

**JUMLAH ERITROSIT DAN LEUKOSIT TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG  
DIBERI PAPARAN ASAP GANJA (*Cannabis sativa*)  
BERBAGAI FREKUENSI**

*The Amount of Erythrocyte and Leucocyte in white rats (*Rattus norvegicus*) Exposed With  
*Cannabis (Cannabis sativa) Smoke in Various Frequency**

**Ahmad Ihsan<sup>1</sup>, Dasrul<sup>2</sup>, Sugito<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

<sup>2</sup>Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

ahmad.ihsan414@gmail.com

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh frekuensi paparan asap Ganja (*Cannabis sativa*) terhadap jumlah eritrosit dan leukosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan yaitu kelompok kontrol tikus tidak diberi paparan asap ganja (K<sub>0</sub>) dan kelompok perlakuan paparan asap ganja satu kali sehari (KP<sub>1</sub>), diberi paparan asap ganja dua kali sehari (KP<sub>2</sub>) dan diberi paparan asap ganja tiga kali sehari (KP<sub>3</sub>). Masing-masing kelompok diulangi sebanyak 6 kali. Pemberian paparan asap ganja dilakukan selama 30 hari secara berturut-turut. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke 31 melalui sinus orbitalis dengan pipet hematokrit sebanyak 1 ml. Jumlah eritrosit dan leukosit diperiksa dengan menggunakan Haemocytometer. Data jumlah eritrosit dan leukosit dianalisis dengan analisis of variance (ANOVA) dan uji berganda Duncan dengan bantuan program SPSS for Windows 17. Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan asap ganja berpengaruh secara nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap penurunan jumlah eritrosit dan leukosit tikus putih strain Wistar. Jumlah eritrosit dan leukosit pada K<sub>0</sub> lebih tinggi secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan KP<sub>2</sub> dan KP<sub>3</sub>, namun tidak berbeda secara nyata ( $P > 0,05$ ) dengan perlakuan KP<sub>1</sub>. Jumlah eritrosit leukosit pada kelompok KP<sub>1</sub> berbeda secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan KP<sub>2</sub> dan KP<sub>3</sub>. Jumlah eritrosit dan leukosit pada kelompok KP<sub>2</sub> tidak berbeda secara nyata ( $P > 0,05$ ) dibandingkan dengan KP<sub>3</sub>. Dapat disimpulkan frekuensi paparan asap ganja dapat menurunkan jumlah eritrosit dan leukosit tikus putih strain Wistar. Makin banyak frekuensi paparan asap ganja makin menurun jumlah eritrosit dan leukosit tikus putih strain Wistar.

**Kata kunci** : tikus, ganja, eritrosit, leukosit, , *Rattus norvegicus*, *Cannabis sativa*,

**ABSTRACT**

*This study aimed at finding out the effect of cannabis (*Cannabis sativa*) smoke exposure on the amount of erythrocyte and leucocyte in white rats (*Rattus norvegicus*) of Wistar strain. This study employed completely randomized design with four treatments that is a control group in which the rats were not exposed to cannabis smoke (K<sub>0</sub>) and three experimental groups in which the rats were exposed to cannabis smoke with the frequencies of one a day (KP<sub>1</sub>), twice a day (KP<sub>2</sub>), and thrice a day (KP<sub>3</sub>). There were six repetitions for each group. The cannabis exposure was conducted for 30 days respectively. Blood samples were taken on day 31 through sinus orbitalis with hematocrit capillary tubes with the amount of 1 ml. The amount of erythrocyte and leucocyte was examined by using hemocytometer. Data of the erythrocyte and leucocyte amount were analyzed by using analysis of variance (ANOVA) and Duncan's Multiple Range Test (DMRT) with the assistance of SPSS program for Windows 17. The results of the study showed that the cannabis smoke exposure had a significant effect on the decrease of erythrocyte and leucocyte in Wistar rats ( $P < 0.05$ ). The amount of erythrocyte and leucocyte in K<sub>0</sub> was significantly higher compared to K<sub>2</sub> and K<sub>3</sub> ( $P < 0.05$ ), however, it was not significantly different from K<sub>1</sub> ( $P > 0.05$ ). The amount of erythrocyte and leucocyte in K<sub>1</sub> was*

*significantly higher compared to K<sub>2</sub> and K<sub>3</sub> (P<0.05). The amount of erythrocyte and leucocyte in K<sub>2</sub> was not significantly greater compared to K<sub>3</sub> (P>0.05). It can be concluded that the frequency of cannabis smoke exposure can decrease the amount of erythrocyte and leucocyte in Wistar rats. The more frequent they get exposed to cannabis smoke the lesser their erythrocyte and leucocyte become.*

**Keywords** : rats, cannabis, erythrocyte, leucocyte, *Rattus norvegicus*, *Cannabis sativa*

## PENDAHULUAN

Ganja adalah tanaman *Cannabis sativa* yang diolah dengan cara mengeringkan dan mengompres bagian tangkai, daun, biji dan bunganya yang mengandung banyak resin (Iversen, 2000). Tanaman ganja mengandung lebih dari 400 bahan kimia, termasuk 60 bahan kimia aktif yang disebut dengan *cannabinoid*. *Delta-9-tetrahydrocannabinol* (THC) merupakan salah satu *cannabinoid* yang paling penting dan memiliki sifat psikoaktif. Tanaman *Cannabis sativa* pada umumnya mengandung 150 mg THC. Efek THC dalam tubuh bergantung pada dosis yang diterima seseorang (Ashton, 2001). Ganja mempengaruhi sistem tubuh manusia melalui ikatan THC dengan reseptor *cannabinoid* (Cho dkk., 2005). Menurut Earleywine (2002) ganja yang disalahgunakan dan dikonsumsi lebih dari dosisnya akan menimbulkan masalah kesehatan dan mempengaruhi struktur dan fungsi otak, sistem kardiovaskular, sistem pernafasan, serta sistem reproduksi.

Ganja dapat dikonsumsi dengan berbagai cara seperti dihirup atau dihisap baik dengan dilinting kemudian dihisap seperti rokok, melalui pipa biasa, ataupun melalui pipa air yang biasa disebut dengan bong dan dengan cara dimakan ataupun diminum (Greydanus, 2013). Namun, cara menghisap atau menghirup ganja merupakan cara yang paling populer dan paling sering digunakan karena lebih praktis serta dapat menimbulkan efek lebih cepat (Oseni dkk., 2006). Di dalam ganja terdapat 400 substansi aktif atau semi aktif, diantaranya adalah lebih dari 60 substansi bahan kimia aktif yang disebut dengan *cannabinoid*. *Delta-9-tetrahydrocannabinol* (THC) merupakan salah satu *cannabinoid* yang paling penting dan memiliki sifat psikoaktif. Tanaman *Cannabis sativa* pada umumnya mengandung 150 mg THC (Clark dkk., 2013). Kandungan THC juga bervariasi sesuai dengan cara pengolahannya, di dalam ganja terdapat sekitar 4–8 % THC dari total *cannabinoid* (Mitra dkk., 2015). Efek THC dalam tubuh bergantung pada dosis yang diterima seseorang, dosis penggunaan THC yaitu 5–25 mg (Clough dkk., 2006). Ganja yang disalahgunakan dan dikonsumsi lebih dari dosisnya akan menimbulkan masalah kesehatan dan mempengaruhi struktur dan fungsi otak, sistem kardiovaskular, sistem pernafasan, serta sistem reproduksi (Oseni dkk., 2006). Ganja mempengaruhi sistem tubuh manusia melalui ikatan THC dengan reseptor *cannabinoid* (CB). Reseptor *cannabinoid* memiliki konsentrasi yang tinggi pada otak sehingga efek akut dari mengonsumsi ganja adalah terjadinya perubahan emosional seseorang seperti halusinasi, euforia dan relaksasi (Mukhtar dan Elbagir., 2011). Hasil penelitian Oseni, dkk (2006) bahwa merokok ganja berpengaruh signifikan terhadap kimia darah dan fungsi saraf. Lebih lanjut hasil penelitian Mukhtar dan Elbagir (2011) membuktikan pemberian ekstrak ganja dengan dosis 0,4 mg/gr berat badan selama 10 hari dapat menurunkan jumlah eritrosit, leukosit dan difensial leukosit darah tikus putih.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan suatu penelitian tentang pengaruh paparan asap ganja dalam berbagai frekuensi terhadap profil darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar .

## MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala untuk proses adaptasi hewan hingga akhir perlakuan dan Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala untuk dilakukan pemeriksaan patologi anatomi tikus putih dari seluruh kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Waktu penelitian berlangsung selama 2 bulan, terhitung sejak bulan September sampai dengan Februari sampai bulan April tahun 2017.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian meliputi kandang pengasapan (Chamber), smoking pump yang terbuat dari hasil modifikasi air pump aquarium, timbangan digital, jangka, beker glass, NaCl fisiologis, cawan petri, pinset, haemocytometer, lampu bunsen

Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari daun ganja (*Cannabis sativa L.*) yang diperoleh dari POLDA ACEH, tikus putih strain Wistar yang diperoleh dari Lab. Farmasi USU-Medan, pakan tikus, Anestesi inhalasi jenis kloroform dengan konsentrasi 10%, Larutan Turk, Larutan Hayem, Minyak Emersi, Alkohol, Giemsa dan aquabides steril.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola searah, dengan 4 kelompok perlakuan dan 6 kali ulangan. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol (P0) yang hanya diberi pakan standar dan tidak diberikan perlakuan berupa pemberian asap ganja. Kelompok kedua adalah perlakuan pertama (P1) diberi perlakuan berupa paparan asap ganja dengan frekuensi pemaparan satu kali sehari, kelompok ketiga adalah perlakuan kedua (P2) diberi perlakuan berupa asap ganja dengan frekuensi pemaparan dua kali sehari, dan kelompok keempat adalah perlakuan ketiga (P3) diberi perlakuan berupa paparan asap ganja dengan frekuensi pemaparan tiga kali sehari.

**Tabel 1. Rancangan penelitian paparan asap ganja**

Ulangan	Perlakuan Paparan Asap Ganja			
	P0	P1	P2	P3
1	P0 <sub>1</sub>	P1 <sub>1</sub>	P2 <sub>1</sub>	P3 <sub>1</sub>
2	P0 <sub>2</sub>	P1 <sub>2</sub>	P2 <sub>2</sub>	P3 <sub>2</sub>
3	P0 <sub>3</sub>	P1 <sub>3</sub>	P2 <sub>3</sub>	P3 <sub>3</sub>
4	P0 <sub>4</sub>	P1 <sub>4</sub>	P2 <sub>4</sub>	P3 <sub>4</sub>
5	P0 <sub>5</sub>	P1 <sub>5</sub>	P2 <sub>5</sub>	P3 <sub>5</sub>
6	P0 <sub>6</sub>	P1 <sub>6</sub>	P2 <sub>6</sub>	P3 <sub>6</sub>

Keterangan:

P<sub>0</sub> : Kelompok tikus yang tidak dipaparkan dengan asap ganja.

P<sub>1</sub> : Kelompok tikus yang diberi paparan asap ganja dengan frekuensi satu kali sehari.

P<sub>2</sub> : Kelompok tikus yang diberi paparan asap ganja dengan frekuensi dua kali sehari.

P<sub>3</sub> : Kelompok tikus yang diberi paparan asap ganja dengan frekuensi tiga kali sehari.

Parameter penelitian ini adalah jumlah Leukosit dan Eritrosit yang diperiksa setelah 30 hari perlakuan. Sebanyak dua puluh delapan ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar uji ditempatkan pada kandang yang sebelumnya sudah dikeringkan dan diberikan alas sekam padi. Makanan berupa pelet serta minum. Hewan uji diberikan pakan pelet sebanyak 10g/200g BB sebanyak 2 kali yaitu jam 11:00 WIB dan 16:00 WIB. Kandang dibersihkan dan alas sekam padi diganti sedikitnya 3 hari sekali. Hewan uji diadaptasi selama 7 hari sebelum perlakuan dengan tujuan untuk membiasakan hewan uji pada kondisi percobaan dan mengontrol kesehatannya. Selama proses adaptasi, berat badan dan aktivitas hewan uji terus diperhatikan. Hewan uji bergerak aktif dan berat badannya tidak ada yang kurang dari 180 gram selama dan setelah proses adaptasi sehingga tidak ada sampel yang dikeluarkan. Setelah dilakukan proses adaptasi, hewan percobaan dilakukan randomisasi menjadi empat kelompok dengan tujuh ekor tikus tiap kelompoknya. Hewan percobaan diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya selama 30 hari kemudian dikorbankan dan dilakukan penilaian hasil.

Ganja diperoleh dari Polda Aceh sebanyak 180 gram sesuai kebutuhan yang diperlukan untuk pembuatan 180 lintingan ganja. Untuk satu lintingan ganja diperlukan 1 gram daun ganja. Saat penelitian akan dilakukan, peneliti yang dikawal oleh pihak kepolisian membawa ganja ke tempat penelitian di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. Pemaparan asap ganja dilakukan di dalam chamber dan dibagi dalam berbagai kelompok perlakuan yaitu Kelompok kontrol ( $K_0$ ) yaitu tikus yang tidak diberikan perlakuan apapun; Kelompok perlakuan paparan asap ganja dengan frekuensi pemaparan 1 kali sehari ( $K_1$ ); paparan asap ganja dengan frekuensi 2 kali sehari ( $K_2$ ) dan paparan asap ganja dengan frekuensi pemaparan 3 kali sehari ( $K_3$ ). Penelitian ini dilakukan selama 30 hari dengan pemberian paparan asap ganja.

Pemaparan asap ganja tersebut dilakukan pada kandang pengasapan dibagian yang terdapat lubang. Pengasapan dilakukan dengan menggunakan *smoking pump* yang dihubungkan dengan selang yang menyatu pada pangkal lintingan ganja yang menyala. Bagian penghisap udara *smoking pump* dihubungkan dengan menggunakan selang dengan panjang 60 cm dan diameter yang sesuai dengan diameter lintingan ganja untuk dapat dimasukkan pangkal lintingan ganja tersebut pada bagian selang yang terhubung. Lintingan ganja dibakar pada bagian ujungnya dan kemudian *smoking pump* dihidupkan. Tikus-tikus percobaan dimasukan ke dalam chamber sebelum pengasapan dilakukan. Setiap selesai pemberian paparan asap ganja tikus dikembalikan ke kandangnya masing-masing. Pengambilan darah dilakukan setelah perlakuan paparan asap ganja selama 30 hari melalui sinus orbitalis dengan menggunakan pipet kapiler. Darah tersebut ditampung ke dalam vacutainer yang berisi EDTA (*Ethylen Diamien Tetraacetic Acid*) sebagai antikoagulan mencegah pembekuan darah. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan terhadap jumlah eritrosit, leukosit dan diferensial leukosit.

Kamar hitung disiapkan, kaca penutup diletakkan di atas kamar hitung sehingga menutupi daerah penghitung. Darah yang telah diberi antikoagulan diisap dengan pipet eritrosit sampai tanda 0,5. Bagian pipet dihapus dengan kertas tissue. Segera larutan pengencer Hayem diisap sampai tanda 101. Selama pengisapan, pipet harus diputar-putar melalui sumbu panjangnya supaya darah dengan larutan hayem tercampur dengan baik. Kedua ujung pipet ditutup dengan ibu jari tengah lalu dikocok dengan gerakan tegak lurus pada sumbu panjangnya selama dua menit. Larutan pengencer yang terdapat di bagian dalam kapiler dan yang tidak mengandung darah dibuang dengan meneteskan sebanyak tiga tetes. Larutan darah dimasukkan ke dalam kamar hitung dengan menempatkan ujung pipet pada tepi gelas penutup. Perhitungan jumlah eritrosit dilakukan menggunakan dengan menggunakan mikroskop pembesaran 10x40, sel-sel dalam lima kotak dikalikan didapat menggunakan rumus :

$$\sum x = (\sum E_{1-5}) \times 5 \times 200 \times 10 \times 10^6 / \text{mm}^3$$

Keterangan :

$\sum x$  = Jumlah eritrosit ( $10^6 / \text{mm}^3$ )

E1 – E5 = jumlah eritrosit pada tiap tiap kamar yang dihitung

Faktor 5 = bidang yang dihitung

Faktor 200 = pengenceran 200 x

Faktor 10 = dalamnya kamar hitung

Perhitungan sel darah putih dilakukan dengan cara sampel darah yang telah diambil dengan pipet leukosit berupa kapiler dengan batu kecil di dalamnya bewarna putih sampai garis 0,5 ml. Selanjutnya ditambahkan dengan larutan Turk hingga larutan mencapai garis angka 11. Setelah itu larutan yang ada di dalam pipet kapiler dihomogenkan dengan cara mengocok dengan membentuk gerakan angka 8 selama kurang lebih 3 menit. Buang cairan pada ujung pipet untuk membuang gelembung udara, kemudian tempelkan ujung pipet pada sisi antara kaca penutup ( cover glass ) dengan kamar hitung neuber, kemudian didiamkan agar leukosit

mengendap di dalam kamar hitung. Hitung jumlah leukosit di bawah mikroskop, bidang yang akan dihitung W1, W2, W3, W4 kemudian hitung jumlah leukosit dengan cara jumlah leukosit (N) x faktor pengencer dibagi dengan bidang yang akan dihitung

### Analisis Data

Data jumlah eritrosit, leukosit dan difrensial leukosit yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis varian (ANAVA) pada tingkat kepercayaan 95%. Bila ada perbedaan dilanjutkan dengan uji Duncan (Steel and Torrie, 1991). Analisis statistik dilakukan dengan bantuan program SPSS for Windows 17

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Keadaan Umum Penelitian

Tikus putih yang digunakan pada penelitian ini berupakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar didapatkan dari Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala yang kemudian ditempatkan di kandang yang dilengkapi dengan tempat makanan, minuman, dan beralaskan sekam padi.

Kandang hewan coba berjumlah 8 buah yang terdiri atas 2 kandang untuk kelompok kontrol atau tanpa diberi perlakuan (K0), dua kandang untuk hewancoba yang diberi paparan asap ganja 1 kali sehari (K1), 2 kandang untuk hewan coba yang diberi paparan asap ganja 2 kali sehari (K2), 2 kandang untuk hewan coba yang diberi paparan asap ganja 3 kali sehari (K3), setiap kandang berisi 3-4 ekor hewan coba yang sudah diadaptasi selama tujuh hari. Hewan coba diberikan makanan rutin berupa ransum standar T79-4, minuman, dan dijaga kebersihan kandangnya untuk menghindari terjangkitnya penyakit.

Selama penelitian berlangsung terdapat satu ekor hewan coba yang mati yaitu pada kelompok perlakuan K2, namun masih ada cadangan hewan coba pada kelompok perlakuan tersebut. Perlakuan paparan asap ganja dilakukan selama 30 hari mulai tanggal 16 September 2016 sampai 14 Oktober 2016. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh beberapa data di antaranya adalah data mengenai rata-rata jumlah eritrosit dan jumlah leukosit pada masing-masing kelompok perlakuan paparan asap ganja.

### Jumlah Eritrosit

Hasil pemeriksaan rata-rata jumlah eritrosit tikus putih strain Wistar mengalami penurunan setelah paparan asap ganja. Penurunan rata-rata jumlah eritrosit yang diperoleh seiring dengan frekuensi paparan asap ganja yang diberikan. Rata-rata jumlah eritrosit darah tikus putih strain Wistar setelah perlakuan paparan asap ganja disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Rata-rata ( $\pm$ SD) jumlah eritrosit ( $10^6/\text{mm}^3$ ) pada tikus putih setelah perlakuan paparan asap ganja berbagai frekuensi

Perlakuan	Jumlah Eritrosit ( $10^6/\text{mm}^3$ )
K0	5,34 $\pm$ 0,29 <sup>a</sup>
KP <sub>1</sub>	5,30 $\pm$ 0,89 <sup>a</sup>
KP <sub>2</sub>	4,83 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>
KP <sub>3</sub>	4,45 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>

**Ket:** Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Hasil analisis statistik menunjukkan ada pengaruh yang nyata ( $P < 0,05$ ) frekuensi paparan asap ganja terhadap jumlah eritrosit tikus putih strain Wistar. Rata-rata jumlah eritrosit pada kelompok kontrol berbeda secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok KP<sub>3</sub> dan KP<sub>2</sub>, namun tidak berbeda secara nyata ( $P > 0,05$ ) dibandingkan dengan KP<sub>1</sub>. Jumlah eritrosit pada kelompok KP<sub>1</sub> berbeda secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok KP<sub>2</sub> dan KP<sub>3</sub>. Sedangkan jumlah eritrosit pada kelompok KP<sub>2</sub>, tidak berbeda secara nyata ( $P > 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok KP<sub>3</sub> (Lampiran 2). Hasil ini membuktikan bahwa frekuensi

paparan asap ganja berpengaruh terhadap penurunan jumlah eritrosit tikus putih strain Wistar. Makin tinggi frekuensi paparan asap ganja yang diberikan makin menurun jumlah eritrosit darah tikus putih yang diperoleh. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Osemi dkk. (2006) yang menemukan adanya penurunan yang signifikan jumlah eritrosit darah manusia yang merokok ganja dibandingkan dengan yang tidak merokok ganja. Hasil yang hampir sama juga dilaporkan oleh Mukhtar dan Elbagir (2011) pemberian ekstrak ganja dosis 0,2 – 0,6 mg/kgbb secara intra muskular selama 10 hari dapat meningkatkan jumlah eritrosit tikus putih.

Menurunnya jumlah eritrosit darah tikus putih setelah paparan asap ganja pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh efek kandungan bahan aktif dalam asap ganja seperti *Delta-9-tetrahydrocannabinol*, yang mampu memicu produksi senyawa oksigen reaktif dalam tubuh. Sebagaimana dilaporkan Marsicano dkk. (2002) bahwa *tetrahydrocannabinol* (THC) yang terkandung dalam asap rokok ganja dapat meningkatkan produksi senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil ( $\bullet\text{OH}$ ) dan nitrit oksida (NO) dalam darah. Hasil penelitian Mitra dkk. (2015) menemukan peningkatan konsentrasi produksi ROS dalam plasma seminalis sperma perokok ganja adalah 161,5 RLU/secon/ $10^6$  sperma lebih tinggi secara nyata dibandingkan konsentrasi produksi ROS yang ditemukan pada perokok tembakau sebesar 144,5 RLU/secon/ $10^6$  sperma) dan pria tidak perokok ganja yaitu 123,25 RLU/secon/ $10^6$  sperma. Asap ganja yang terinhalasi ke dalam sistem pernafasan, selanjutnya akan masuk ke sistem sirkulasi darah sehingga menimbulkan peningkatannya dalam darah yang menyebabkan stres oksidatif pada eritrosit. Sebagaimana diketahui bahwa membran plasma eritrosit yang banyak mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (*polyunsaturated fatty acids* = PUFA) yang secara alami mudah sekali teroksidasi dengan  $\bullet\text{OH}$  dan NO (Halliwell dan Gutteridge, 1999). Peningkatan senyawa oksigen reaktif seperti  $\bullet\text{OH}$  dan NO dalam darah setelah paparan asap rokok ganja, bila tidak mampu dinetralisir oleh enzim antioksidan tubuh (endogen) seperti *superoksida dismutase* (SOD), *Catalase* (CAT) dan *Glutation peroksidase* (GPx) dapat menyerang makro molekul sel dan dapat menyebabkan kerusakan membran sel, inti sel dan DNA mitokondria sel, yang selanjutnya terjadi apoptosis sel tubuh diantaranya sel-sel eritrosit, sumsum tulang, hati dan limpa (Randal, 2007). Rusaknya sel-sel sumsum tulang, hati dan limpa akan menyebabkan terganggunya proses eritropoesis (Sardina dkk., 2012).

Selain itu penurunan jumlah sel eritrosit darah setelah paparan asap ganja disebabkan adanya kerusakan biologi dan kematian sel darah. Sebagaimana dilaporkan oleh Obonga dkk. (2005) paparan asap ganja mengurangi jumlah sel darah immatur yang terbentuk dan mengurangi sel darah matur melalui kerusakan DNA yang timbul akibat senyawa oksigen reaktif yang terbentuk. Hasil peneliti juga menunjukkan jumlah eritrosit darah pada kelompok KP<sub>3</sub> lebih tinggi dibandingkan kelompok KP<sub>1</sub> dan KP<sub>2</sub>. Kondisi ini kemungkinan disebabkan oleh semakin banyaknya akumulasi senyawa oksigen reaktif yang terbentuk dalam sistim sirkulasi darah. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Mukhtar dan Elbagir (2011) menemukan jumlah eritrosit tikus setelah pemberian 0,2 mg/gbb ekstrak ganja adalah  $3.37 \pm 0.37$  juta/ml, lebih rendah dibandingkan dengan pemberian 0,4 mg/gbb ekstrak ganja ( $3.79 \pm 0.17$  juta/ml). Menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988) jumlah eritrosit pada tikus putih normal berkisar antara  $7,2-9,6 \times 10^6/\mu\text{l}$ . Jumlah eritrosit yang lebih rendah pada kelompok kontrol negatif ini diperkirakan disebabkan oleh radikal bebas dari paparan asap rokok. Radikal bebas merupakan suatu atom, molekul, senyawa yang dapat berdiri sendiri mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan di orbital terluarnya. Radikal bebas yang terbentuk dari asap rokok salah satunya adalah radikal hidroksil ( $\bullet\text{OH}$ ) yang mempunyai sifat sangat reaktif. Asap rokok yang terinhalasi ke dalam sistem pernafasan, maka akan masuk ke sistem sirkulasi darah sehingga menimbulkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan menyebabkan stres oksidatif pada eritrosit. Di dalam tubuh pembentukan radikal bebas terjadi pada membran plasma eritrosit yang banyak mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (*polyunsaturated fatty*

*acids* = PUFA) yang secara alami mudah sekali teroksidasi menghasilkan berbagai senyawa radikal bebas terutama radikal hidroksil. Radikal hidroksil ini dapat menimbulkan reaksi berantai yang dikenal dengan peroksidasi lemak (Suryohudoyo, 2000). Akibat dari reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa yang bersifat toksik terhadap sel dan jaringan seperti aldehid sehingga mengakibatkan rusaknya membran sel dan muncul penyakit-penyakit degeneratif (Halliwell dan Gutteridge, 1999). Proses oksidasi tersebut menyebabkan kadar asam lemak esensial pada membran plasma menjadi berkurang dan permeabilitas membran terganggu sehingga radikal bebas menjadi makin mudah menerobos masuk ke dalam sel dan mengakibatkan berbagai kerusakan, seperti merusak DNA yang dapat memicu timbulnya kanker (Suryohudoyo, 2000). Radikal bebas tersebut dapat merusak komponen lipid pada membran sel yang berupa fosfolipid, kolesterol dan protein. Fosfolipid dan kolesterol ini mengandung asam lemak tak jenuh ganda (linoleat, linolenat dan arakhidonat) yang sangat peka terhadap serangan radikal bebas. Kerusakan sel oleh radikal bebas didahului oleh kerusakan membran sel dengan proses sebagai berikut: 1) Terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen membran, sehingga terjadi perubahan struktur dari fungsi reseptor; 2) Oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transpor lintas membran terganggu; 3) Reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA = *poly unsaturated acid*). Hasil peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berpengaruh langsung terhadap kerusakan membran sel antara lain struktur dan fungsi dalam keadaan yang lebih ekstrim yang akhirnya akan menyebabkan kematian sel (Muhammad, 2009).

### Jumlah Leukosit

Hasil pemeriksaan jumlah leukosit darah tikus putih strain Wistar menurun setelah perlakuan paparan asap ganja berbagai frekuensi dibandingkan dengan kontrol. Penurunan jumlah leukosit menurun seiring dengan frekuensi paparan asap ganja yang diberikan. Rata-rata jumlah leukosit darah tikus putih strain Wistar setelah perlakuan paparan asap ganja berbagai frekuensi disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Rata-rata ( $\pm$ SD) jumlah leukosit ( $10^3/\text{mm}^3$ ) pada tikus putih strain Wistar setelah perlakuan paparan asap ganja berbagai frekuensi

Perlakuan	Jumlah Leukosit ( $10^3/\text{mm}^3$ )
K0	43,77 $\pm$ 29,18 <sup>a</sup>
KP <sub>1</sub>	41,15 $\pm$ 23,98 <sup>a</sup>
KP <sub>2</sub>	11,08 $\pm$ 1,44 <sup>b</sup>
KP <sub>3</sub>	7,26 $\pm$ 2,93 <sup>b</sup>

**Ket:** Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Hasil analisis statistik terhadap jumlah leukosit darah menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) diantara kelompok control dengan kelompok perlakuan paparan asap rokok ganja. Rata-rata jumlah leukosit darah pada kelompok K<sub>0</sub> lebih tinggi secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan KP<sub>2</sub> dan KP<sub>3</sub>, namun tidak berbeda dengan kelompok KP<sub>1</sub>. Rata-rata jumlah leukosit pada kelompok KP<sub>1</sub> berbeda secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan K<sub>2</sub> dan K<sub>3</sub>. Sedangkan rata-rata jumlah leukosit pada kelompok KP<sub>2</sub> tidak berbeda secara nyata ( $P > 0,05$ ) dibandingkan dengan KP<sub>3</sub> (Lampiran 3). Hasil ini membuktikan bahwa frekuensi paparan asap ganja berpengaruh terhadap penurunan jumlah leukosit tikus putih strain Wistar. Makin banyak frekuensi paparan asap ganja yang diberikan makin menurun jumlah leukosit darah tikus putih strain Wistar yang diperoleh. Hasil yang hampir sama juga dilaporkan oleh Mukhtar dan Elbagir (2011) yang menemukan penurunan jumlah leukosit tikus putih secara signifikan setelah pemberian ekstrak ganja dosis 0.4 - 0.6 mg/kgbb secara intra muskular selama 10 hari. Jumlah leukosit tikus putih kontrol atau yang tidak diberi ekstrak ganja adalah  $7.02 \pm 4.32 \times 10^9/\text{L}$  turun menjadi  $6.20 \pm 1.92 \times 10^9/\text{L}$  setelah pemberian ekstrak ganjan dosis 0,4

mg/kgbb dan  $5.16 \pm 2.64 \times 10^9/L$  setelah pemberian ekstrak ganja dosis 0,6 mg/kgbb. Namun berbeda dengan yang dilaporkan oleh Osemi dkk. (2006) yang menemukan adanya peningkatan jumlah leukosit perokok ganja dibandingkan dengan yang tidak merokok ganja.

Terjadinya penurunan jumlah leukosit darah tikus putih strain Wistar setelah paparan asap ganja pada penelitian ini kemungkinan terjadi sebagai akibat kandungan bahan aktif dalam asap ganja seperti THC. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Bouaboula dkk. (1993) yang menemukan seseorang yang mendapatkan paparan asap rokok ganja dalam jangka waktu yang lama secara terus menerus memiliki jumlah leukosit 20 – 25% lebih tinggi dibandingkan orang yang tidak merokok. Paparan asap rokok ganja mempengaruhi respon imun adaptif dan humoral, kandungan dalam asap rokok salah satunya THC ketika masuk ke dalam tubuh akan menyebabkan kenaikan hormone *epinephrine* dan kortisol yang akan meningkatkan total leukosit (Muntari dkk, 2012). Pembentukan leukosit ini terjadi pada sumsum tulang dimana asap rokok juga menstimulasi sistem hematopoetik (Eledo dkk., 2015).

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat ditarik kesimpulan bahwa frekuensi paparan asap ganja selama lima belas menit selama 30 hari dapat menurunkan jumlah eritrosit dan leukosit tikus putih strain Wistar. Paparan asap ganja 3 kali sehari selama 15 menit menghasilkan jumlah eritrosit dan leukosit yang lebih rendah dari pada paparan 1 kali dan 2 kali sehari.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ashton, C. H. 2001. Pharmacology and effects of cannabis: a brief review. *Br. J. Psychiatry.* 178: 6-101.
- Bouaboula M, Rinaldi, Carayon, Carillon, Delpech, Schire, Lefur G. and Casellas P. 1993. Cannabinoid receptor expression in human leukocytes. *Eur. J. Biochem.* 214: 173-180.
- Clark PA. 2006. The Ethics of Medical Marijuana: Government Restrictions vs. Medical Necessity. *J. Pub. Health. Pol.* 21(1): 40-60.
- Clough AR, Lee KS, Cairney S, Maruff P, O'Reilly B. 2006. Changes in cannabis use and its consequences over 3 years in a remote indigenous population in northern Australia. *Addiction.* 101: 696-705.
- Cho CM, Hirsch R, Johnstone S. 2005. General and Oral health implications of cannabis use. *Aus. Dent. J.* 50(2): 70-4.
- Earleywine, Mitch. 2002. Understanding marijuana. London: Oxford University Press. 122-65.
- Eledo, Dioka, Amilo, Ifeanyichukwu, Onuoha. 2015. Evaluation of Some Haematological Parameters Among Marijuana Smokers In Yenagoa, *Nigerian. J. Biol. Agric. Health.* 5(12): 2224-3208
- Greydanus D E. 2013. Marijuana Current Concepts. *Front. Public. Health.* 1(42): 1-4.
- Halliwell B, J.M.C.Gutteridge. 1999. Free radicals in Biology and Medicine. Third edition, Oxford : Oxford University Press, pp: 1 – 35, 246 – 350; 664 – 667
- Iversen, L. 2000. The science of marijuana. New York: Oxford University Press. 4(18), 207-31.
- Marsicano, Moosmann, Hermann H, Lutz B, Behl C. 2002. Neuroprotective properties of cannabinoids against oxidative stress: role of the cannabinoid receptor CB1. *J. Neurochem.* 80: 448–456.
- Mitra s, Saha S. Bhattacharyya, Verghese, Choudhury, P. Nandi, Roychoudhuryand, Murmu. 2015. Cannabis Smoke Causes Up-Regulation of Akt and Bax Protein in Subfertile Patient's Sperm Cells. *J. Addict. Res. Ther.* 6:4

- Mukhtar H, Elbagir 2011. Effect of Cannabis sativa on Hematological Indices in Rats and Men. *Pakistan. J. Nut.* 10(4): 313-316, 2011
- Muhammad Ismiyati. 2009. Efek Antioksidan Vitamin C terhadap Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Akibat Pemaparan Asap Rokok. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Muntari Bala, Nurul Azira Ismail, Maizirwan Mel, Mohamed Saedi Jami, Hamzah Mohd. Saleh, Azura Amid. 2012. Bromelain Production: Current Trends and Perspective. *Arch. Des. Sci.* 1661-464.
- Obonga, Osadebe, Esimone, Ihedioha. 2005. Haematotoxic evaluation of crude cannabis resin in rats. *J. Pharma. Allied Sci.* 3: 278-282.
- Oseni, Togun, Taiwo. 2006. Effect of Marijuana Smoking on Some Hematological Parameters of Smokers. *World J Med Sci.* 1 (2): 82-85
- Randal M D. 2007 . Endocannabinoids and the haematological system. *Br. J. Pharmacol.* 152(5): 671–675.
- Sardina, José L, Ruano, Sánchez, Lanillo, Hernández. 2012. Reactive oxygen species: Are they important for haematopoiesis. *Crit. Rev Oncol. Hematol.* 81. 257–274
- Smith, Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis Tikus Laboratorium (Rattus norvegicus)*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia
- Suryohudoyo, P. 2000. *Oksidan, Antioksidan Dan Radikal Bebas*. Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya