Res*. 12 (9): 905-12.
- World Health Organization (WHO). 2009. *Study Group on Tobacco Regulation. Report on the Scientific Basis of Tobacco Product Regulation: Third Report of a WHO Study Group*. World Health Organization.
- Wu, Q, Jiang D., Minor M., dan Chu H. W. 2014. Electronic Cigarette Liquids Increases Inflammation and Virus Infection in Primary Human Airway Epithelial Cells. *Plos one*. 9 (9): 1-6.
- Wu, S.J., Ng L.T., dan Lin C.C. 2005. Cinnamaldehyde-induced Apoptosis in Human PLC/PRF/5 Cells Through Activation of the Proapoptotic Bcl-2 Family Proteins and MAPK Pathway. *Life Sci*. 77 (8): 938-51.

- Wulandari, W. 2003. *Perbedaan konfluenitas dan viabilitas Sel Kultur Sel Primer Fibroblast dari Jaringan Daun Tlinga Rusa Bawean (Axis kuhlii) pada Medium TCM 199 dan MEM*. Surabaya: UNAIR.
- Yadav, P. R., dan Tyagi R. 2005. *Cell Culture*. New Delhi: Discovery Publishing House.
- Yamada, K. M., dan Benjamin G. 1997. Molecular Interactions in Cell Adhesion Complexes. *Current Opinion in Cell Biology*. 9 (1): 76-85.
- Zhu S.H., Yun J.Y., Bonnevie E., Cummins SE., Gamst A., dan Yin L. 2014. Four Hundredand Sixty Brands of e-Cigarette and Counting : Implications for Product Regulation. *Tob Control*. 23 (3): 1-7.



## LAMPIRAN

### Lampiran 1: Pengenceran Konsentrasi Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis.

Pengenceran konsentrasi cairan rokok elektrik yang digunakan dilakukan dengan menggunakan media DMEM 0% sebanyak 3 mL sebagai berikut:

1. Perlakuan 1 (kontrol): tanpa pemberian cairan rokok elektrik aroma kayu manis

2. Perlakuan 2: 0.25%

Jadi, volume cairan rokok elektrik yang ditambahkan ke dalam media adalah  $0.25/100 \times 3000\mu\text{L} = 7.5 \mu\text{L}$

3. Perlakuan 3: 0.5%

Jadi, volume cairan rokok elektrik aroma kayu manis yang ditambahkan ke dalam media adalah  $0.5/100 \times 3000\mu\text{L} = 15\mu\text{L}$

4. Perlakuan 4: 0.75%

Jadi, volume cairan rokok elektrik aroma kayu manis yang ditambahkan ke dalam media adalah  $0.75/100 \times 3000\mu\text{L} = 22.5 \mu\text{L}$

5. Perlakuan 5: 1%

Jadi, volume cairan rokok elektrik aroma kayu manis yang ditambahkan ke dalam media adalah  $1/100 \times 3000\mu\text{L} = 30 \mu\text{L}$ .

**Lampiran 3.** Analisis Data tentang Persentase Kofluenitas Sel Paru-Paru Tikus (*Rattus norvegicus*)

**Lampiran 2.** Analisis Data tentang Viabilitas Sel Paru-Paru Tikus (*Rattus norvegicus*)

2.1. Data Hasil Penelitian

Perlakuan	Viabilitas Sel (%)					Jumlah	Rata-Rata (%)
	1	2	3	4	5		
P1 (0%)	86,02	88,06	91,23	90,91	90,91	447,13	89,426
P2 (0.25%)	75	74,8	63,01	71,92	60,41	345,14	69,028
P3 (0.5%)	60,69	75,34	64,1	65,24	53,57	318,94	63,788
P4 (0.75%)	61,4	71,42	56,7	48,57	52,85	290,94	58,188
P5 (1%)	59,82	55,11	56,94	48,99	59,8	280,66	56,132
Total						1682,81	336,562

2.2. Hasil Uji Statistik Manual

- a) Faktor Koreksi (FK) =  $(\text{Jumlah total data})^2 / \text{jumlah ulangan (r)} \times \text{jumlah perlakuan (t)}$   
 $= (1682,81)^2 / 5 \times 5$   
 $= 113274$
- b) Jumlah Kuadrat Total (JKT) =  $(86,02^2 + 88,06^2 + \dots + 59,8^2) - \text{FK}$   
 $= 117684,1 - 113274$   
 $= 4410,154$
- c) Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP) =  $(447,13^2 + \dots + 280,66^2) / r - \text{FK}$   
 $= 584185,7 / 5 - 113274$   
 $= 3563,16$
- d) Jumlah Kuadrat Galat (JKG) =  $\text{JKT} - \text{JKP}$   
 $= 4410,154 - 3563,16$   
 $= 846,994$
- e) Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP) =  $\text{JKP} / t - 1$   
 $= 3563,16 / 4$   
 $= 890,79$
- f) Kuadrat Tengah Galat (KTG) =  $\text{JKG} / t(r-1)$   
 $= 846,994 / 20$   
 $= 42,3497$
- g) F.hitung =  $\text{KTP} / \text{KTG}$   
 $= 890,79 / 42,3497$

$$= 21.034$$

h) Tabel ANSIRA ANOVA *one way*

Sk	Db	JK	KT	FHITUNG	F TABEL
Perlakuan	4	3563.16002	890.79	21.03415	2.776289
Galat	20	846.99404	42.3497		
Total	24	4410.15406			

i) Nilai Koefisien Keragaman (KK)

$$KK = \frac{\sqrt{KTG}}{\gamma (\text{rata-rata dari rata-rata})} \times 100\% = \frac{\sqrt{42.3497}}{67.3124} \times 100\% = 9.66\%$$

j) Nilai uji lanjut LSD =  $(t_{\alpha, dfe}) \sqrt{\frac{2(KTG)}{r}} = 2.085 \sqrt{\frac{2(42.3497)}{5}} = 8.58$

### 2.3. Hasil Uji Statistik dengan SPSS

a. Uji Normalitas

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		VIABIITAS
N		25
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	67.3148
	Std. Deviation	13.55515
Most Extreme Differences	Absolute	.161
	Positive	.161
	Negative	-.116
Kolmogorov-Smirnov Z		.803
Asymp. Sig. (2-tailed)		.540

a. Test distribution is Normal.

## b. Uji Homogenitas

## Test of Homogeneity of Variances

VIABIITAS

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.529	4	20	.232

## c. Uji ANOVA

## ANOVA

VIABIITAS	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3562.682	4	890.670	21.028	.000
Within Groups	847.128	20	42.356		
Total	4409.809	24			

## a. Uji Lanjut LSD

## Multiple Comparisons

VIABIITAS

LSD

(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	20.39400*	4.11613	.000	11.8079	28.9801
	3	25.63400*	4.11613	.000	17.0479	34.2201
	4	31.23600*	4.11613	.000	22.6499	39.8221
	5	33.29200*	4.11613	.000	24.7059	41.8781
2	1	-20.39400*	4.11613	.000	-28.9801	-11.8079
	3	5.24000	4.11613	.218	-3.3461	13.8261
	4	10.84200*	4.11613	.016	2.2559	19.4281
	5	12.89800*	4.11613	.005	4.3119	21.4841
3	1	-25.63400*	4.11613	.000	-34.2201	-17.0479

	2	-5.24000	4.11613	.218	-13.8261	3.3461
	4	5.60200	4.11613	.189	-2.9841	14.1881
	5	7.65800	4.11613	.078	-.9281	16.2441
4	1	-31.23600*	4.11613	.000	-39.8221	-22.6499
	2	-10.84200*	4.11613	.016	-19.4281	-2.2559
	3	-5.60200	4.11613	.189	-14.1881	2.9841
	5	2.05600	4.11613	.623	-6.5301	10.6421
5	1	-33.29200*	4.11613	.000	-41.8781	-24.7059
	2	-12.89800*	4.11613	.005	-21.4841	-4.3119
	3	-7.65800	4.11613	.078	-16.2441	.9281
	4	-2.05600	4.11613	.623	-10.6421	6.5301

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### 3.1. Data Hasil Penelitian

Perlakuan	Konfluenitas Sel (%)					Jumlah	Rata-Rata (%)
	1	2	3	4	5		
P1 (0%)	88	87	85	86	85	431	86,2
P2 (0.25%)	75	77	72	76	75	375	75
P3 (0.5%)	70	70	72	75	65	352	70,4
P4 (0.75%)	60	55	65	55	58	293	58,6
P5 (1%)	50	57	55	50	55	267	53,4
Total						1718	343,6

### 3.2. Hasil Uji Statistik Manual

$$\begin{aligned}
 \text{a) Faktor Koreksi (FK)} &= (\text{Jumlah total data})^2 / \text{jumlah ulangan (r) x jumlah perlakuan (t)} \\
 &= (1718)^2 / 5 \times 5 \\
 &= 118061
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{b) Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= (88^2 + 87^2 + \dots + 55^2) - \text{FK} \\
 &= 121670 - 118061 = 3609.04
 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned} \text{c) Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= (431^2 + \dots + 267^2) / r - FK \\ &= 607428 / 5 - 118061 \\ &= 3424.64 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{d) Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} &= JKT - JKP \\ &= 3609.04 - 3424.64 \\ &= 184.4 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{e) Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)} &= JKP / t - 1 \\ &= 3424.64 / 4 \\ &= 856.16 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{f) Kuadrat Tengah Galat (KTG)} &= JKG / (t(r-1)) \\ &= 184.4 / 20 \\ &= 9.22 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{g) F.hitung} &= KTP / KTG \\ &= 856.16 / 9.22 \\ &= 92.859 \end{aligned}$$

h) Tabel ANSIRA ANOVA *one way*

Sk	Db	JK	KT	FHITUNG	F TABEL
perlakuan	4	3424.64	856.16	92.859	2.776289289
galat	20	184.4	9.22		
Total	24	3609.04			

i) Nilai Koefisien Keragaman (KK)

$$KK = \frac{\sqrt{KTG}}{\gamma \text{ (rata-rata dari rata-rata)}} \times 100\% = \frac{\sqrt{9.22}}{68.72} \times 100\% = 4.41\%$$

j) Nilai Uji Lanjut tukey

$$\text{Nilai tukey} = q(p, v) \sqrt{\frac{KTG}{r}} = 0.05 (5, 20) \sqrt{\frac{9.22}{5}} = 4.23 \times 1.357 = 5.74$$

### 3.3. Hasil Uji Statistik dengan SPSS

#### a. Uji Normalitas

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Konflenitas
N		25
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	68.7200
	Std. Deviation	12.26282
Most Extreme Differences	Absolute	.129
	Positive	.129
	Negative	-.108
Kolmogorov-Smirnov Z		.645
Asymp. Sig. (2-tailed)		.800

a. Test distribution is Normal.

#### b. Uji Homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances**

Konflenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.581	4	20	.218

#### c. Uji ANOVA

**ANOVA**

Konflenitas					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3424.640	4	856.160	92.859	.000
Within Groups	184.400	20	9.220		
Total	3609.040	24			

#### d. Uji Lanjut Tukey HSD

**Konflenitas**

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
P5	5	53.4000		
P4	5	58.6000		
P3	5		70.4000	
P2	5		75.0000	
P1	5			86.2000
Sig.		.088	.157	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**Lampiran 4.** Perhitungan Viabilitas Sel Sebelum ditanam

$$\% \text{ Viabilitas} = \frac{\Sigma \text{ Sel yang hidup}}{\Sigma \text{ sel yang hidup} + \text{sel mati}} \times 100 = \frac{78}{78+12} \times 100 = 86.67\%$$

**Lampiran 5.** Perhitungan Sel Sebelum ditanam

$$\begin{aligned} \text{Sel yang ditanam} &= \left( \frac{\text{jumlah sel di kotak A} + \text{kotak B} + \text{kotak C} + \text{Kotak D}}{4} \right) \times 10^4 \\ &= \left( \frac{10+12+38+30}{4} \right) \times 10^4 \\ &= 2.25 \times 10^5 \end{aligned}$$

**Lampiran 6.** Perhitungan Nilai PDT pada hari ke-12 setelah Kultur

$$\begin{aligned} \text{PDT (hari)} &= \frac{1}{\frac{(\log \text{ jumlah sel akhir} - \log \text{ jumlah sel awal}) \times 3.32}{\text{waktu}}} \\ &= \frac{1}{\frac{(\log 21.3 - \log 2.25) \times 3.32}{12}} \\ &= 3,688 \text{ hari} \end{aligned}$$

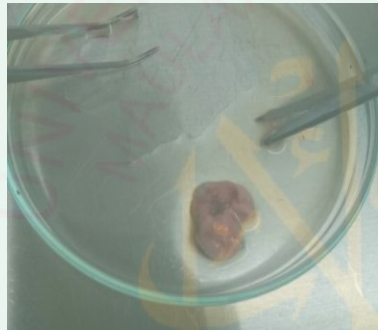
## Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian



Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu  
Manis



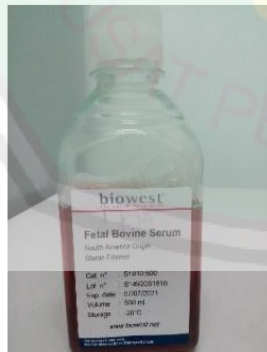
Tikus umur 3-4 hari setelah  
didislokasi



Sel paru-paru tikus yang telah diisolasi



Media DMEM



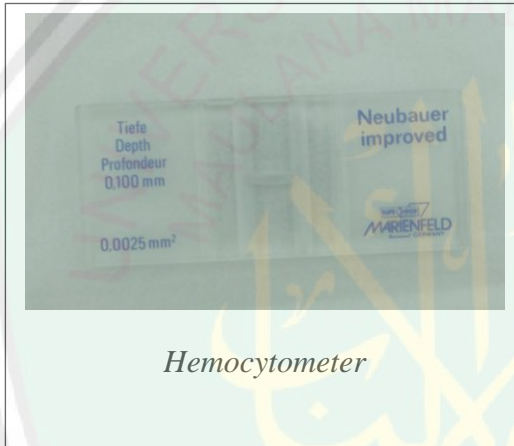
*Fetal Bovine Serum (FBS)*



*Deionized Water*



Tripsin EDTA



*Hemocytometer*



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

**JURUSAN BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933  
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Siti Kolippatus S  
NIM : 14620055  
Program Studi : Biologi  
Semester : Genap TA 2018/2019  
Pembimbing : Kholifah Holil, M.Si  
Judul Skripsi : Pengaruh Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis (*Cinnamomum sp.*) terhadap Viabilitas dan Konfluenitas Sel Paru-Paru Tikus (*Rattus norvegicus*) secara *In Vitro*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	10 Februari 2018	Bab I	1 ✓
2	15 Maret 2018	Bab I	2 ✓
3	25 April 2018	Bab II	3 ✓
4	9 Juni 2018	Bab I, II, dan III	4 ✓
5	19 Juli 2018	Bab I, II, dan III	5 ✓
6	15 April 2019	Data	6 ✓
7	3 Mei 2019	Bab IV	7 ✓
8	12 Mei 2019	Bab IV	8 ✓
9	18 Mei 2019	Bab IV dan V	9 ✓

Pembimbing Skripsi,

Kholifah Holil, M.Si  
NIP. 19751106 200912 2 002



Malang, 19 Juni 2018  
Ketua Jurusan,

Romaidi, M.Si., D.Sc  
NIP. 19810201 200901 1 019



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
**JURUSAN BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933  
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : Siti Kolippatus S  
NIM : 14620055  
Program Studi : Biologi  
Semester : Genap TA 2018/2019  
Pembimbing : Umayyatus Syarifah, M.A  
Judul Skripsi : Pengaruh Cairan Rokok Elektrik Aroma Kayu Manis (*Cinnamomum sp.*) terhadap Viabilitas dan Konfluenitas Sel Paru-Paru Tikus (*Rattus norvegicus*) secara *In Vitro*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	5 Juni 2018	Bab I	1
2	19 November 2018	Bab II	2
3	23 April 2019	Bab III	3
4	3 Mei 2019	Bab IV	4

Pembimbing Skripsi, Malang, 19 Juni 2018  
Ketua Jurusan,

Umayyatus Syarifah, M.A  
P. 19820925 200901 2 005



Remaidi, M.Si., D.Sc  
NIP. 19810201 200901 1 019