

## Perubahan Histopatologi Trakea Mencit Jantan Pascapaparan Asap Rokok Elektrik

(*TRACHEAL HISTOPATHOLOGY CHANGES IN MALE MICE AFTER EXPOSURE TO  
ELECTRIC CIGARETTE SMOKE*)

Amar Wira<sup>1</sup>, Ida Bagus Oka Winaya<sup>2</sup>, Anak Agung Ayu Mirah Adi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Pendidikan Dokter Hewan,

<sup>2</sup>Laboratorium Patologi Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana,

Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234; Telp/Fax: (0361) 223791

e-mail: amarwiral@gmail.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan histopatologi trakea mencit (*Mus musculus*) jantan pascaterpapar asap rokok elektrik (*vaping*). Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit yang dibagi menjadi dua kelompok perlakuan. Kelompok I (P0) sebagai kelompok kontrol yakni tanpa perlakuan pemaparan asap rokok elektronik dan kelompok II (P1) yang terdiri dari 12 ekor mencit adalah sebagai kelompok perlakuan yang diberi paparan asap rokok elektrik. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola *faktorial* dengan tiga kali pengambilan sampel minggu ke -1, 2 dan 3 pascaperlakuan. Masing-masing kelompok dikorbankan 4 ekor mencit pada setiap waktu pengamatan. Jaringan trakea diambil dan dimasukkan ke dalam pot yang telah diisi cairan netral buffer formalin 10%, jaringan trakea kemudian diproses untuk pembuatan preparat. Berdasarkan hasil analisis statistik perlakuan tidak berpengaruh nyata  $P > 0,05$ , begitu pula lama pemaparan juga tidak berpengaruh nyata  $P > 0,05$ . Hal ini kemungkinan dikarenakan terlalu singkatnya waktu pemaparan dan kandungan nikotin yang rendah pada rokok elektrik. Berdasarkan pengamatan histopatologi ketebalan mukosa trakea pada kelompok perlakuan lebih tebal dibandingkan dengan kelompok kontrol. Analisis statistik menunjukkan paparan asap rokok elektrik tidak berpengaruh terhadap ketebalan mukosa trakea, namun secara histologi paparan asap elektrik berpengaruh terhadap ketebalan mukosa trakea.

Kata-kata kunci: mencit; trakea; rokok elektrik

### ABSTRACT

This study was to determine the histopathological changes of male tracheal mice (*Mus musculus*) post exposed to electric cigarette smoke (*vaping*). This study used 24 mice divided into two treatment groups. Group I (P0) as a control group treated without electronic cigarette smoke exposure and group II (P1) consisted of 12 mice were treated as groups that exposed to electric cigarette smoke. This study used a complete randomized factorial design (CRFD) with three times sample taken at 1st, 2nd and 3rd post-treatment. For each group, 4 mice were sacrificed each observation time. The tracheal tissue was taken and put into a pot that has been filled with 10% formalin neutral buffer fluid, then the tracheal tissue processed to make a slide. Based on the results of the statistical analysis there was no significant effect  $P > 0.05$ , as well as the duration of exposure was also not significantly different  $P > 0.05$ . This is probably due to the short exposure time and the low nicotine content in electric cigarettes. Based on the histopathological observation, the thickness of the tracheal mucose in the treatment group was thicker than the control group. Statistical analysis showed that the exposure of electric cigarette smoke had no effect on the thickness of the tracheal mucose, but histopathologically the electric smoke exposure affected the tracheal mucose.

Keywords: mice, trachea electronic, cigarette

## PENDAHULUAN

Rokok merupakan masalah kesehatan dunia. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan jumlah perokok di dunia sebanyak 2,5 milyar orang dengan dua pertiganya berada di negara berkembang. Paling sedikit satu dari empat orang dewasa adalah perokok di negara berkembang. Prevalensi perokok lebih tinggi di negara dengan pendapatan perkapita yang rendah dan terbanyak pada kelompok penduduk dewasa muda dengan perbandingan 27% laki-laki dan 21% perempuan. Prevalens perokok di Amerika Serikat sebesar 26% laki-laki dan 21% perempuan sedangkan di Inggris sekitar 27% laki-laki dan 25% perempuan (WHO, 2008).

Saat ini gangguan kesehatan karena rokok banyak dikaitkan dengan efek pembakaran tembakau dan senyawa berbahaya lainnya dalam rokok yang berbahaya pada perokok dan lingkungannya. Sehingga di berbagai negara termasuk Indonesia telah memberlakukan zona bebas asap rokok di tempat-tempat umum dan menerapkan peraturan-peraturan untuk membatasi rokok. Program berhenti merokok pun digalakkan oleh badan-badan kesehatan namun memberikan hasil yang belum memuaskan (WHO, 2008). Hasil tersebut menggambarkan bahwa ketergantungan nikotin sangat sulit diatasi. Cara lain adalah dengan menghilangkan pembakaran rokok tembakau dengan menggunakan *nicotine replacement therapy* (NRT) (terapi pengganti nikotin) (Tanuwihardja dan Susanto, 2012).

Model dari NRT yang paling dikenal oleh masyarakat Indonesia adalah *E-cigarette*. *Electronic cigarette* (rokok elektronik atau *e-cigarette*) adalah salah satu NRT dimana rokok jenis ini menggunakan listrik dari tenaga baterai untuk memberikan nikotin dalam bentuk uap dan oleh WHO disebut sebagai *Electronic Nicotine Delivery System* (Ningsih, 2015). *Electronic cigarette* dirancang untuk memberikan nikotin tanpa pembakaran tembakau dengan tetap memberikan sensasi merokok pada penggunanya. Secara umum sebuah *e-cigarette* terdiri dari 3 bagian yaitu: *battery* (bagian yang berisi baterai), *atomizer* (bagian yang akan memanaskan dan menguapkan larutan nikotin) dan *cartridge* (berisi larutan nikotin) (Tanuwihardja dan Susanto, 2012).

Pada awal keberadaan rokok elektronik, produk tersebut dikatakan aman bagi kesehatan karena larutan nikotin yang terdapat pada rokok elektronik hanya terdiri dari campuran air, propilen glikol, zat penambah rasa, aroma tembakau, dan senyawa-senyawa lain yang tidak mengandung tar, tembakau atau zat-zat toksik lain yang umum terdapat pada rokok tembakau (William *et al.*, 2010). Namun, FDA (*Food and Drug Administration*),

(2009) melaporkan bahwa *catridge* dan larutan dari *e-cigarette* mengandung nitrosamin, dietilen glikol dan zat kontaminan lainnya yang berpotensi membahayakan kesehatan. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa *e-cigarette* berdampak terhadap kesehatan saluran pernapasan salah satunya trakea (Palazzollo, 2013).

Trakea merupakan penyalur udara yang terletak antara laring dengan bronkhus, berbentuk buluh yang semifleksibel dan semikolaps, terdapat di bagian ventral leher, terbentang mulai laring sampai rongga dada. Secara histologi, trakea terdiri dari beberapa lapis, yaitu lapis mukosa (epitel silindris banyak baris bersilia dan lamina propria), lapis submukosa (daerah ujung kelenjar), cincin tulang rawan, lapisan otot (*Musculus transversus trachealis*), dan adventisia (Widodo, 2006).

Rokok elektrik dengan kandungan nikotin, propilen glikol, gliserin, air dan flavoring (perisa) yang dapat menyebabkan perubahan struktur, fungsi saluran napas dan jaringan paru-paru. Masih terbatasnya informasi mengenai pengaruh paparan asap rokok elektrik pada saluran pernafasan secara histopatologi, khususnya pada trakea, maka perlu diteliti untuk mengetahui gambaran histopatologi trakea mencit (*Mus musculus*) jantan setelah dipapari asap rokok elektrik (*Vaping*).

## METODE PENELITIAN

Objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah trakea mencit yang dipapari oleh asap rokok elektronik. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan berumur 2-2,5 bulan dan berat badan 18-20-gram yang didapatkan di Kota Denpasar, Provinsi Bali. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola *Faktorial*. Kelompok I (P0) sebagai kontrol yang tanpa perlakuan pemaparan asap rokok elektronik dan kelompok II (P1) yang terdiri dari 12 ekor mencit adalah kelompok perlakuan yang diberi paparan asap rokok elektrik. Pengamatan dilakukan sebanyak tiga kali yakni minggu ke -1, 2 dan 3. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dan Balai Besar Veteriner Denpasar bulan Februari-April 2018.

### Perlakuan Terhadap Mencit

Sebelum penelitian dimulai, mencit diadaptasi selama 1 minggu di tempat penelitian untuk penyesuaian dengan lingkungan. Satu kandang berisi dua ekor mencit. Sampel mencit yang berjumlah 24 ekor kemudian dibagi atas 2 kelompok secara random di mana kelompok

pertama (kelompok kontrol/P0) diberikan perlakuan tanpa paparan asap rokok elektrik, dan kelompok kedua (kelompok perlakuan 1/P1) diberikan perlakuan paparan asap rokok elektrik rasa strawberry selama 30 menit di dalam kardus yang telah dimodifikasi. Kemudian dilakukan pengamatan histopatologi pada minggu ke -1, 2, 3 pascapaparan asap dengan mengorbankan sebanyak 4 ekor mencit dari masing masing kelompok perlakuan dan kontrol. Mencit (*Mus musculus*) kemudian diterminasi dengan cara dislokasi leher kemudian dinekropsi sesuai prosedur, kemudian diambil organ paru dan dimasukkan ke dalam tabung jaringan yang telah berisi larutan NBF 10%. Selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histopatologi dan organ diwarnai dengan pewarnaan Harris-Hematoxyline-Eosin (HE).

### **Pembuatan Preparat Histologi**

Jaringan direndam ke dalam netral buffer formalin 10% dan dibiarkan dalam suhu kamar selama 24 jam. Jaringan dipotong dengan ukuran  $1 \times 1 \times 1$  cm, kemudian dimasukkan dalam *cassette* jaringan. Kemudian jaringan dipindahkan untuk dehidrasi dengan alkohol secara berturut-turut dengan konsentrasi alkohol 70%, 80%, 90%, 96% dengan lamanya waktu masing-masing perendaman adalah 2 jam. Tahap selanjutnya adalah *clearing* dan setelah itu jaringan siap untuk dimasukkan ke dalam blok parafin. Selanjutnya dilakukan *embedding* dan *blocking*. Setelah itu organ dipotong (*cutting*) dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 mikron. Kemudian diwarnai dengan pewarnaan Harris-Hematoksilin-Eosin (Kiernan, 1990).

### **Pengamatan**

Variabel yang diamati pada hisopatologi organ trakea adalah desiliasi, degenerasi, nekrosis serta ketebalan mukosa epitel.

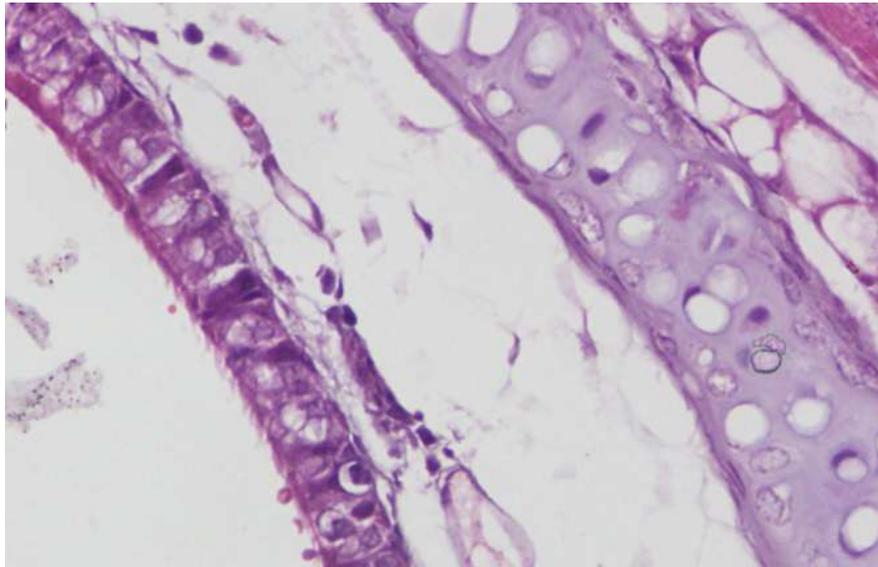
### **Analisis Data**

Data hasil pengamatan histopatologi dikumpulkan, kemudian dianalisis secara deskriptif. Analisis ketebalan mukosa dilakukan dengan uji *Anova*. Jika terdapat perbedaan nyata, analisis dilanjutkan dengan uji *Duncan* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Sedangkan perubahan desiliasi, degenerasi, dan nekrosis dianalisis secara deskriptif kualitatif.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

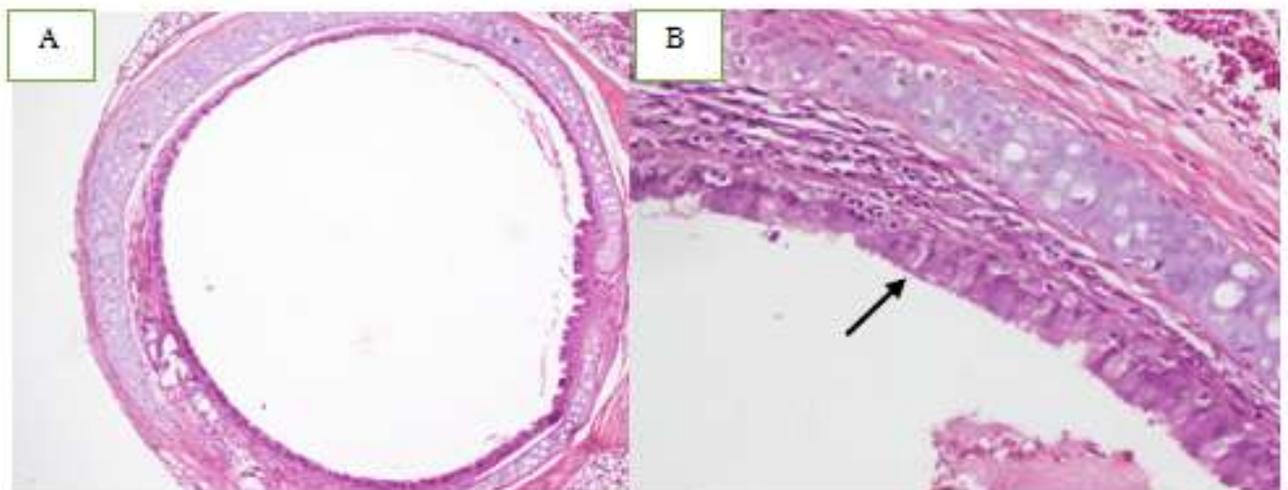
Hasil pemeriksaan jaringan trakea pada kelompok kontrol (Gambar 1) tidak ditemukan adanya perubahan. Trakea dilapisi oleh epitel kolumnar dan pseudokompleks

bersilia dengan sel goblet. Lamina propria dan submukosa berada di bawah epitel, namun tidak jelas satu sama lain. Kelenjar, kebanyakan gabungan serosa dan mukosa, terdapat pada lapisan lamina propria yang lebih dalam dan di dalam submukosa. Cincin tulang rawan hialin, yang tidak lengkap membentang secara dorsal, menopang dinding trakea. Lapisan otot polos, otot trakealis, terletak di bagian dorsal trakea (Bacha dan Bacha, 2012).



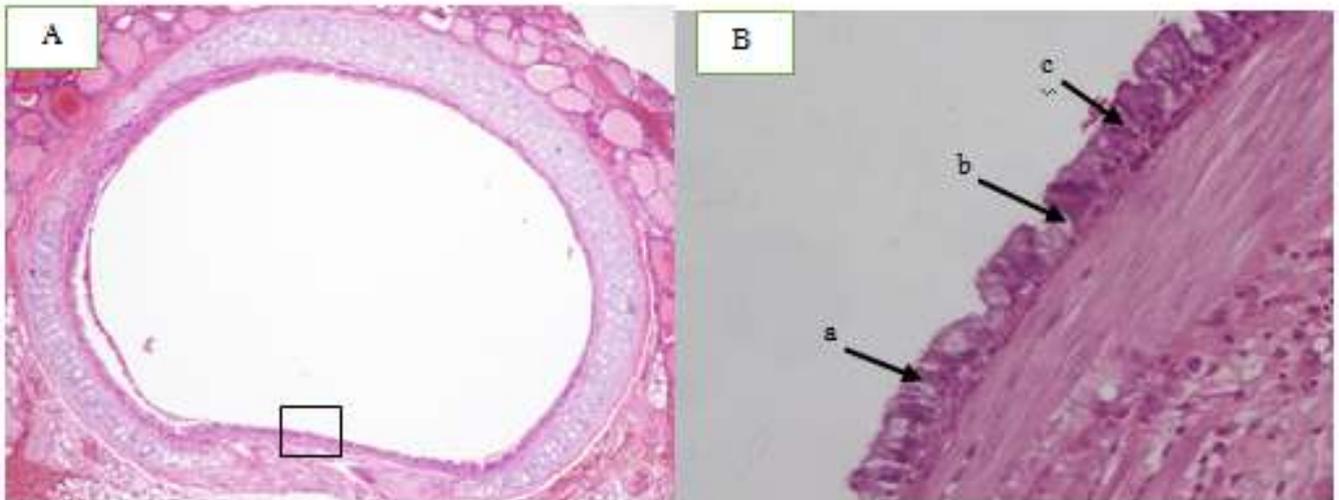
**Gambar 1.** Gambaran mikroskopis trakea kelompok kontrol terdapat silia pada epitel mukosa trakea masih normal (tanda panah ) (HE 40x)

Pada kelompok perlakuan pada minggu pertama (Gambar 2), ditemukan adanya desiliasi epitel mukosa trakea. Desiliasi yang terjadi bersifat multifokal dan bersifat fokal. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa paparan asap rokok elektrik dapat menyebabkan abrasi silia pada permukaan epitel.



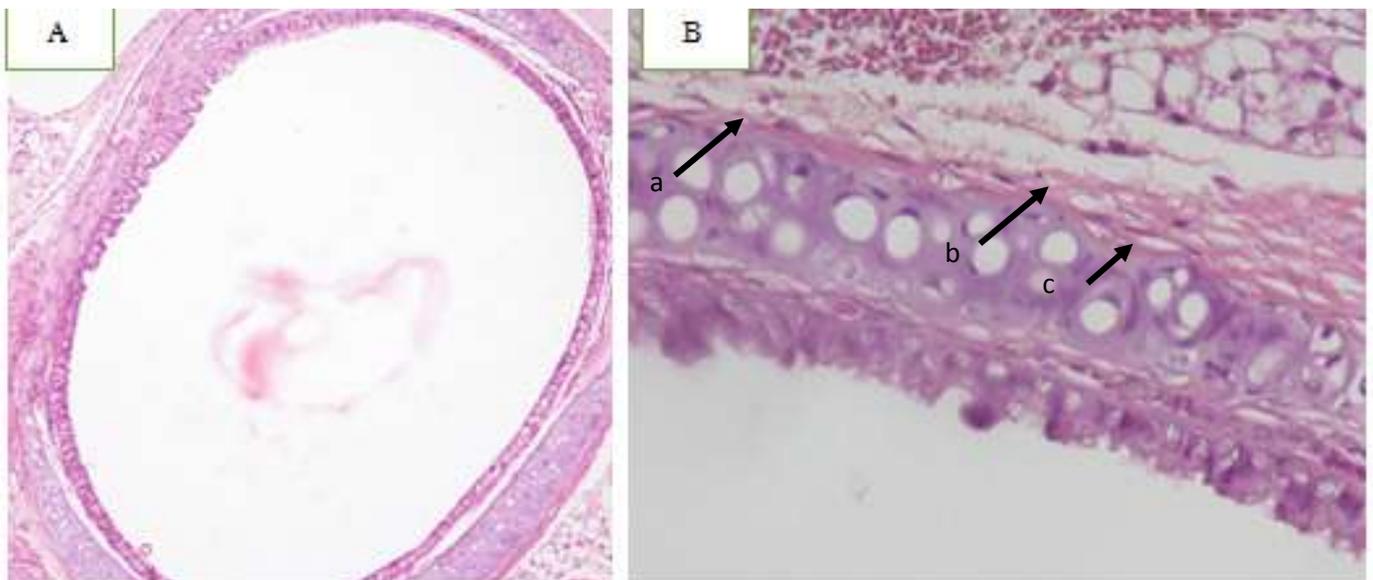
**Gambar 2.** Gambaran mikroskopis trakea mencit minggu I pascaperlakuan. (A: HE 20x; B: HE 40x). Terjadi desiliasi yang bersifat fokal (panah)

Hasil pengamatan pada minggu ke-2 perubahan yang ditemukan berupa nekrosis pada epitel mukosa trakea. Pada kelompok ini nekrosis terjadi pada sebagian lapisan mukosa trakea dan bersifat fokal. Disamping itu juga masih ditemukan adanya degenerasi yang bersifat fokal.



**Gambar 3.** Gambaran mikroskopis trakea minggu II. (A: HE 20x; B: HE 40x). Desiliasi yang bersifat fokal (a) Nekrosis epitel yang bersifat fokal (b) Degenerasi yang bersifat fokal (c).

Hasil pengamatan pada minggu ke-3 perubahan yang dapat teramati adalah desiliasi, degenerasi dan nekrosis yang bersifat multifokal.



**Gambar 4.** Gambaran mikroskopis trakea minggu III. (A: HE 20x; B: HE 40x). Nekrosis epitel yang bersifat multifokal (a) Degenerasi yang bersifat multifokal (b) Desiliasi yang bersifat multifokal (c).

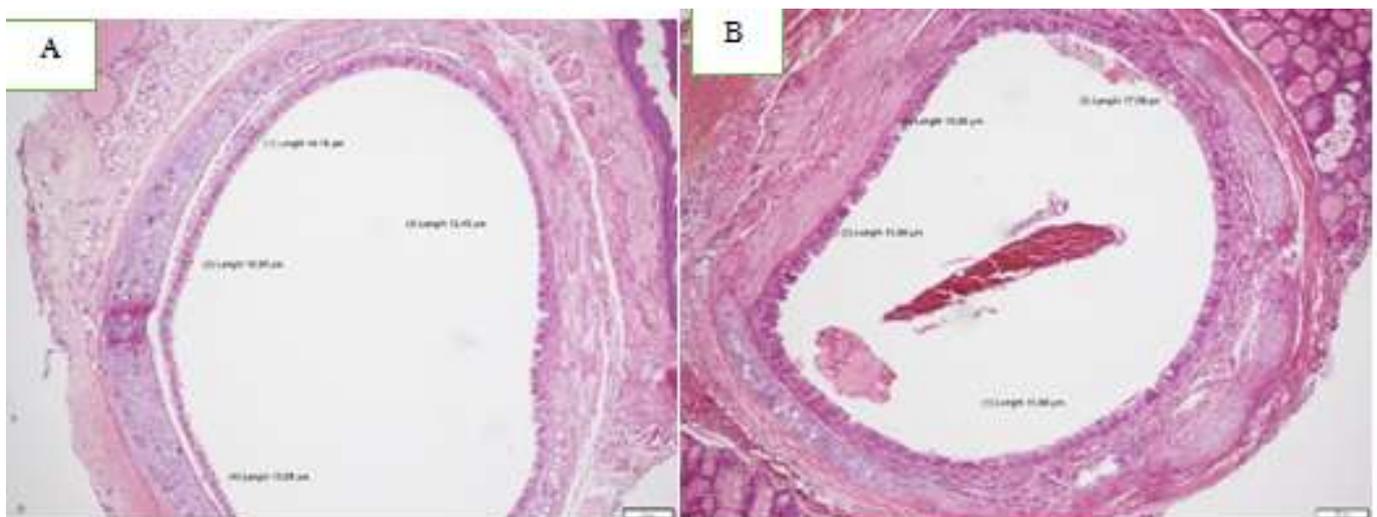
Frekuensi perubahan histopatologi dari trakea pascaterpapar asap rokok elektrik disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Perubahan Patologis Trakea dalam Waktu 3 Minggu

Variabel yang diamati	Perlakuan (Minggu)					
	I		II		III	
	P0 (a/b)	P1 (a/b)	P0 (a/b)	P1 (a/b)	P0 (a/b)	P1 (a/b)
Desiliasi	0/4	3/4	0/4	4/4	0/4	4/4
Degenerasi	0/4	4/4	0/4	4/4	0/4	4/4
Nekrosis	0/4	3/4	0/4	4/4	0/4	4/4

Keterangan: P0 : Kelompok Kontrol  
 P1 : Kelompok perlakuan  
 a : yang mengalami lesi  
 b : yang diperiksa

Trakea yang terpapar asap rokok elektrik ditemukan penebalan mukosa trakea. Pada gambar 4.5 (A) menunjukkan mukosa dalam keadaan normal. Sedangkan gambar 4.5 (B) menunjukkan terjadinya penebalan mukosa trakea pascaterpapar asap rokok elektrik. Terjadi peningkatan ketebalan mukosa dari minggu pertama sampai minggu ketiga yaitu 13,494  $\mu\text{m}$  menjadi 16,804  $\mu\text{m}$ .



**Gambar 5.** Gambaran mikroskopis penebalan mukosa trakea. (A: kelompok Kontrol; B: Kelompok perlakuan) (HE 20x)

**Tabel 2.** Rerata Ketebalan Mukosa Trakea antara Kelompok Perlakuan dengan Kelompok Kontrol dalam  $\mu\text{m}$ .

Kelompok	Ulangan	Waktu Paparan(Minggu)		
		1	2	3
P0	1	16,720	18,420	13,915
	2	16,873	7,888	15,700
	3	13,853	12,955	10,665
	4	14,013	11,513	13,695
	Rata-rata	15,364	12,694	13,494
P1	1	20,485	19,123	12,698
	2	14,040	12,000	19,318
	3	12,818	11,930	13,535
	4	19,873	14,538	22,833
	Rata-rata	16,804	14,398	17,096

Keterangan: Rerata ketebalan mukosa trakea berdasarkan analisis statistik. Antara perlakuan dan waktu tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ )

Berdasarkan hasil pengamatan histopatologi pada organ trakea mencit (*Mus musculus*) jantan, diperoleh hasil seperti desiliasi epitel, degenerasi, nekrosis. Pada kelompok perlakuan menunjukkan bahwa paparan asap rokok elektrik menyebabkan terjadinya desiliasi epitel pada minggu ke-1 sedangkan desiliasi, degenerasi, nekrosis terjadi pada minggu ke-2 dan minggu ke-3. Hal ini diduga karena adanya partikel zat kimia yang masuk dan menempel pada silia akibat paparan asap rokok.

Asap rokok menyebabkan perubahan struktural yang penting pada epitel pernapasan selain itu asap rokok juga menyebabkan penurunan viabilitas sel dan induksi apoptosis pada sel-sel silia epitel pernapasan (Lan *et al.*, 2007). Selanjutnya makrofag akan memfagosit partikel yang menempel pada silia tersebut (Kristiawan *et al.*, 2017). Hal ini sesuai dengan pernyataan Adi (2014) bahwa epitel bersilia pada sistem ini sangat sensitif mudah cedera jika terpapar inhalan gas beracun, infeksi virus dan trauma. Jika mendapat paparan benda asing sel epitel ini akan membengkak dan lepas dari membran basal ataupun kehilangan silia (desiliasi). Partikel yang terkandung dalam asap rokok menempel pada silia dan akan merusak struktur dari silia. Silia yang telah mengalami kerusakan akibat paparan asap rokok selanjutnya akan difagosit oleh makrofag (Anindyajati, 2007). Kelainan yang ditimbulkan pada sistem pernapasan oleh paparan asap rokok dalam jangka waktu panjang diantaranya adalah berkurangnya jumlah silia pada epitel pseudokompleks bersilia (Samantha *et al.*, 2010). Penelitian yang lain juga mengungkapkan bahwa, panjang silia pada individu yang terpapar asap rokok lebih pendek dibandingkan dengan silia pada individu yang tidak terpapar asap rokok (Leopold *et al.*, 2009).

Degenerasi dan nekrosis yang terjadi pada trakea mencit (*Mus musculus*) jantan merupakan akibat yang ditimbulkan oleh polutan yang terpapar terus menerus. Asap rokok dapat menyebabkan perubahan pada epitel pernapasan menjadi membesar dan abrasi epitel. Selain perubahan sel, asap rokok dapat menyebabkan sel berdiferensiasi, Tamashiro *et al.* (2009) melaporkan bahwa asap rokok memiliki dampak negatif pada proses ciliogenesis dengan dosis yang berbeda ke epitelium pernapasan pada fase pematangan dan diferensiasi.

Paparan asap rokok memiliki dampak yang negatif dan sangat berbahaya bagi kesehatan tubuh seperti terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif tersebut disebabkan karena adanya peningkatan radikal bebas di dalam tubuh (Kristiawan *et al.*, 2017). Paparan asap rokok yang diberikan secara berulang kali diduga dapat menyebabkan peningkatan indeks mitosis pada epitel saluran pernapasan hewan coba dan kemudian akan menyebabkan terjadinya hiperplasia sel goblet sehingga terjadi peningkatan sekresi mukus (Arkeman dan David, 2006). Radikal bebas pada asap rokok dapat menimbulkan gangguan kesehatan khususnya gangguan respirasi (Susanna *et al.*, 2003).

Nilai rata-rata ketebalan mukosa trakea secara analisis statistik *Univariate* tidak berpengaruh antara kelompok perlakuan dengan kontrol ( $P > 0,05$ ). Terjadi penebalan mukosa pada kelompok perlakuan yang tidak merata setiap minggunya. Pada kelompok perlakuan minggu pertama ketebalan mukosa yaitu 15,364  $\mu\text{m}$ . Perlakuan pada minggu ke-2 yaitu 14,398  $\mu\text{m}$  dan pada perlakuan minggu ke-3 yaitu 17,096  $\mu\text{m}$ . Rerata ketebalan mukosa kelompok kontrol pada minggu pertama sebesar 13,494  $\mu\text{m}$ , minggu ke-2 sebesar 12,694  $\mu\text{m}$  dan pada minggu ke-3 sebesar 6,804  $\mu\text{m}$ .

*Nicotine replacement therapy* (NRT) adalah metode yang menggunakan suatu media untuk memberikan nikotin yang diperlukan oleh perokok tanpa pembakaran tembakau yang merugikan. Alat-alat yang sudah dikenal dan beredar secara komersil adalah *gum* (permen karet), *inhalerlozenges* (tablet hisap), *nasal spray* (semprot hidung) dan *skin patch* (Tanuwihardja dan Susanto, 2012).

Jumlah nitrat oksida yang dihembuskan dapat meningkatkan resistensi saluran pernafasan dan impedansi perokok yang menggunakan *e-cigarette* selama 5 menit. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa vaping akut memiliki efek fisiologis yang merugikan serupa dengan beberapa efek yang diamati dengan perokok konvensional (Vardavas *et al.*, 2012). Selain itu, Bahl *et al.* (2012) melaporkan bahwa jumlah dan konsentrasi bahan kimia

(selain nikotin) yang digunakan untuk *flavoure-cigaretterefour* meningkatkan peningkatan sitotoksitas.

Sahu *et al.* (2013) menemukan bahwa ukuran partikel dari rokok konvensional berkisar antara 186 sampai 189 nm dimana partikel tersebut disalurkan ke alveoli, trakea, dan bronkeolus, di sisi lain Zhang *et al.* (2012) melaporkan bahwa ukuran partikel rokok elektrik lebih besar daripada rokok konvensional, yaitu 400 nm. Partikel-partikel atau benda asing inilah yang menyebabkan penebalan mukosa trakea, seperti yang dijelaskan Adi (2014) bahwa jika mendapat paparan benda asing sel epitel pada saluran pernapasan akan membengkak dan jika proses berlangsung lama maka akan terjadi hiperplasia dan metaplasia dari epitel tersebut.

Paparan kronis dan intermiten terhadap asap rokok menyebabkan perubahan morfologi pada epitel seluruh saluran pernapasan, atau hiperplasia dalam paparan konsentrasi yang lebih rendah. Paparan yang lebih tinggi, dapat menyebabkan kehilangan silia epitel dan metaplasia dengan keratinisasi serta penebalan submukosa dan peradangan dengan sel inflamasi neutrofilik dan mononuklear (Gaworski, 1998).

### **SIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa perubahan histopatologi trakea mencit jantan pascapemaparan asap rokok elektrik selama 21 hari berupa desiliasi epitel, degenerasi, nekrosis. Serta terjadi penebalan mukosa epitel trakea mencit pada perlakuan pascaterpapar asap rokok elektrik selama 21 hari.

### **SARAN**

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan waktu paparan asap rokok elektrik yang lebih lama untuk melihat perubahan yang lebih banyak.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Adi AAAM. 2014. *Buku Ajar Patologi Veteriner Sistemik: Sistem Pernapasan*. Denpasar: Swasta Nulus.
- Anindyajati EA. 2007. Pengaruh Asap Pelelehan Lilin Batik (Malam) Terhadap Struktur Histology Trakea Dan Alveoli Pulmo, Jumlah Eritrosit Serta Kadar Hemoglobin Mencit (*Mus musculusL.*). (Skripsi). Surakarta: Jurusan Biologi, FMIPA UNS.
- Arkeman H, David. 2006. Efek Vitamin C Dan E Terhadap Sel Goblet Saluran Nafas Pada Tikus Akibat Pajanan Asap Rokok. *Universal Medicina* 25 (2). 61-66.

- Bacha JR WJ, Bacha LM. 2012. *Color Atlas of Veterinary Histology*. 3<sup>rd</sup> Edition. Iowa: Wiley-Blackwell.
- Bahl V, Lin S, Xu N, Davis B, Wang YH, Talbot P. 2012. Comparison of electronic cigarette refill fluid cytotoxicity using embryonic and adult models. *Reprod Toxicol* 34:529–37.
- FDA. 2009. Evaluation of e-Cigarettes. St. Louis, MO: Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Division of Pharmaceutical Analysis (2009). Diakses pada tanggal 6 November 2017. <http://www.fda.gov/downloads/drugs/Scienceresearch/UCM173250.pdf>
- Gaworski CL, Dozier MM, Eldridge SR, Morrissey R, Rajendran N, Gerhart JM. 1998. Cigarette smoke vapor-phase effects in the rat upper respiratory tract. *Inhalation Toxicol* 10:857-73.
- Kiernan JA. 1990. *Histological & Histochemical Methods: Theory and Practice*. Oxford: Pergamon Press.
- Kristiawan IKA, Suarni NMR, Yulihastuti DA. 2017. Struktur Histologi Trakea Tikus Putih (*Rattus sp.*) yang Terpapar Asap Rokok Setelah Diberi Ekstrak Buah Juwet (*Syzygium cumini L.*). *Jurnal Simbiosis* (1): 11-15.
- Lan MY, Ho CY, Lee TC, Yang AH. 2007. Cigarette smoke extract induces cytotoxicity on human nasal epithelial cells. *Am J Rhinol* 21:218-23.
- Leopold PL, O'Mahony MJ, Lian XJ, Tilley AE, Harvey BG, Crystal RG. 2009. Smoking is Associated with Shortened Airway Cilia. *PLoS ONE* 4(12): e8157.
- Ningsih A. 2015. *Perlindungan Konsumen terhadap Pengguna Rokok Elektronik*. Universitas Hasanudin. Makassar.
- Palazzolo, Dominic L. 2013. Electronic Cigarettes and Vaping: a New Challenge in Clinical Medicine and Public Health. A literature review. Department of Physiology and Pharmacology, DeBusk College of Osteopathic Medicine, Lincoln Memorial University, Harrogate, TN, USA.
- Sahu SK, Tiwari M, Bhangare RC, Pandit GG. 2013. Particle size distributions of mainstream and exhaled cigarette smoke and predictive deposition in human respiratory tract. *Aerosol Air Qual Res* 13:324–32.
- Samantha MS, Joseph HS, Jacqueline AP, Jane MD, Craig B, Xiangde L, Kawasaki S, Jhon GS, Stephen IR, Todd AW. 2010. Long – Term Cigarette Smoke Exposure In A Mouse Model Of Ciliated Epithelial Cell Function. *Am J Respir Cell Mol Bio*. 6 (43). 635-640.
- Susanna D, Budi H, Hendra F. 2003. Penentuan Kadar Nikotin dalam Asap Rokok. Depertamen Kesehatan Lingkungan, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Indonesia. Depok. *Makara, Kesehatan* 7(2). 39-41.
- Tamashiro E, Xiong G, Anselmo-Lima WT, Kriendler J, Palmer JN, Cohen NA. 2009. Cigarette smoke exposure impairs epithelial respiratory ciliogenesis. *Am J Rhinol Allergy* 23(2):117-22.
- Tanuwardja RK, Susanto AD. 2012. Rokok Elektronik (Electronic Cigarette). *J Respir Indo* 32(1).
- Vardavas CI, Anagnostopoulos N, Kougias M, Evangelopoulou V, Connolly GN, Behrakis PK. 2012. Short-term pulmonary effects of using an electronic cigarette: impact on respiratory flow resistance, impedance, and exhaled nitric oxide. *Chest* 141:1400-6.
- WHO. 2008. *WHO Report on the Global Tobacco Epidemic*. World Health Organization: New York.

- Widodo E. 2006. Pajanan Asap Rokok Kretek pada Tikus Putih sebagai Model untuk Manusia. (Thesis). Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- William M, Talbot P, Trtchounian A. 2010. Conventional and electronic cigarettes (e-cigarettes) have different smoking characteristics. *Nicot Tobac Res.*12:905-12.
- Zhang Y, Sumner W, Chen DR. 2012. In vitro particle size distributions in electronic and conventional cigarette aerosols suggest comparable deposition patterns. *Nicotine Tob Res* 15:501–8.