

Pengaruh Pemberian Jus Apel Hijau (*Malus Domestica*) Terhadap Histopatologi Organ Pulmo Tikus Putih yang Diinduksi Asap Rokok

The Effect of Giving Green Apple (Malus Domestica) Juice on the Histopathology of White Rat Pulmonary Organs Induced by Cigarette Smoke

Chandra Pranata¹, Asti Pratiwi²

^{1,2}Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam, chandrapranata@medistra.ac.id, Jl. Sudirman No. 38 Lubuk Pakam, Deli Serdang, 20512, Indonesia.

Abstrak

Latar Belakang: Asap rokok mengandung oksidan atau radikal bebas dan sekitar 4700 bahan kimia berbahaya. Tingginya radikal bebas di dalam tubuh memicu munculnya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang mengakibatkan stress oksidatif, hal ini dapat terjadi apabila terdapat ketidak seimbangan antara jumlah oksidan dan antioksidan. Dalam proses ini terjadi kebocoran O₂ yang akan berubah menjadi radikal superoksida (*O₂) yang dapat membentuk sitokin proinflamasi seperti IL-6. **Tujuan:** untuk mengidentifikasi pengaruh paparan asap rokok terhadap gambaran histopatologi paru-paru tikus. **Metode:** Penelitian ini menggunakan *Post Test Only Control Group Design*. Sampel diambil dari 20 ekor tikus jantan yang masuk kriteria inklusi dibagi menjadi 4 kelompok secara acak yaitu K1, K2, K3, dan K4. K3 diberikan pakan standar ditambah pemberian jus apel hijau dosis 13,5 gram /hari. Sedangkan kelompok K4 diberikan pakan standar ditambah jus apel hijau dosis 27 gram/hari. Namun keduanya diberi paparan asap rokok selama 14 hari. Pada hari ke-15, tikus wistar jantan diambil darahnya untuk melakukan pemeriksaan histopatologi paru-paru tikus dengan menggunakan pewarnaan Hematoxillin-Eosin. **Hasil:** hasil menunjukkan terdapat kerusakan pada kelompok negatif jika dibandingkan dengan kelompok normal dan perbaikan jaringan paru-paru tertinggi terdapat pada dosis 27 gram/hari jika dibandingkan dengan kelompok negatif dan normal. **Kesimpulan:** adanya pengaruh pemberian jus apel hijau terhadap kadar IL-6 dan SOD pada tikus yang dipapar asap rokok.

kata kunci: Jus Apel Hijau; histopatologi; Paru-Paru Tikus; Asap Rokok

Abstrac

Background: Cigarette smoke contains oxidants or free radicals and around 4700 dangerous chemicals. The high level of free radicals in the body triggers the emergence of *Reactive Oxygen Species* (ROS) which results in oxidative stress, this can occur if there is an imbalance between the amount of oxidants and antioxidants. In this process, there is a leak of O₂ which will turn into superoxide radicals (*O₂) which can form pro-inflammatory cytokines such as IL-6. **Objective:** to identify the effect of exposure to cigarette smoke on the histopathological appearance of rat lungs. **Method:** This research uses *Post Test Only Control Group Design*. Samples were taken from 20 male rats that met the inclusion criteria and were randomly divided into 4 groups, namely K1, K2, K3, and K4. K3 was given standard feed plus green apple juice at a dose of 13.5 grams/day. Meanwhile, the K4 group was given standard feed plus green apple juice at a dose of 27 grams/day. However, both were given exposure to cigarette smoke for 14 days. On the 15th day, blood was taken from male Wistar rats to carry out a histopathological examination of the rats' lungs using Hematoxillin-Eosin staining. **Results:** The results showed that there was damage in the negative group when compared with the normal group and the highest improvement in lung tissue was found at a dose of 27 grams/day when compared with the negative and normal groups. **Conclusion:** There is an effect of giving green apple juice on IL-6 and SOD levels in mice exposed to cigarette smoke.

Keywords: Green Apple Juice; histopathology; Rat Lungs; Cigarette Smoke

1. PENDAHULUAN

Merokok adalah faktor risiko terbesar kedua yang berkontribusi terhadap kematian dan penyakit pada usia muda (1)(2). Angka kematian setiap tahunnya di seluruh dunia akibat rokok mencapai 8 juta jiwa atau 1 orang

* Corresponding Author: Chandra Pranata, Fakultas Farmasi, Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam, Indonesia

E-mail : chandrapranata@medistra.ac.id

Doi : 10.35451/jfm.v7i2.2437

Received : December 28, 2024. Accepted: February 28, 2025. Published: April 30, 2025

Copyright (c) 2025 Chandra Pranata. Creative Commons License This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

per 6 detik (3). Berdasarkan data observasi ditemukan 800 juta perokok dari 1,25 miliar jumlah di seluruh dunia berada di negara berkembang (4). Jumlah senyawa kimia yang mempunyai sifat mutagen dan toksik dalam asap rokok mencapai 3.500 senyawa. Selain itu, ditemukan setiap mililiter aerosol terdapat 10^{10} partikel (5). Adapun partikel radikal bebas yang ditemukan setiap satu hisapan rokok mencapai 10^{15} partikel dan bisa bertahan hingga lebih dari 10 menit. Ukuran partikel dalam asap rokok sebesar 0,1-1,0 μm yang menjadikannya mudah mengalami tetrasisi sebagian alveoli. Adanya radikal bebas yang dihasilkan asap rokok turut berkontribusi atas terjadinya inflamasi yang bisa menimbulkan iritasi ketika berakumulasi dengan partikel iritatif lain dengan melibatkan efek lanjutan dari sel yang rusak (7). Penyebab adanya sel atau jaringan yang rusak yaitu stress oksidatif. Dampak yang ditimbulkan dari radikal bebas yaitu mempercepat proses oksidasi materi biologis yang meliputi sel epitel saluran pernapasan dan alveolus yang kaya akan kandungan poliunsaturated lipid (8). Kondisi ini menjadikan alveolus maupun sel epitel mengalami kerusakan (9). Kerusakan sel memicu timbulnya sel radang dari hasil mediator inflamasi (10). Penyebab lain radikal bebas diluar keterlibatannya dalam oksidasi lemak yaitu menimbulkan transkripsi gen inflamasi dan aktivitas faktor transduksi meningkat yang berujung pada penambahan sel radang. Indikator adanya peradangan akibat asap rokok yaitu meningkatnya kadar limfosit T, neutrofil, dan makrofag serta terlepasnya mediator inflamasi yang meliputi sitokin growth factor, kemokin, dan lipid (11). Dampak stimulator langsung dari aktivitas merokok yaitu produksi granulosit yang akhirnya berdampak terhadap peningkatan retensi neutrofil di paru. Jangka waktu hidup sel makrofag dalam diri seorang perokok cenderung lebih lama karena ekspresi p21CIP/WAF1 pada sitoplasma dan ekspresi protein anti apoptosis Bcl-XL meningkat. Pada suatu penelitian membuktikan adanya alveolus yang rusak akibat limfosit T pada parenkim paru jumlahnya meningkat (12). Secara umum, adanya inflamasi bisa menimbulkan eksudat inflamasi terutama sel radang meningkat, terhambatnya saluran napas yang disebabkan deposisi kolagen, dan adanya inflamasi. Peningkatan sel radang memiliki korelasi terhadap peningkatan stres oksidatif yang memicu produksi radikal bebas. Kondisi tersebut berujung pada gangguan kesehatan berupa paru obstruktif menahun (13). Upaya yang diimplementasikan untuk menangani stres oksidatif yang disebabkan asap rokok yaitu mengonsumsi makanan atau minuman yang kaya antioksidan untuk menyeimbangkan adanya peningkatan radikal bebas (14). Gaya hidup masyarakat sehat dengan mengonsumsi makanan alami dengan peluang efek samping yang rendah dan lebih aman bisa menekan kasus akibat rokok. Adapun jenis makanan yang kaya akan antioksidan salah satunya yaitu buah apel hijau. Senyawa kimia yang terdapat dalam buah apel meliputi, floretin, klorogenat, prosianidin B2, epikatekin, dan quersetin yang turut menghambat kolesterol jahat dan senyawa antioksidan yang termasuk zat fitokimia yang berperan dalam menangkalkan radikal bebas. Kandungan quercetin pada apel turut menambah kadar antioksidan dan pada cincin B terdapat struktur O-hidroksi yang turut menstabilkan bentuk radikal bebas serta menjadikan tubuh terhindar dari beragam penyakit terutama kanker. Antioksidan proliferasi bisa menghambat pertumbuhan sel kanker (15).

Meski telah banyak penelitian menjelaskan tentang efek antioksidan dari apel hijau, namun manfaatnya lebih lanjut dalam bentuk pengolahan jus tanpa perlu diekstraksi masih perlu diteliti, terutama efeknya terhadap jaringan histopatologi paru-paru tikus yang diinduksi asap rokok.

METODE

1.1 Bahan

Jus apel hijau, ketamin, formalin 10%, aquadest, Etanol 70%, NaCl 0,9%, dan rokok bungkus

1.2 Alat

Blender, oral sonde, spuit 1cc, timbangan, microtube, tabung EDTA dan cawan petri

1.3 Prosedur

Proses pengambilan hijau

Mecuci apel hingga bersih dan menghaluskannya menggunakan blender. Tingkat konsumsi buah apel yang disarankan setiap harinya yaitu 300 gram. Lalu bentuk konversi berat badan hewan uji terhadap berat badan manusia yaitu 70 kg (BB manusia) dan 200 gram (BB tikus) yaitu 0,018. Maka jumlah konsumsi apel yang diberikan setiap harinya untuk perlakuan pertama dan kedua masing-masing sejumlah 13,5 gram dan 27 gram.

Skrining Fitokimia

Tujuan dari skrining fitokimia yaitu melakukan identifikasi metabolit sekunder termasuk steroid/triterpen, tanin, flavonoid, dan alkaloid (16).

Persiapan Asap Rokok

Jumlah rokok yang digunakan dalam penelitian yaitu rokok kretek berjumlah 4 batang. Bentuk perlakuan yang diberikan yaitu tikus diberikan paparan asap rokok selama 14 hari dalam kandang dan dipastikan rokok tersebut berasap dan menyala.

Prosedur Histopatologi Organ Paru-Paru

Tahap histopatologi organ paru-paru yaitu (1) melakukan euthanasia pada tikus sesudah 14 hari memakai eter berbasis inhalasi; (2) membedah tikus pada bagian peritoneum ke arah atas untuk menghasilkan sayatan vertikal dibagian leher dan mengeluarkan organ parunya; (3) membuat sediaan histopatologi dengan melakukan dehidrasi jaringan paru memakai alkohol dengan konsentrasi tinggi; (4) mencuci organ paru memakai *xytol* dan tahap infiltrasi dilakukan pada temperatur 46-52°C memakai parafin keras, dimana parafin keras tersebut berfungsi untuk membloking temperatur; (5) memotong sediaan memakai mikrotom rotary berukuran 4 mm hingga 6 mm; (6) mewarnai sediaan, yang sudah mengalami deparafinasi memakai *xytol* dan melalui proses perendaman menggunakan alkohol konsentrasi tinggi, memakai HE (*Hematoxylin Eosin*); (7) mewarnai menggunakan HE diawali dengan memberikan *hematoxylin* dan merendamnya pada alkohol asam serta memberinya cairan ammonium; (8) menghidrasi lagi memakai alkohol dengan konsentrasi tinggi sesudah memberikannya 20 *counter staining* memakai *eosin*; (9) melakukan *mounting* pada sediaan memakai etelan; (10) mengamati sediaan menggunakan mikroskop perbesaran 10x; (11) ambil gambar sediaan tanpa perbesaran memakai kamera digital sehingga diperoleh gambar yang serupa dengan yang tampak pada mikroskop; (12) mengamati kerusakan (17).

Analisis data statistik

Metode yang diimplementasikan untuk menganalisis data berupa *Tuckey HSD test (post-hoc test)* dan *oneway anova*.

2. HASIL

2.1 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil fitokimia

No	Golongan Senyawa	Hasil Skrining Fitokimia
1	Flavonoid	(+)
2	Saponin	(+)
3	Tanin	(+)
4	Alkaloid	(+)

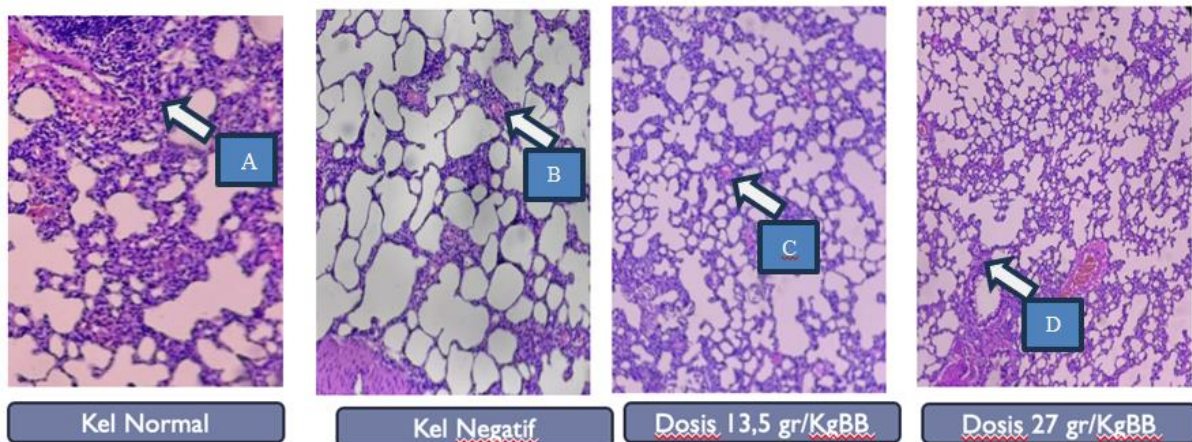
Keterangan: (+) Mengandung senyawa metabolit

(-) Tidak mengandung senyawa metabolit

Tabel tersebut menunjukkan bahwa simplisia buah apel hijau mengandung zat kimia yang berasosiasi baik dengan keluarga alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid. Komponen utama simplisia buah apel hijau yang dapat membantu mencegah penyakit adalah quercetin, salah satu kategori senyawa flavonoid. Tubuh dapat menyerap quercetin dengan bioavailabilitas tinggi (18). Karena sifat antioksidannya, flavonoid, senyawa golongan genolik, sering diekstrak dari tanaman dan digunakan dalam pengobatan tradisional. Radikal bebas dapat dikurangi oleh antioksidan. Karena elektron bebasnya tidak berpasangan, radikal bebas bersifat reaktif dan mudah bereaksi dengan molekul lain hingga menjadi stabil. Antioksidan menangkalkan keberadaan radikal bebas dalam tubuh. Penyakit degeneratif termasuk diabetes, kanker, stroke, dan penyakit kardiovaskular disebabkan oleh stres oksidatif sel, yang disebabkan oleh ketidakseimbangan kadar radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh (19).

2.2 Hasil Histopatologi Organ Paru Tikus

Hasil Histopatologo organ paru-paru tikus dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Gambaran histopatologi jaringan paru tikus dengan pewarnaan HE, perbesaran 10x. (A) Normal (B) kontrol negatif (C) dosis 13,5 gr/ KgBB (d) dosis 27 gr/KgBB. Nampak adanya perbedaan antar kelompok, dimana gambaran sel radang paling padat terlihat pada kelompok yang dipapar asap rokok s tanpa diberi jus tapel hijau (C). Kelompok yang mendapatkan jus apel setelah paparan asap rokok (C dan D) mengalami penurunan ketebalan dinding septa interalveolaris dan jumlah sel radang. *) Tanda panah menunjukkan sel radang.

PEMBAHASAN

Flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid merupakan beberapa metabolit sekunder yang ditemukan dalam apel hijau. Dikenal memiliki sifat antijamur, antibakteri, antiradang, dan antioksidan, komponen kimia yang ditemukan dalam daun ini juga berkontribusi terhadap perlindungan kesehatan paru-paru. Bahkan setelah berhenti merokok, peradangan lokal di paru-paru yang disebabkan oleh ROS dalam asap rokok tetap ada. *Smoking-independent oxidative stress* merupakan penyebab peningkatan jumlah sel inflamasi yang terus-menerus pada kelompok kontrol positif. Stres oksidatif menyebabkan peningkatan sel inflamasi di saluran pernapasan dan alveoli karena sel-sel ini juga menghasilkan oksidan. Efek yang luas pada kerusakan jaringan dapat terjadi akibat peningkatan yang berlebihan dalam proses inflamasi ini (20). Mengonsumsi zat alami yang mengandung antioksidan dapat membantu meningkatkan pertahanan antioksidan tubuh dan mencegah adanya radikal bebas. Tujuan pemberian jus apel hijau yang kaya antioksidan adalah untuk mengurangi stres oksidatif, yang pada gilirannya mengurangi peradangan. Berbeda dengan kelompok yang hanya terpapar asap rokok, penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian jus apel hijau selama dua minggu dengan dosis 13,5 gram/ KgBB /hari dan 27 gram/KgBB/ hari menghasilkan pengurangan substansial dalam jumlah sel inflamasi. Berdasarkan hasil penelitian epidemiologi, mengonsumsi produk apel hijau menurunkan kejadian penyakit yang berhubungan dengan stres oksidatif dengan meningkatkan kapasitas antioksidan. Selain sejumlah antioksidan lain termasuk vitamin E, flavonoid, dan asam fenolik, karotenoid, terutama likopen dan vitamin C, merupakan antioksidan utama yang ditemukan dalam apel hijau. Selain itu, terdapat pula unsur-unsur jejak seperti tembaga, mangan, seng, dan selenium (21). Karotenoid dan vitamin C dapat dikategorikan sebagai antioksidan sekunder karena keterlibatannya dalam menangkap radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai untuk menghindari kerusakan lebih lanjut.

4. KESIMPULAN

Jumlah sel inflamasi di alveoli tikus Wistar menurun setelah terpapar asap rokok, yang menunjukkan bahwa pemberian jus apel hijau dapat meringankan kondisi inflamasi di jaringan paru-paru. Kesimpulan ini didukung

oleh penelitian empiris dan teoritis. Jumlah sel inflamasi di septum interalveolar menurun dengan meningkatnya dosis jus apel hijau.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengapresiasi semua pihak yang mendukung penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yu Q, Zhang L, Ma Q, Da L, Li J, Li W. Predicting all-cause mortality and premature death using interpretable machine learning among a middle-aged and elderly Chinese population. *Heliyon*. 2024 Sep 15;10(17):e36878.
2. Luo Q, Steinberg J, Kahn C, Caruana M, Grogan PB, Page A, et al. Trends and projections of cause-specific premature mortality in Australia to 2044: a statistical modelling study. *Lancet Reg Health West Pac*. 2024 Feb 1;43:100987.
3. Whittaker R, Dobson R, Garner K. Chatbots for Smoking Cessation: Scoping Review. *J Med Internet Res*. 2022 Sep 1;24(9).
4. Gómez Martínez JC, Gaztelurrutia Lavesa L, Mendoza Barbero A, Plaza Zamora J, Lage Piñón M, Aguiló Juanola M, et al. Smoking cessation intervention in the community pharmacy: Cost-effectiveness of a non-randomized cluster-controlled trial at 12-months' follow-up. *Research in Social and Administrative Pharmacy*. 2024 Jan 1;20(1):19–27.
5. Zhao F, Wen Z, Gu X, Zhang W, Tang X. Operando gas- and particle-phase measurements of combustion cigarette smoke aerosols by vacuum ultraviolet photoionization mass spectrometry. *J Aerosol Sci*. 2024 May 1;178:106358.
6. Behrouz S, Mohammadi M, Sarir H, Mohammadian Roshan N, Boskabady MH. Camel milk inhibits pulmonary oxidative stress and inflammation in a rat model of COPD induced by cigarette smoke exposure. *Heliyon*. 2024 Oct 30;10(20):e39416.
7. Bannon ST, Decker ST, Erol ME, Fan R, Huang YT, Chung S, et al. Mitochondrial free radicals contribute to cigarette smoke condensate-induced impairment of oxidative phosphorylation in the skeletal muscle in situ. *Free Radic Biol Med*. 2024 Nov 1;224:325–34.
8. Al-Joufi FA, Shaikat S, Hussain L, Khan K ur R, Hussain N, Al Haddad AHI, et al. Lavandula stoechas significantly alleviates cigarette smoke-induced acute lung injury via modulation of oxidative stress and the NF- κ B pathway. *Food Biosci*. 2024 Jun 1;59:103834.
9. Pranata C, Darmirani Y, Limbing R. Test of the Anti-Inflammatory Effectiveness of Ethanol Extract of Cat's Whiskers Leaves (*Orthosiphon Aristatus*) on Paw Edema in Male Mice (*Mus Musculus*). *JURNAL FARMASIMED (JFM)* [Internet]. 2024 Oct 30;7(1):41–7. Available from: <https://ejournal.medistra.ac.id/index.php/JFM/article/view/2289>
10. Abusara OH, Hammad AM, Debas R, Al-Shalabi E, Waleed M, Scott Hall F. The inflammation and oxidative status of rat lung tissue following smoke/vapor exposure via E-cigarette, cigarette, and waterpipe. *Gene*. 2025 Jan 30;935:149066.
11. Majo J, Ghezzi H, Cosio MG. Lymphocyte population and apoptosis in the lungs of smokers and their relation to emphysema [Internet]. Available from: <https://publications.ersnet.org>
12. Sahu SK, Rain MM, Vyas M. Therapeutic potential of natural compounds for treatment of chronic obstructive pulmonary disease: Current status and future perspective. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*. 2024 Aug 1;11:100159.
13. Aslam MI, Touqeer S, Jamil QUA, Masood MI, Sarfraz A, Khan SY, et al. *Cenchrus ciliaris* L. ameliorates cigarette-smoke induced acute lung injury by reducing inflammation and oxidative stress. *South African Journal of Botany*. 2024 Aug 1;171:216–27.
14. Zhang C, Wang H, Nai G, Ma L, Lu X, Yan H, et al. Nitrogen application regulates antioxidant capacity and flavonoid metabolism, especially quercetin, in grape seedlings under salt stress. *J Integr Agric*. 2024 Dec 1;23(12):4074–92.
15. Pranata C, Tarihoran SN, Darmirani Y. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Talas (*Colocasia Esculenta* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *JURNAL FARMASIMED (JFM)*. 2021 Oct 31;4(1):19–24.
16. Amoateng EO, Amoateng P, Ossei PPS, Asare Fenteng E, Amponsah IK, Ayibor WG, et al. An acute and sub-acute toxicological assessment of *Reissantia indica* plant extract in male Sprague-Dawley rats: Hematological, serum biochemical and histopathology. *Sci Afr*. 2024 Mar 1;23:e02089.
17. Zhu X, Ding G, Ren S, Xi J, Liu K. The bioavailability, absorption, metabolism, and regulation of glucolipid metabolism disorders by quercetin and its important glycosides: A review. *Food Chem*. 2024 Nov 15;458:140262.

18. Kar A, Bhattacharjee S. Bioactive polyphenolic compounds, water-soluble vitamins, in vitro anti-inflammatory, anti-diabetic and free radical scavenging properties of underutilized alternate crop *Amaranthus spinosus* L. from Gangetic plain of West Bengal. *Food Biosci.* 2022 Dec 1;50:102072.
20. Huang H, Hou J, Yu C, Wei F, Xi B. Microplastics exacerbate tissue damage and promote carcinogenesis following liver infection in mice. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2024 Nov 1;286:117217.
21. Millán-Laleona A, Cebollada P, Caprioli G, Piatti D, Maggi F, Pina A, et al. Valorization of local regional apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars versus commercial samples from Spain: Phenolic compounds by HPLC-MS/MS, cytotoxicity and biological potential on nitric oxide radicals and lipoxygenase inhibition. *J Funct Foods.* 2025 Jan 1;124:106631.