

Aktivitas Antioksidan Jus Tomat pada Pencegahan Kerusakan Jaringan Paru-Paru Mencit yang Dipapar Asap Rokok

(Genetic Diversity of Banana with B Genom Using Microsatelite Marker)

Aditya Marianti

*Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang
Kampus Sekaran, Gunung Pati, Semarang 50229*

ABSTRACT

The activities of tomato juice's antioxidant for the prevention of lung tissues damage in mice cigarette smoke induces endogen antioxidant is no longer effective on oxidative stress control towards cigarette consumer lung, thus exogenous antioxidant is a must. A kind of exogenous antioxidant is lycopene, a content of tomato. 40 mice is divided into 5 groups with 8 of each. Group I is the controlling group, group II is the negative control, and group III, IV, V are the group of mice that is supplied by tomato juice on the 1,7 g/100 g weight/day ; 3,4 g/100 g weight/day; and 5,1 g/100 g weight/day doses. Each group, except the control one, is forced by cigarette smoke for 15 minutes per day in 54 days. On the 55th day, all mice is sacrificed. Specimens of their lungs are made in the way of histological by haematoxylin – eosin method. The data is about the comparison of lung tissue failed on each group, that is analyzed by Anava. The observation of each tissue on the group II showed emfisema pattern, that is alveolus membrane epithelia cell with no nucleus nor endothelium, with wide alveolus lumen and loose alveolus junction. The identical situation also found on group III. The failed tissue cannot be found on group IV and V. Antioxidant of tomato is capable of controlling lung tissue failed of mice of cigarette smoke.

Keywords. *Tomato juice, antioxidant, cigarette smoke, lung tissues*

PENDAHULUAN

Merokok sudah menjadi gaya hidup masyarakat, dan setiap tahun jumlah perokok cenderung meningkat. Menurut *Womens Health Journal* (pengarang tahun) terdapat 1.100 juta pengisap rokok di dunia. Tahun 2025 diperkirakan akan bertambah hingga mencapai 1.600 juta orang. Setiap tahun 4 juta orang meninggal dunia karena kasus yang berhubungan dengan tembakau dan pada tahun 2030 diperkirakan orang yang meninggal akan mencapai 10 juta (Anonim 2004).

Penelitian epidemiologi terhadap efek merokok sudah banyak dilakukan dan terbukti bahwa merokok telah meningkatkan risiko terkena COPD (*Chronic Obstructive Pulmonary Disease*) (Boots *et al.* 2003), kanker paru-paru, dan penyakit-penyakit kardiovaskuler (Barnoya & Glantz 2005). Semua penyakit tersebut berkaitan dengan meningkatnya stres oksidatif dan

berkurangnya antioksidan endogen akibat racun tembakau yang diisap oleh perokok.

Asap rokok terdiri atas asap primer yang langsung dihirup perokok dan asap sekunder sebagai hasil pembakaran tembakau pada ujung rokok. Asap sekunder merupakan pencemar ruangan yang paling berbahaya, karena mempunyai kadar racun yang jauh lebih tinggi dari asap primer. Mengingat bahwa kandungan dalam asap sekunder lebih toksik dibandingkan asap primer maka akibat yang timbul pada orang yang kontinyu terpapar dengan asap rokok atau yang disebut perokok pasif tidak berbeda dengan perokok aktif.

Usaha untuk mengatasi kekurangan antioksidan yang terjadi pada perokok pasif adalah dengan mengkonsumsi antioksidan sebagai suplemen bagi tubuh. Salah satu antioksidan yang dianjurkan untuk dikonsumsi adalah likopen. Likopen banyak terkandung dalam tomat (*Licopersicum esculentum* Mill). Untuk meneliti

khasiat likopen tomat dalam meminimalkan efek negatif racun tembakau pada paru-paru perokok pasif, telah dilakukan penelitian eksperimental laboratoris dengan memberikan jus tomat berbagai dosis pada mencit (*Mus musculus*) yang dipapar dengan asap rokok kretek, sebagai model untuk perokok pasif.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan desain penelitian *Post Test Randomized Control Group Design* dan rancangan acak lengkap. Populasi dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) strain *Swiss Webster Albino* jantan, sedangkan sampel penelitian adalah 40 ekor mencit yang diperoleh dengan teknik *consecutive random sampling* dengan kriteria inklusi *Mus musculus* strain *Swiss Webster Albino*, umur 8-12 minggu dengan berat badan 20-30 g. Untuk kriteria eksklusi adalah tidak terdapat abnormalitas anatomi yang nampak dan mencit bergerak aktif.

Pada penelitian ini dosis jus tomat difungsikan sebagai variabel bebas, sedangkan struktur mikroanatomi jaringan paru-paru mencit yang meliputi struktur membran alveolus, lebar

lumen alveolus dan kerapatan hubungan antar alveolus mencit difungsikan sebagai variabel tergantung. Sebagai variabel kendali adalah galur mencit, jenis kelamin, pakan, jenis rokok dan lama paparan asap pada tiap kelompok perlakuan.

Penelitian dilakukan dengan membagi empat puluh ekor mencit menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri atas 8 ekor. Kelompok I sebagai **control?**, kelompok II sebagai kontrol negatif, kelompok III, IV, dan V masing-masing diberi jus tomat dengan dosis 1,7 g/100 g berat badan/hari, 3,5 g/100 g berat badan/hari, dan 5,2 g/100 g berat badan/hari. Pemberian jus tomat per oral. Semua kelompok kecuali kelompok kontrol dipapar dengan asap rokok kretek dengan kadar nikotin 2,3 mg dan kadar tar 39 mg, selama 15 menit setiap hari selama 54 hari. Pemaparan dilakukan dalam kandang dengan ventilasi yang dibuat terbatas. Pada hari ke 55 hewan uji dikorbankan dan diambil paru-parunya. Paru-paru tersebut dibuat preparat mikroanatomi dengan metode Hematoxilin-eosin (HE). Struktur mikroanatomi paru-paru dianalisis secara deskriptif kualitatif dan dibuat skor derajat kerusakan seperti tercantum dalam Tabel 1. Analisis hasil dilakukan dengan analisis varian satu jalan dan apabila berbeda signifikan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT)

Tabel 1. Skor derajat kerusakan jaringan paru-paru mencit akibat paparan asap rokok antara kelompok kontrol positif, kontrol negatif dan yang diberi jus tomat

Gambaran histologis	Skor		
	1	2	3
Membran alveolus	membran alveolus utuh, berinti dan lengkap dengan sel-sel endotelium >75%	membran alveolus utuh, berinti dan lengkap dengan sel-sel endotelium 25-75%	membran alveolus utuh, berinti dan lengkap dengan sel-sel endotelium <25%
Lumen alveolus	membulat ukuran proporsional >75%	membulat ukuran proporsional 25-75%	membulat ukuran proporsional <25%
Hubungan antar alveolus	Rapat >75%	Rapat 25-75%	Rapat <25%

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan pada paru-paru mencit normal yang tidak dipapar dengan asap rokok kretek seperti dapat diamati pada Gambar 2 menunjukkan struktur yang normal ditandai dengan sel-sel epitelium penyusun membran

alveolus masih normal dengan sel-sel endoteliumnya tampak jelas di seputar alveolus, hubungan antar alveolus rapat dan lumen alveolusnya relatif membulat. Tidak tampak adanya proliferasi pada epitel alveolus. Bila

dianalisis skor derajat kerusakannya adalah rendah hanya 1,16 atau dalam kategori normal.

Kebalikan dengan hasil di atas pada mencit yang dipapar dengan asap rokok tanpa diberi jus tomat menunjukkan kerusakan yang nyata pada jaringan paru-parunya. Tampak sel-sel epitel penyusun membran alveolus sudah tidak berinti, sel-sel endoteliumnya juga tidak nampak. Lumen alveolusnya melebar, dan hubungan antar alveolusnya amat renggang. Bila dianalisis skor derajat kerusakannya adalah yang tertinggi yaitu 2,89.

Pada mencit yang diberi jus tomat dengan dosis 1,7 g/100g berat badan mencit dan dipapar asap rokok, efek pencegahan kerusakan pada jaringan paru-parunya belum optimal. Gambaran struktur paru-parunya masih menunjukkan gejala-gejala emfisema seperti sel-sel alveolus membesar, epitelium dan endotelium alveolus terdestruksi, dan ikatan antar sel longgar sehingga skor derajat kerusakan juga masih tinggi yaitu 2,54.

Tabel 2. Analisis Varian Satu Jalan perbedaan skor derajat kerusakan jaringan paru-paru mencit yang dipapar asap rokok tanpa dan dengan diberi jus tomat pada berbagai dosis

Sumber Keragaman	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	Kuadrat Tengah	F	signifikan
Antar kelompok	19,416	4	4,854	51,249*	,000
Dalam kelompok	3,315	35	0,095		
Total	22,731	39			

* signifikan

Pemberian jus tomat dengan dosis yang semakin tinggi yaitu 3,5 dan 5,2 g/100 g berat badan terbukti semakin efektif mencegah kerusakan jaringan paru-paru dari oksidan dalam asap rokok. Pemberian dosis 3,5 g/100 g berat badan menunjukkan gambaran struktur paru-paru yang semakin membaik dibandingkan yang tidak diberi jus tomat dan yang diberi jus tomat 1,7 g/100g berat badan. Sel-sel epitel membran alveolus relatif masih utuh, membulat dan tidak nampak pembesaran lumen alveolus, tampak sel-sel endotelium yang berisi darah, dan ikatan antar sel-selnya masih tampak rapat. Jika dianalisis skor derajat kerusakannya lebih rendah dibandingkan kontrol negatif dan yang diberi jus tomat dosis 1,7 g/100 g berat badan yaitu 1,79.

Angka dalam satu kolom berarti tidak berbeda signifikan

Angka pada kolom yang berbeda artinya berbeda signifikan

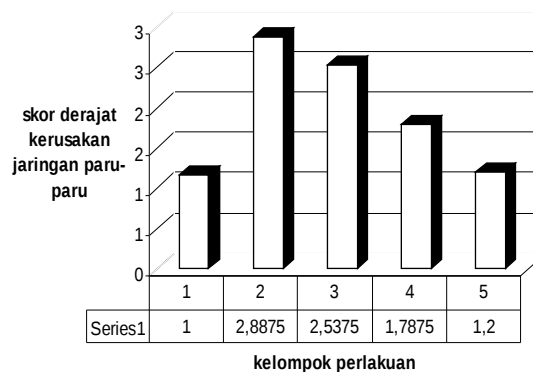
Pada pemberian jus tomat dosis 5,2 g/100 g berat badan, terlihat sel-sel parenkim paru-paru masih tetap normal seperti halnya pada mencit yang tidak dipapar dengan asap rokok. Alveolus normal tersusun oleh sel epitel dan endotel, bentuk alveolus utuh membulat, struktur alveolus rapat. Analisis terhadap tingkat kerusakan yang dialami terbukti paling rendah yaitu 1,39.

Analisis secara deskriptif gambaran jaringan paru-paru dari kelima kelompok perlakuan tersebut, ternyata sesuai dengan hasil uji statistik anava satu jalan yang dilanjutkan dengan uji lanjut dengan DMRT.

Tabel 3. Hasil uji lanjut DMRT skor derajat kerusakan paru-paru mencit yang dipapar asap rokok tanpa dan dengan diberi jus tomat pada berbagai dosis

Kelompok Perlakuan	N	$\alpha = 0,05$			
		1	2	3	4
1	8	1,16			
5	8	1,20			
4	8		1,79		
3	8			2,54	
2	8				2,89

Keterangan :

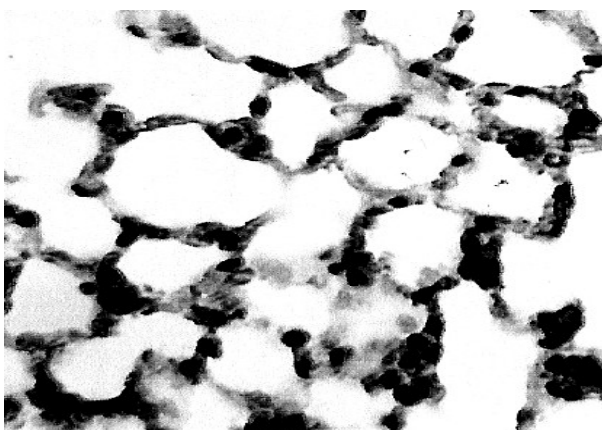


Keterangan :

- 1 = kontrol
- 2 = kontrol negatif
- 3 = diberi jus tomat dosis 1,7 g/100 g BB/hari per oral
- 4 = diberi jus tomat dosis 3,5 g/100 g BB/hari per oral
- 5 = diberi jus tomat dosis 5,2 g/100 g BB/hari per oral

Gambar 1. Diagram perbandingan skor derajat kerusakan jaringan paru-paru mencit Hasil analisis varian satu jalan menunjukkan perbedaan skor derajat kerusakan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Sedangkan hasil uji lanjut menunjukkan bahwa kelompok yang diberi perlakuan dengan jus tomat 5,2 g/100 g berat badan dan kelompok yang tidak dipapar asap rokok (kontrol positif), skor derajat kerusakannya paling rendah dibandingkan dengan ketiga kelompok yang lain dan kedua kelompok tersebut menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan. Sedangkan pada ketiga kelompok sisanya masing-masing berbeda signifikan dengan kelompok lainnya.

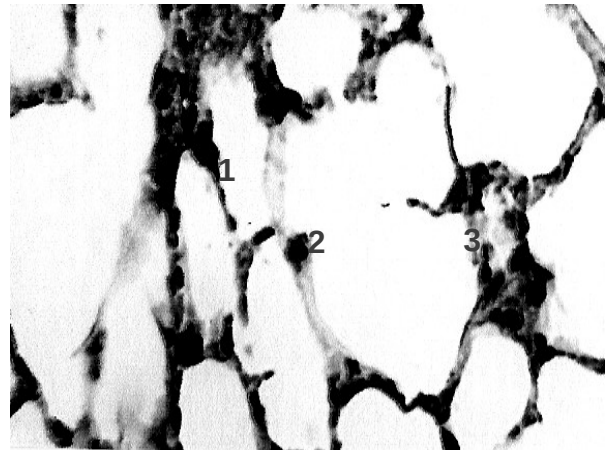
Hubungan antar alveolus yang rapat pada kelompok yang tidak dipapar asap rokok menunjukkan bahwa matriks ekstraseluler yang antara lain terdiri atas serabut kolagen dan elastin masih utuh. Lumen alveolus nampak normal tidak membesar yang umum terjadi apabila ada kelainan paru-paru. Hal ini disebabkan paru-paru tersebut tidak terpapar dengan toksikan yang terkandung dalam asap rokok, sehingga sel-selnya tidak mengalami kerusakan. Keadaan ini tampak berbeda dengan paru-paru mencit yang dipapar dengan asap rokok secara kontinyu.



Gambar 2. Mikroanatomi paru-paru mencit normal tanpa dipapar asap rokok

Pada mencit yang dipapar dengan asap rokok secara kontinyu, tampak jelas kerusakan pada struktur mikroanatomi paru-parunya. Hal ini

disebabkan telah terjadi perusakan sel-sel epitelium dan endotelium pada alveolus yang disebabkan oleh toksikan pada asap rokok. Seperti diketahui pada asap rokok terkandung berbagai partikel atau senyawa berbahaya misalnya tar, CO, sianida formaldehida, Amonia, Nitrosamin, NO^x, SO₂, Partikel Pb, resin, benzopyrene, Cd, Ni, dan Polonium 210, yang potensial berkembang menjadi radikal bebas. Radikal bebas akan menyebabkan kerusakan jaringan akibat proses oksidasi pada lipoprotein membran sel. Hal ini terbukti apabila diamati terlihat jelas kerusakan yang terjadi pada membran alveolus berupa hilangnya sel-sel endotelium yang normalnya terdapat di sekeliling alveolus, sehingga menyebabkan kematian sel. Selain itu hubungan antar alveolus juga merenggang, akibat rusaknya jaringan ikat. Elastin dan kolagen terdegradasi. Lumen alveolus membesar. Semua yang tampak pada histologis paru-paru mencit ini menunjukkan terjadinya emfisema yang merupakan salah satu gejala COPD.



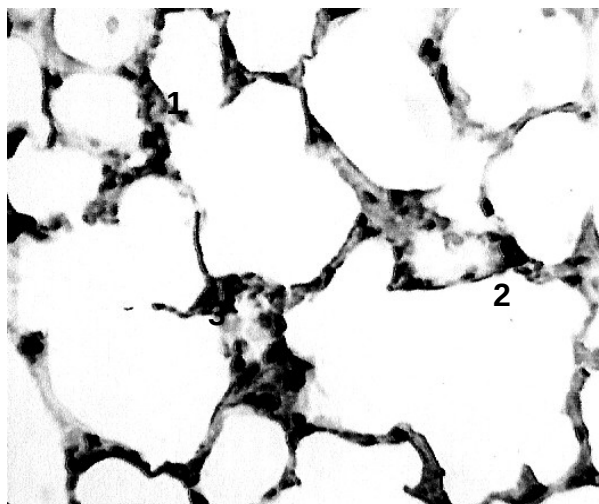
Gambar 3. Mikroanatomi paru-paru mencit yang dipapar asap rokok (kontrol negatif)

Keterangan :

1. sel epitel membran alveolus tak berinti tidak tampak sel-sel endotelium di sekelilingnya
2. alveolus melebar
3. hubungan antar alveolus merenggang

Radikal-radikal bebas yang terkandung dalam rokok yaitu semiquinon, dan radikal hidroksil, nitrogen oksigen, dan hydrogen peroksida. Oksigen yang bersifat radikal bebas sebenarnya juga diproduksi di dalam sel sebagai akibat proses respirasi yang menggunakan oksigen (MacNee & Rahman 1999). Dalam keadaan normal antioksidan endogen masih

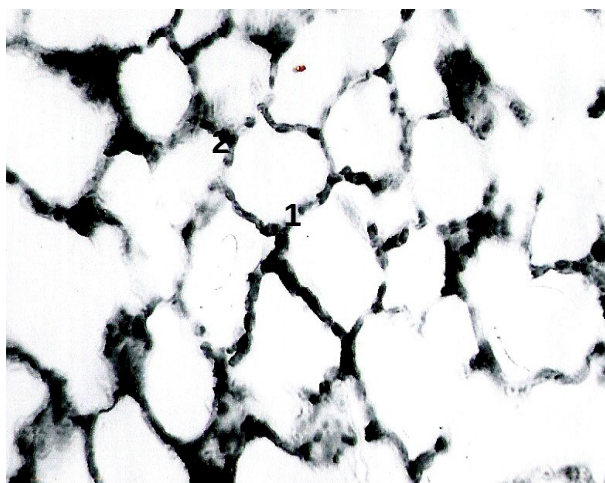
mampu memproteksi sistem dalam tubuh. Penambahan radikal bebas dari lingkungan akibat terpapar asap rokok, seperti yang terjadi pada perokok pasif, menyebabkan antioksidan endogen tidak mampu lagi memproteksi sistem di dalam tubuh dari oksidan, sehingga muncul spesies oksigen reaktif (SOR). SOR akan memicu muncul stress oksidatif pada jaringan paru-paru.



Gambar 4. Pengaruh pemberian jus tomat 1,7 g/100 g BB/hari pada paru-paru mencit yang dipapar asap rokok

Keterangan :

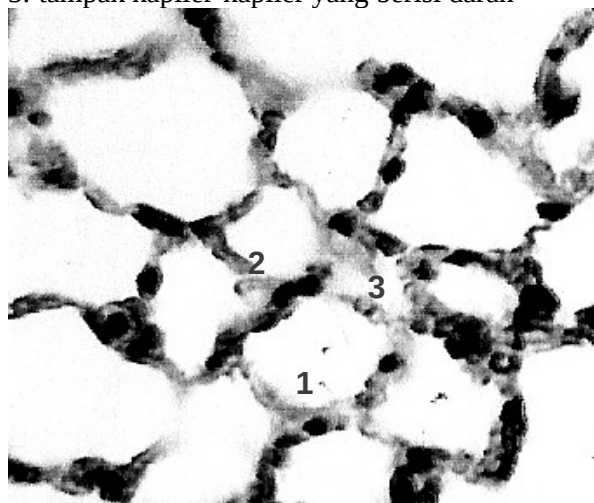
1. sel epitel membran alveolus tak berinti sel-sel endotelium di sekelilingnya tidak nampak
2. alveolus melebar
3. hubungan antar alveolus merenggang



Gambar 5. Pengaruh pemberian jus tomat 3,5 g/100 g BB/hari pada paru-paru mencit yang dipapar asap rokok

Keterangan :

1. sel-sel epitel membran alveolus relatif masih utuh dengan endotelium di sekelilingnya
2. bentuk alveolus masih utuh membulat
3. tampak kapiler-kapiler yang berisi darah



Gambar 6. Pengaruh pemberian jus tomat 5,2 g/100 g/hari pada paru-paru mencit yang dipapar asap rokok

Keterangan :

1. alveolus normal tersusun oleh sel epitel dan endotel
2. bentuk alveolus utuh membulat
3. struktur alveolus rapat

Stres oksidatif menurut Dekhuijzen (2004) juga menyebabkan munculnya respon imun lokal, peningkatan resiko infeksi dan akibat-akibat yang lebih buruk. Semuanya berujung pada penurunan fungsi paru-paru. Stress oksidatif juga akan memicu peningkatan jumlah makrofag dan neutrofil pada jaringan paru-paru. Peningkatan jumlah makrofag turunan metaloprotease yaitu gelatinosa A & B, matrilisin, dan makrofag metalloelastase berkorelasi dengan kerusakan jaringan ikat yang menyebabkan berkembangnya emfisema. Makrofag ini terbukti mendegradasi elastin dan kolagen. Sedangkan neutrofil yang semakin meningkat adalah prekursor emfisema (Churg 2002). Stress oksidatif akibat paparan asap rokok juga mempengaruhi keseimbangan antara proteinase-antiproteinase yaitu mengaktifkan proteinase dan menonaktifkan antiproteinase. Aktifnya proteinase menyebabkan reaksi inflamasi dengan mengaktifkan transkripsi NF- κ B yang akan menginduksi transkripsi gen-gen penyebab inflamasi. Selain inflamasi terjadi pula kerusakan sel-sel epitel alveolus yang menyebabkan terjadinya kematian sel. Kematian sel tersebut disebabkan oleh peningkatan

apoptosis akibat stress oksidatif (Demedts *et al.* 2006).

Pemberian jus tomat yang mengandung likopen diduga mampu mencegah efek kerusakan pada paru-paru yang ditimbulkan oleh stress oksidatif akibat terpapar asap rokok. Semakin tinggi dosis yang diberikan terbukti semakin efektif mencegah kerusakan yang timbul.

Efek pencegahan yang nyata ini disebabkan kandungan likopen yang tinggi di dalam tomat. Buah tomat mengandung likopen 8,8-42 µg/g berat basah, sedangkan dalam bentuk jus mengandung lebih banyak likopen yaitu 50-116 µg/g berat basah (Agarwal & Rao 2000). Likopen dikenal sebagai senyawa antioksidan, mempunyai rumus molekul C₄₀H₅₆ dengan berat molekul 536,85 Da dan titik cair 172°C-175°C. Likopen merupakan hidrokarbon polien dengan rantai asiklik terbuka tak jenuh mempunyai 13 ikatan rangkap, 11 di antaranya ikatan rangkap konjugasi yang tersusun linier dan tidak mempunyai aktivitas provitamin A (Ferreira *et al.* 2000). Di alam likopen terdapat dalam bentuk *all trans* yang secara termodinamika merupakan bentuk yang stabil. Akibat pengaruh cahaya dan pemanasan, bentuk *all trans* dapat berubah menjadi isomer mono atau poli *cis*. Dalam serum dan jaringan manusia lebih dari 50% berada dalam bentuk isomer *cis*. Secara umum isomer *cis* bersifat polar, kecenderungan untuk menjadi kristal lebih rendah, larut dalam minyak dan pelarut hidrokarbon, lebih mudah bergabung dengan lipoprotein maupun struktur lipid subseluler, lebih mudah masuk ke dalam sel dan bersifat kurang stabil jika dibandingkan dengan isomer *trans* (Boileau *et al.* 1999).

Mekanisme kerja antioksidasi likopen adalah meredam spesies oksigen reaktif dan meningkatkan potensi antioksidan sehingga mengurangi kerusakan akibat proses oksidasi pada lipoprotein dan membrane (Palloza 1998). Seperti telah diketahui bahwa stress oksidatif menyebabkan protein lebih rentan dengan degradasi proteolitik. Degradasi proteolitik akan memodifikasi rantai asam amino menjadi bentuk agregat protein dan membukanya ikatan peptida, selain itu sebagian residu asam amino dikonversi menjadi residu karbonil, dan berkurangnya kelompok sulfhidril pada protein plasma (MacNee & Rahman 1999). Akibatnya protein plasma akan terdegradasi. Kerusakan pada protein plasma akan memicu terjadinya kerusakan sel.

Sebagai antioksidan likopen diduga akan mencegah proses degradasi proteolitik tersebut dengan mengaktifasi antiproteinase yang berasal dari sitoplasma sel-sel epitelium alveolus (Kasagi *et al.*). Antiproteinase ini akan menghambat aktivasi transkripsi NF-κB, sehingga transkripsi gen-gen penyebab inflamasi juga dihambat. Selain itu juga akan menghambat pembebasan elastase dari netrofil dan metaloproteinase dari makrofag alveolar. Akibatnya kerusakan sel-sel epitelium parenkim paru-paru dan proses inflamasi alveolus akan dihambat.

Terendamnya aktivitas spesies oksigen reaktif oleh likopen diduga juga akan menghambat apoptosis sel, pembentukan makrofag turunan metaloprotease, dan netrofil yang berlebihan pada jaringan parenkim paru.

PENUTUP

Berdasarkan pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa antioksidan yang terkandung dalam jus tomat dapat mencegah kerusakan jaringan paru-paru mencit yang dipapar asap rokok

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal S & Rao AV. 2000. Tomato lycopene and its role in human health and chronic disease. *CMAJ* 163:739-744.
- Anonim. 2004. Tembakau membunuh perempuan. *Kalyanamedia* Edisi 3 Oktober 2004:2
- Barnoya J & Glantz SA. 2005. Cardiovascular effects of secondhand smoke. *Circulation*. 111:2684-2698
- Boileau AC, Merchen NR, Wasson K, Atkinson CA, Erdman JW. 1999. Cis-lycopene is more bioavailable than translycopene in vitro and in vivo lymph-cannulated Ferrets. *J Nutr*. 129:1176-1181
- Boots AW, Haenen GRMM, and Bast A. 2003. Oxidant metabolism in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 22:14S-27S.
- Churg A, Zay Z, Shay S, Xie C, Shapiro SD, Hendricks R, Wright JL. 2002. Acute cigarette smoke-induced connective tissue breakdown requires both neutrophils and macrophage metalloelastase in mice.

American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology.27 : 368-374.

- Dekhuijzen PNR. 2004. Antioxidant properties of N-acetylcysteine: their relevance in relation to chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 23:629-636.
- Demedts IK, Demoor T, Bracke KR, Joos GF, Brusselle GG.2006. Role of apoptosis in the pathogenesis of COPD and pulmonary emphysema. *Respiratory Research*. 27:53.
- Ferreira ALA, Yeum KJ, Liu C, Smith D, Krinsky NI, Wang XD, Russel RM. 2000. Tissue distribution of lycopene in ferrets and rats after lycopene supplementation. *J Nutr*. 130:1256-1260.
- Kasagi S, Seyama K, Mori H, Souma S, Sato T, Akiyoshi T., Suganuma H, Fukuchi Y.

Tomato juice prevents senescence-accelerated mouse P1 strain from developing emphysema induced by chronic exposure to tobacco smoke. *Am J Physiol Lung Cell edisi ?*

- MacNee W & Rahman I. 1999. Oxidants and antioxidants as therapeutic targets in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 160:S58-S65.
- Mac Nee W. 2005. Pulmonary and systemic oxidant/antioxidant imbalance in chronic obstructive pulmonary disease. *The Proceedings of The American Thoracic Society* 2:50-60.
- Palloza P. 1998. Prooxidant action carotenoid in biologic system. *Nutr Rev*.56:257-265