

# EFEK EKSTRAK BUAH MENGGUDU (*Morinda citrifolia*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI TRAKEA PADA TIKUS *Wistar* YANG DIBERI PAPARAN ASAP ROKOK

Selvi Delania Klau<sup>1</sup>

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya<sup>1</sup>  
email: [klau0765@gmail.com](mailto:klau0765@gmail.com)

## ABSTRAK

Radikal bebas yang terdapat pada asap rokok dapat merusak sel yang terdapat pada tubuh terutama pada trakea. Pada penelitian ini digunakan ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) untuk mengetahui efek terhadap gambaran histopatologi hemoragi, nekrosis, dan infiltrasi sel radang pada organ trakea tikus *Wistar* yang diberikan paparan asap rokok selama 14 hari. Sampel yang digunakan adalah tikus *Wistar* dengan berat badan 150-200 gram sebanyak 24 ekor yang dibagi dalam 4 kelompok yaitu kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+) dengan perlakuan pertama (P1) dosis 50mg/kgBB dan perlakuan kedua (P2) dosis 75mg/kgBB. Pada hari ke-15 tikus di euthanasia lalu di nekropsi kemudian organ trakea diambil dan dijadikan preparat histopatologi dengan pewarnaan Hematoksin eosin (HE). Lesi yang diamati yaitu hemoragi, nekrosis dan infiltrasi sel radang. Pengamatan gambaran histopatologi dilakukan dengan mikroskop perbesaran 40x pada lima lapang pandang. Hasil uji Kruskal Wallis untuk mengetahui adanya perbedaan pada kelompok perlakuan. Jika ada pengaruh yang signifikan, uji Mann-Whitney dilakukan dengan rancangan acak lengkap. Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ) pada parameter nekrosis dan infiltrasi sel radang, sedangkan parameter hemoragi tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $P > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa dosis 75mg/kg BB (P2) paling banyak menurunkan jumlah nekrosis dan infiltrasi sel radang, tetapi tidak signifikan terhadap hemoragi.

**Kata kunci:** Asap rokok, ekstrak buah mengkudu, hemoragi, nekrosis, infiltrasi sel radang

## ABSTRACT

Free radicals contained in cigarette smoke can damage cells in the body, especially in the trachea. In this study, noni fruit extract (*Morinda citrifolia*) was used to determine the effect on the histopathological picture of hemorrhage, necrosis, and inflammatory cell infiltration in the trachea organs of *Wistar* rats given exposure to cigarette smoke for 14 days. The samples used were *Wistar* rats with a body weight of 150-200 grams as many as 24 heads which were divided into 4 groups, namely negative control (K-), positive control (K+) with the first treatment (P1) dose of 50mg / kgBB and the second treatment (P2) dose of 75mg / kgBB. On the 15th day the rats were euthanized and then necropsied then the tracheal organs were taken and made into histopathological preparations with Hematoxylin eosin (HE) staining. The lesions observed were hemorrhage, necrosis and inflammatory cell infiltration. Observation of the histopathological picture was carried out with a 40x magnification microscope in five fields of view. The results of the Kruskal Wallis test to determine the difference in the treatment groups. If there was a significant effect, Mann-Whitney test was performed with a complete randomized design. The results showed that there was a significant difference ( $P < 0,05$ ) in the parameters of necrosis and inflammatory cell infiltration, while the hemorrhage parameter had no significant difference ( $P > 0,05$ ). This indicates that the dose of 75mg/kg BW (P2) most reduced the number of necrosis and inflammatory cell infiltration, but not significant to hemorrhage.

**Keywords:** Cigarette smoke, noni fruit extract, hemorrhage, necrosis, inflammatory cell infiltrat

## PENDAHULUAN

Berdasarkan WHO merokok merupakan salah satu penyebab kematian tertinggi didunia. WHO memperingatkan kematian akibat merokok tahun 2030 akan mencapai 10 juta orang per tahunnya, di Amerika Serikat yang terjadi akibat merokok sebanyak 480.000 orang setiap tahunnya (INDONESIA, 2011) dimana 70% terjadi di negara berkembang, dan salah satunya adalah Indonesia. Kematian yang terjadi di

Indonesia akibat merokok sebanyak 427.948 orang setiap tahunnya (Yulviana, 2015).

Rokok mengandung 4000 zat kimia berbahaya bagi kesehatan dan terdapat lebih dari 200 macam racun, salah satunya adalah Tar. Tar yang masuk ke saluran pernapasan akan mengendap dan menyebabkan terjadinya hiperplasia sel goblet pada trakea (Rohmani, et al., 2018). 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 and David, 2006). 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. Dampak asap rokok pada hewan coba akan mengalami kelainan yang ditimbulkan pada sistem pernapasan dalam jangka waktu panjang diantaranya adalah berkurangnya jumlah silia pada epitel pseudokompleks bersilia. Perubahan struktur histologi yang terjadi pada trakea seperti bertambahnya sel goblet dan perubahan tinggi sel epitel pseudokomplek (Kristiawan, et al., 2017).

Radikal bebas dapat merusak biomakromolekul seperti karbohidrat, protein, lipid, dan asam nukleat. Radikal bebas membentuk peroksidasi lipid dimana proses ini mengubah komponen membran sel dan membentuk senyawa toksis. Kerusakan oksidatif dan hal ini dapat membawa dampak yang lebih buruk bagi kesehatan. Radikal bebas yang terdapat di dalam asap rokok dalam jumlah yang sangat tinggi dan memiliki sifat yang tidak stabil sehingga dapat merusak jaringan. Kelainan paru yang diakibatkan radikal bebas yang ada di dalam rokok akan menyebabkan gangguan atau kelainan pada saluran pernafasan, mulai dari trakea, bronkus, dan bronkiolus sampai pada alveoli paru (Nurliani, et al., 2012).

Pada hewan yang terpapar asap rokok menyebabkan kerusakan yang terjadi pada struktur histologi trakea seperti mereduksinya silia yang terdapat pada epitel pseudokomplek bersilia, terjadinya hiperplasia sel goblet, memendeknya tinggi epitel, penyempitan diameter lumen trakea (Kristiawan, et al., 2017). Trakea merupakan organ awal pada saluran pernapasan yang terpapar oleh asap rokok sehingga dapat terjadi perubahan gambaran histopatologi organ trakea berupa hemoragi, nekrosis, infiltrasi sel radang. Penyakit pada saluran pernapasan merupakan salah satu penyebab kematian terbanyak akibat merokok. Paparan asap rokok menyebabkan perubahan morfologi epitel di seluruh saluran pernapasan (Yunus dkk., 2020). Oleh sebab itu, diperlukan tindakan yang tepat untuk menangani dan mencegah efek buruk dari radikal bebas yaitu dengan mengkonsumsi antioksidan. Antioksidan yang dapat digunakan dapat berupa tanaman tradisional.

Tanaman yang dikenal sebagai Mengkudu (*Morinda citrifolia*) merupakan tanaman tropis yang telah digunakan sebagai makanan dan pengobatan herbal. Tanaman Mengkudu diketahui memiliki banyak manfaat untuk kesehatan. Efek buah mengkudu diantaranya sebagai antitrombolitik, antioksidan, analgesik, anti inflamasi dan aktifitas xanthine oxidase inhibito (Ayanblu, et al., 2006). Pengaruh mengenai paparan asap rokok terhadap nilai gambaran histopatologi pada trakea tikus dan

adanya bahan kandungan antioksidan dalam buah mengkudu mendorong peneliti untuk mengetahui pengaruh rokok terhadap trakea dan pengaruh ekstrak mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap perubahan gambaran histopatologi pada paparan asap rokok.

## MATERI DAN METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan Laboratorium Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada. Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Desember 2023 - Januari 2024.

### Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain boks papar asap rokok berukuran 40 x 25 x 20 cm dengan dua lubang, untuk memasukkan rokok ke dalam kandang dan sebagai ventilasi, kandang tikus, gunting bedah, scalpel, pinset, sonde, pipet, pot organ, tempat minum, tempat makan hewan, timbangan digital, alat tulis, label penomoran, *smoking pump*, masker, *glove*, *tissue*, kasa steril, *object glass*, *cover glass*, corong *buchner*, *cool box*, kapas, alcohol, mikroskop, ekstraktor *batch*, *termostat*, *waterbath*, evaporator vakum, kertas saring, korek, api bunsen, mikrotom.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain: rokok kretek panjang 120 mm dengan diameter 10 mm, alkohol 70 %, NaCl 0.9%, formalin 10%, ketamin, blok paraffin, pewarna *hematoxylin* dan *eosin* (HE). Bahan yang digunakan untuk membuat ekstrak buah mengkudu antara lain: buah mengkudu, etanol pro analisis 96 %, aquadest steril.

### Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan menggunakan hewan coba tikus *Wistar* jantan. Subjek yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus *Wistar* jantan yang berumur 2- 3 bulan dengan berat  $\pm$  300 gram. Besar sampel tiap kelompok dihitung dengan rumus Federer, (n) adalah jumlah subjek untuk tiap perlakuan dan (t) adalah jumlah perlakuan. Hasil perhitungan rumus federer sebagai berikut ;  $(t-1)(n-1) \geq 15 = (4-1)(n-1) \geq 15 = 3(n-1) \geq 15 = 3n-3 \geq 15 = 3n \geq 15+3 = 3n \geq 18 n \geq 18/3 = n = 6$ . Berdasarkan perhitungan, bahwa jumlah subjek yang akan dipakai dalam penelitian adalah 6 ekor tikus *Wistar* jantan untuk tiap kelompoknya. Secara keseluruhan membutuhkan subjek sebanyak 24 ekor tikus *Wistar* jantan. Penelitian ini menggunakan 3 variabel :

1. Variabel bebas: Pemberian ekstrak buah mengkudu dan paparan asap rokok.
2. Variable terikat: Gambaran histopatologi Hemoragi, Nekrosis, Infiltrasi sel radang pada organ trakea tikus yang diberi asap rokok dengan ekstrak buah mengkudu
3. Variabel terkontrol: Galur tikus, umur dan berat badan, jenis kelamin, pakan

## Prosedur Penelitian

Pembuatan Sediaan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) yaitu buah mengkudu yang menggunakan buah mengkudu pascapanen, berwarna putih kekuningan merata, dan daging buah masih keras. Pembuatan ekstrak buah mengkudu dilakukan dengan menimbang serbuk buah mengkudu sebanyak 15 gram. Kemudian dilakukan pembasahan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 15 mL. Dimasukkan serbuk yang telah dibasahi dengan pelarut ke dalam toples, diratakan dan ditambahkan pelarut etanol 70% sampai terendam. Pelarut yang ditambahkan sebanyak 150 ml. Kemudian toples ditutup dengan rapat selama 24 jam dan dishaker di atas shaker digital dengan kecepatan 50 rpm. Dilakukan penyaringan ekstrak cair dengan penyaring kain dan tampung ekstrak dalam erlenmeyer. Hasil ekstrak cair pertama diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 30 menit. Kemudian ekstrak yang dihasilkan dievaporasi/ diuapkan di atas water bath selama 2 jam. Dari 15 gram serbuk buah mengkudu yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 150 mL dihasilkan ekstrak cair sebanyak 10 mL. Kemudian ekstrak yang didapat dilatutkan kembali dengan pelarut *Carboxymethyl Cellulose* (CMCNa) 0,1% untuk memudahkan saat proses pemberian ekstrak saat terapi. Sebanyak 0,1 gram CMCNa dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambah aquades sampai volume 100 mL, kemudian di homogenkan menggunakan *magnetic stirrer* (Dewi, 2010).

Perlakuan Paparan Asap Rokok dan Ekstrak Buah Mengkudu yaitu berdasarkan penelitian Murray (2000), dosis aman buah mengkudu pada manusia adalah 500-1000 mg/kg bb. Faktor konversi dari manusia ke tikus dengan berat badan manusia 70 kg dan berat badan tikus 200 g adalah 0,018 mg. Jadi, hasil yang didapatkan yaitu 45-90 mg/kg bb. Oleh karena itu 24 pada penelitian ini digunakan dosis 50mg/kg bb dan 75 mg/kg bb sebagai dosis eksperimental untuk terapi pada tikus yang dipapari asap rokok. Perlakuan yang dilakukan oleh penulis adalah Kontrol (-) tanpa dipapar asap rokok hanya diberi pakan dan minum, Kontrol (+) dipapari asap rokok, P1 dipapar asap rokok dan diberi 50mg/kg bb ekstrak buah mengkudu, P2 dipapar asap rokok dan diberi 75mg/kg bb ekstrak buah mengkudu. Pemberian ekstrak buah mengkudu dilakukan satu jam sebelum pemaparan asap rokok dan diberikan per oral. Pemaparan asap rokok menggunakan satu batang rokok per ekor per hari. Semua perlakuan dilakukan selama 14 hari dan dilakukan euthanasia pada hari ke-15 (Hermawan, 2016).

Pembuatan Preparat Histopatologi dilakukan pada hari ke-15 pembedahan untuk diambil sampel trakea, kemudian dibersihkan dengan NaCl 0,9% dan difiksasi dengan larutan

formalin buffer 10% ke dalam pot organ, kemudian dibuat preparat histopatologi trakea pewarnaan HE dengan proses *dehydration, clearing, infiltrasi, embedding, sectioning* dan *staining* untuk pemeriksaan secara mikroskopik. Organ direndam ke dalam netral buffer formalin 10% kira-kira 15-20 × volume jaringan dan dibiarkan dalam suhu kamar selama 24 jam. Selanjutnya jaringan dipotong dengan ukuran 1 × 1 × 1 cm, kemudian dimasukkan dalam *cassette* jaringan. Setelah jaringan selesai difiksasi dan dimasukkan dalam *cassette*, 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*. *Clearing* dilakukan untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dengan merendam jaringan dalam *xylene*. Kemudian, keluarkan jaringan dari *cassette*. Setelah itu jaringan siap untuk dimasukkan ke dalam blok parafin. Selanjutnya dilakukan *embedding* atau impregnasi dan *blocking*. Organ ditanam pada blok yang telah disediakan kemudian disimpan dalam lemari es selama 24 jam. Setelah itu organ dipotong (*cutting*) dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 mikron. Proses selanjutnya adalah organ diwarnai dengan pewarnaan *Harris-Hematoksilin-Eosin*. Preparat diparafinisasi dalam *xylol* selama 3×5 menit. Kemudian didehidrasi dalam larutan alkohol 100% sebanyak 2 kali dengan durasi masing-masing 5 menit, bilas dengan aquades selama 1 menit. Lalu diinkubasikan dalam larutan *Harris Hematoksillin* selama 15 menit. Kemudian dicelupkan naik turun dalam aquades selama 1 menit, selanjutnya celup dalam campuran asam- alkohol secara cepat 5-7 celup. Cek diferensiasi warna di atas mikroskop, warna tidak boleh sampai pucat. Selanjutnya dibilas dalam aquades selama 1 menit, dan bilas kembali dengan aquades selama 15 menit. Lalu dicelup sebanyak 3-5 kali dalam 17 larutan ammonium atau lithium karbonat hingga potongan berwarna birucerah dan kemudian cuci dalam air mengalir selama 15 menit. Kemudian diinkubasi dalam *Eosin* selama 2 menit Selanjutnya didehidrasi dalam alkohol dengan konsentrasi 96%, 96%, 100%, dan 100%, masing-masing selama 3 menit, lalu diinkubasi dalam *xylol* selama 2 × 2 menit. Kemudian dilakukan proses mounting yaitu penutupan preparat dengan *cover glass* dimana digunakan permount dipakai sebagai perekat (Kiernan, 2015).

Skoring Histopatologi dilakukan dengan cara pemeriksaan preparat histopatologi trakea menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x. Pengamatan pada lima lapang pandang berbeda dan dicatat perubahan mikroskopis berdasarkan parameter degenerasi sel, nekrosis, ketebalan mukosa. Kemudian menghitung jumlah sel yang nekrosis lalu dirata-rata (Muliarta, *et al.*, 2009). Adapun perubahan pada trakea yang diamati kemudian diskoring (Pinem, *et al.*, 2016).

Skor	Hemoragi	Keterangan
0	Jika tidak teramati hemoragi	Normal
3	Jika terjadi hemoragi <10% dari seluruh lapang padang	Ringan
5	Jika terjadi hemoragi 11-50% dari seluruh lapang padang	Sedang
10	Jika terjadi hemoragi >50% dari seluruh lapang padang	Berat

**Tabel 3.1** Skoring Hemoragi (Solfaine, 2019)

Skor	Nekrosis	Keterangan
0	Jika tidak ditemukan adanya perubahan lesi sel nekrosis	Normal
1	Jika ditemukan jumlah sel nekrosis sebanyak <25% dari seluruh LP (Lapang Pandang)	Ringan
2	Jika ditemukan jumlah sel nekrosis sebanyak 26-70% dari seluruh LP (Lapang Pandang)	Sedang
3	Jika ditemukan jumlah sel nekrosis sebanyak 71-100% dari seluruh LP (Lapang Pandang)	Berat

**Tabel 3. 2** Skoring Nekrosis (Solfaine, 2019)

Skor	Infiltrasi sel radang	Keterangan
0	Tidak ada lesi/ perubahan sel radang	Normal
1	Jika ditemukan adanya jumlah sel radang sebanyak <33% dari seluruh LP (Lapang Pandang)	Ringan
2	Jika ditemukan adanya jumlah sel radang sebanyak 34-66% dari seluruh LP (Lapang Pandang)	Sedang
3	Jika ditemukan adanya jumlah sel radang sebanyak 67-100% dari seluruh LP (Lapang Pandang)	Berat

**Tabel 3. 3** Skoring Infiltrasi Sel Radang (Baris, et al., 2016)

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji data non parametrik *Kruskal Solutions dan* (SPSS) untuk mengetahui adanya perbedaan pada kelompok perlakuan. Jika ada pengaruh yang signifikan, uji *Mann-Whitney* dilakukan dengan rancangan acak lengkap.

## HASIL

### Skoring Histopatologi

Data pada penelitian ini diperoleh berdasarkan analisis histopatologi trakea tikus *Wistar (Rattus norvegicus)* menggunakan metode skoring. *Kruskal-Wallis Test* pada kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), perlakuan pertama (P1), perlakuan kedua (P2) bagian kerusakan sel hemoragi trakea tikus *Wistar (Rattus norvegicus)* menunjukkan nilai probabilitas (Sig.) =  $\geq 0.05$  yang menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata pada data tersebut. Perubahan histopatologi sel nekrosis pada trakea tikus *Wistar (Rattus norvegicus)* menunjukkan nilai probabilitas (Sig.) = 0.001 yaitu  $0.001 < 0.05$  maka terdapat perbedaan yang nyata pada data tersebut. Perubahan histopatologi infiltrasi sel radang pada trakea tikus *Wistar (Rattus norvegicus)* menunjukkan nilai probabilitas (Sig.) = 0.001 yaitu  $0.001 < 0.05$  yang menyatakan terdapat perbedaan nyata pada data tersebut.

Kelompok	Bentuk Lesi (Mean $\pm$ Std. deviation)		
	Hemoragi	Nekrosis	Infiltrasi sel radang
K-	3.00 <sup>a</sup> $\pm$ 0.00	1.00 <sup>a</sup> $\pm$ 0.00	1.00 <sup>a</sup> $\pm$ 0.00
K+	4.00 <sup>b</sup> $\pm$ 1.095	2.17 <sup>c</sup> $\pm$ 4.08	2.17 <sup>c</sup> $\pm$ 4.08
P1	4.00 <sup>b</sup> $\pm$ 1.095	2.00 <sup>b</sup> $\pm$ 0.00	2.00 <sup>b</sup> $\pm$ 0.00
P2	3.33 <sup>ab</sup> $\pm$ 8.16	1.50 <sup>ab</sup> $\pm$ 5.48	1.50 <sup>ab</sup> $\pm$ 5.48

**Tabel 4.2** Rerata skoring hemoragi, nekrosis, dan infiltrasi sel radang

**Keterangan:** Superskrip yang berbeda menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ). Sedangkan superskrip yang sama menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata ( $P > 0.05$ ).

Menurut Solfaine (2019), tingkat kerusakan pada histopatologi suatu organ dapat diketahui dengan menggunakan metode skoring. Metode skoring ini dapat dilakukan dengan menganalisis derajat kerusakan atau tingkat kerusakan dalam jumlah lesi yang ada. Derajat atau tingkat kerusakan pada lesi tersebut diberi rentang 0 hingga 8.

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* didapat hasil ( $P < 0,05$ ) pada parameter Nekrosis dan Infiltrasi sel radang, dapat disimpulkan bahwa hipotesis  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima, sehingga ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) menyebabkan efek pada gambaran histopatologi trakea tikus *Wistar*. Sedangkan pada parameter Hemoragi didapat hasil ( $P > 0,05$ ) dapat disimpulkan bahwa hipotesis  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak.

**Tabel 4.1.** Tabel hasil uji *Kruskal-Wallis* berbagai parameter.

Parameter	Hemoragi	Nekrosis	Infiltrasi radang
Asymp. Sig.	0,156	0,001	0,001

### Hemoragi

Lesi hemoragi ditandai oleh adanya sel darah merah dalam jaringan dan diluar pembuluh darah (Berata dkk., 2019). Berdasarkan pengamatan struktur histopatologi secara menyeluruh pada organ trakea tikus *Wistar* (*Rattus norvegicus*), termasuk kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), perlakuan pertama (P1), dan perlakuan kedua (P2), yang menunjukkan adanya sel yang mengalami radang berwarna merah menunjukkan hemoragi dalam lesi tersebut.

Pada Tabel 4.2, hasil rata-rata menunjukkan bahwa lesi histopatologi hemoragi tertinggi pada kelompok kontrol positif (K+) dan perlakuan pertama (P1) memiliki nilai tertinggi sebesar 4.00, sedangkan lesi terendah pada kelompok kontrol negatif (K-) sebesar 3.00. Hasil analisis menggunakan metode *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan perlakuan dan dosis ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) untuk lesi hemoragi terdapat hasil kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), perlakuan pertama (P1), dan perlakuan kedua (P2) memiliki nilai yang menunjukkan tidak ada perbedaan secara signifikan, nilai probabilitas (Asymp. Sig) pada kelompok P1 dan K+, P1 dan P2, K- dan K+, P2 dan K-, menunjukkan  $> 0.05$ , maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak yang artinya tidak terdapat perbedaan efektifitas yang signifikan.

### Nekrosis

Kematian sel jaringan yang diakibatkan oleh jejas saat individu masih hidup biasa disebut dengan nekrosis (Suhita dkk., 2013). Terdapat beberapa perubahan yang dapat diamati pada inti sel yang mengalami kematian atau (nekrosis) yakni piknosis (kromatin menggumpal dan pepadatan inti sehingga inti menjadi lebih kecil dan gelap), karioreksis (pecahnya membran inti akibat pepadatan inti

yang terus berkelanjutan, mengakibatkan bongkahan-bongkahan kromatin pada sitoplasma), dan kariolisis (pelarutan enzymatic kromatin hingga inti terlihat hanya sebagai ruang kosong yang dikelilingi membrane inti) (Solfaine, 2019).

Pengamatan struktur histopatologi secara menyeluruh pada trakea tikus *Wistar* (*Rattus norvegicus*) dari kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), perlakuan pertama (P1), perlakuan kedua (P2). Lesi tersebut menunjukkan adanya perubahan nekrosis, yang ditandai dengan inti sel mengecil hingga sel mengalami lisis.

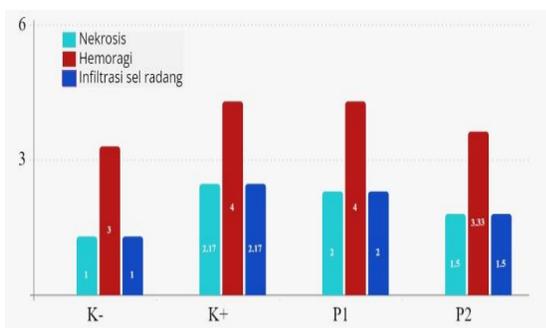
Hasil rata-rata pada Tabel 4.2 lesi histopatologi nekrosis tertinggi yaitu pada perlakuan kontrol positif (K+) sebesar 2.17, sedangkan yang terendah yaitu pada perlakuan kontrol negatif (K-) sebesar 1.00. Hasil analisis dengan metode *Mann-Whitney* digunakan untuk melihat adanya perbedaan perlakuan dan dosis ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) untuk lesi nekrosis terdapat hasil kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), perlakuan pertama (P1), perlakuan kedua (P2), dimana terdapat nilai yang menyatakan adanya perbedaan secara signifikan antara lain yaitu P1 dengan K-, P2 dengan K-, K+ dengan K-, menunjukkan nilai probabilitas (Asymp. Sig)  $< 0.05$ , artinya  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima dimana efektifitas terdapat perbedaan yang signifikan.

### Infiltrasi sel radang

Tubuh mengalami gangguan metabolisme yang dapat menyebabkan infiltrasi sel radang oleh senyawa toksik, radikal bebas dan senyawa berbahaya lainnya. Infiltrasi sel radang secara mikroskopik pada sel maupun jaringan ditandai dengan adanya sel radang yang berwarna keunguan di sekitar sel maupun jaringan (Cahyani dkk., 2021).

Pengamatan struktur histopatologi secara menyeluruh pada organ trakea tikus *Wistar* (*Rattus norvegicus*), termasuk kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), perlakuan pertama (P1), dan perlakuan kedua (P2), yang menunjukkan adanya sel yang mengalami radang berwarna keunguan menunjukkan infiltrasi sel radang dalam lesi tersebut.

Berikut grafik rata-rata skor histopatologi kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), perlakuan pertama (P1), dan perlakuan kedua (P2), berdasarkan perubahan lesi hemoragi, nekrosis, dan infiltrasi sel radang.

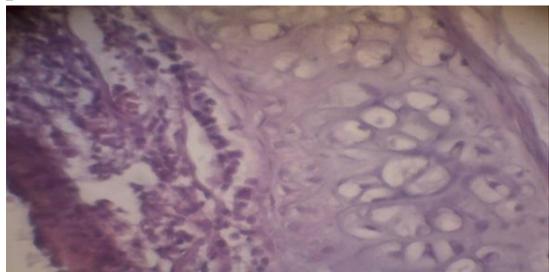


**Gambar 4.1** Grafik hasil rerata (mean) dari skoring sel hemoragi, sel nekrosis, dan infiltrasi sel radang pada masing-masing perlakuan.

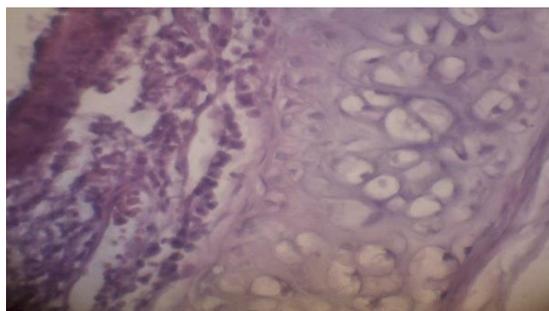
Pada Tabel 4.2, hasil rata-rata menunjukkan bahwa lesi histopatologi infiltrasi sel radang tertinggi pada kelompok kontrol positif (K+) sebesar 2.17, sedangkan lesi terendah pada kelompok kontrol negatif (K-) sebesar 1.00. Hasil analisis dengan metode Mann-Whitney digunakan untuk melihat adanya perbedaan perlakuan dan dosis ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*), kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), perlakuan pertama (P1), perlakuan kedua (P2), dimana terdapat nilai yang menyatakan adanya perbedaan secara signifikan antara lain yaitu P1 dengan K-, P2 dengan K-, K+ dengan K-, menunjukan nilai probabilitas (Asymp. Sig) < 0.05, artinya H0 ditolak dan H1 diterima dimana efektivitas terdapat perbedaan yang signifikan.

#### a. Gambar Histopatologi Trakea

Berikut adalah gambar hasil pemeriksaan histopatologi organ trakea tikus *Wistar* (*Rattus norvegicus*) dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x.



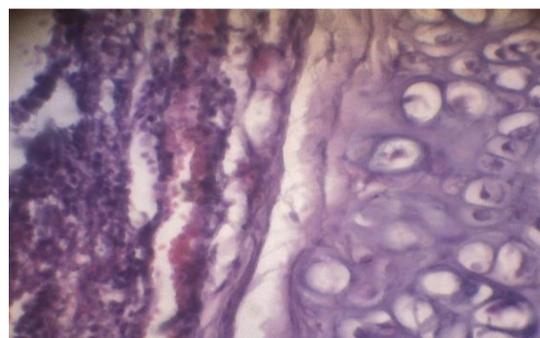
**Gambar 4.2** Gambaran histopatologi jaringan trakea pada kelompok kontrol negatif (K-), terdapat lesi infiltrasi sel radang (panah hitam) dan hemoragi (panah merah) (HE: 40x).



**Gambar 4.3** Gambaran histopatologi jaringan trakea pada kelompok kontrol positif (K+), yang menunjukkan gambaran nekrosis (panah merah), Hemoragi (panah biru), Infiltrasi sel radang (panah hijau) (HE: 40x)



**Gambar 4.4** Gambaran histopatologi jaringan trakea pada kelompok perlakuan kesatu (P1), yang menunjukkan lesi infiltrasi sel radang (panah hijau), hemoragi (panah merah) (HE: 40x)



**Gambar 4.5** Gambaran histopatologi jaringan trakea pada kelompok perlakuan kedua (P2), yang menunjukkan lesi infiltrasi sel radang (panah merah), hemoragi (panah orange) (HE: 40x)

## PEMBAHASAN

Buah Mengkudu dipercaya dapat memberikan banyak manfaat untuk segala Kesehatan. Buah mengkudu (*morinda citrifolia*) memiliki berbagai senyawa antioksidan yaitu vitamin C, xeronin, dan proxeronin. Buah mengkudu yang dikonsumsi dapat meningkatkan kadar antioksidan tubuh sehingga dapat melindungi tubuh dari keadaan stress oksidatif dan akibat yang ditimbulkan dari senyawa toksik salah satunya adalah asap rokok (Larassuci, *et al.*, 2013). Asap rokok mengandung radikal bebas yang akan menyebabkan gangguan atau kelainan pada saluran pernafasan salah satunya trakea (Nurliani, *et al.*, 2012). Trakea merupakan organ awal pada saluran pernapasan yang terpapar oleh asap rokok sehingga dapat menyebabkan kerusakan yang terjadi pada struktur histologi trakea seperti mereduksinya silia yang terdapat pada epitel pseudokomplek bersilia, terjadinya hiperplasia sel goblet, memendeknya tinggi epitel, penyempitan diameter lumen trakea (Kristiawan, *et al.*, 2017). Setiap organ yang terkena bahan toksik akan beradaptasi sehingga akan menimbulkan beberapa lesi histopatologi seperti hemoragi, nekrosis, dan infiltrasi sel radang.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan empat perlakuan dengan (K-) sebagai kontrol negatif hanya diberikan aquades dan pakan standar, (K+) sebagai kontrol positif hanya diberikan paparan asap rokok, dan (P1) sebagai perlakuan pertama yang diberikan paparan asap rokok dan ekstrak

buah mengkudu dosis (50 mg/kg BB), (P2) sebagai perlakuan kedua yang diberikan paparan asap rokok dan ekstrak buah mengkudu dosis (75 mg/kg BB). Hasil skoring histopatologi trakea tikus *Wistar* ditemukan beberapa lesi berupa hemoragi, nekrosis, dan infiltrasi sel radang.

### Hemoragi

Hemoragi merupakan kondisi yang ditandai dengan keluarnya darah dari dalam pembuluh darah akibat kerusakan endotel. Eritrosit yang keluar dari pembuluh darah dipecah dengan cepat dan difagositosis oleh sel makrofag yang terdapat di sekitar jaringan yang mengalami peradangan (Price and Wilson, 2006). Gambar mikroskopis trakea tikus *Wistar* (*Rattus norvegicus*) pada semua kelompok perlakuan menunjukkan lesi hemoragi yang cukup tinggi. Menurut Yulinta (2013), hal ini kemungkinan disebabkan penggunaan tikus yang tidak mempunyai SPF (Specific Pathogen Free), sehingga evaluasi tahap awal terhadap pada sampel tidak dilakukan secara terpisah.

Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 50 mg/kgBB (P1), dosis 75 mg/kgBB, menunjukkan hemoragi dengan derajat keparahan yang berat dan sama dengan kelompok perlakuan yang hanya diberi asap rokok (K+) dan kelompok perlakuan yang hanya diberi aquades dan pakan (K-). Pemberian ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dosis 50mg/kgBB (P1) dan 75 mg/kgBB (P2) tidak efektif dalam penurunan lesi hemoragi pada organ trakea, hal ini kemungkinan disebabkan penggunaan tikus yang tidak mempunyai SPF (*Specific Pathogen Free*). Berdasarkan penelitian ini, tikus *Wistar* (*Rattus norvegicus*) yang diberi asap rokok dan diberikan ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dengan dosis 50 mg/kgBB (P1), 75 mg/kgBB (P2), dan dua perlakuan kontrol tidak mengalami perubahan histopatologi lesi hemoragi pada trakea. Ditunjukkan bahwa H0 diterima dan H1 ditolak, berdasarkan hasil ( $P > 0,05$ ) dan tidak terdapat perbedaan nyata pada data tersebut.

### Nekrosis

Nekrosis merupakan kematian sel/jaringan yang terjadi akibat proses degenerasi yang ireversibel. Secara makroskopik sel/jaringan yang mengalami nekrosis ditandai keputihan, jaringan melunak dan tampak ada demarkas (pembatas) dengan jaringan yang sehat (Brata, et al., 2011).

Pemberian ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dengan dosis 75 mg/kgBB menunjukkan nekrosis mikroskopis yang lebih ringan jika dibandingkan dengan tikus yang hanya diberi asap rokok saja, sehingga ekstrak buah mengkudu dosis rendah dapat

meningkatkan pemulihan atau daya tahan sel penyusun trakea. Ekstrak buah mengkudu dosis 200 mg/kgBB, mengandung zat aktif lebih banyak dibandingkan dengan ekstrak buah mengkudu dosis 50 mg/kgBB. Oleh karena itu, tikus *Wistar* yang diberi ekstrak buah mengkudu dengan dosis 75 mg/kgBB, mempunyai zat aktif yang lebih tinggi untuk memperbaiki gambaran mikroskopik sel penyusun trakea. Berdasarkan penelitian ini, perubahan histopatologi yang diberi asap rokok pada lesi nekrosis trakea tikus *Wistar* (*Rattus norvegicus*) dan ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dosis 50 mg/kgBB (P1), 75 mg/kgBB (P2), dan 2 perlakuan kontrol yaitu negatif dengan aquades dan positif dengan asap rokok. Hal tersebut menunjukkan hasil ( $P < 0,05$ ) sehingga di simpulkan bahwa perlakuan ini signifikan dan berbeda nyata dimana H0 ditolak dan H1 diterima.

### Infiltrasi Sel Radang

Peradangan merupakan gejala umum yang menjadi ciri pathogenesis yang disebabkan karena terhirupnya suatu partikel yang masuk ke dalam sistem pernafasan. Perubahan histologi yang terjadi pada organ trakea jika terkena paparan nikotin dalam rokok elektrik akan meningkatkan infiltrasi sel radang dalam organ trakea sehingga beresiko terhadap kerusakan jaringan (Purnama, 2020).

Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 50 mg/kgBB (P1), dosis 75 mg/kgBB, menunjukkan infiltrasi sel radang dengan derajat keparahan yang ringan dan hampir sama dengan kelompok perlakuan yang hanya diberi asap rokok (K+). Pemberian ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dosis 75 mg/kgBB (P2) mengalami lesi infiltrasi sel radang yang lebih optimum dibandingkan dengan (P1). Berdasarkan penelitian ini, tikus *Wistar* (*Rattus norvegicus*) yang diberi asap rokok dan diberikan ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dengan dosis 50 mg/kgBB (P1), 75 mg/kgBB (P2), dan dua perlakuan kontrol mengalami perubahan histopatologi lesi infiltrasi sel radang pada trakea. Ditunjukkan bahwa H0 ditolak dan H1 diterima, berdasarkan hasil ( $P < 0,05$ ) dan terdapat perbedaan nyata pada data tersebut.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian terhadap efek ekstrak buah mengkudu dapat disimpulkan bahwa:

1. Berdasarkan hasil uji *kruskal wallis* menunjukkan nilai probabilitas ( $\text{sig.}$ )  $< 0,05$  pada lesi nekrosis dan infiltrasi sel radang maka terdapat perbedaan yang nyata pada data tersebut. Sedangkan pada lesi hemoragi menunjukkan nilai probabilitas ( $\text{sig.}$ )  $\geq 0,05$  maka tidak terdapat perbedaan yang nyata pada data tersebut.

Pada uji *Mann-whitney* terdapat nilai probabilitas (sig.) < 0.05 yaitu terdapat perbedaan yang nyata dan (sig.) ≥ 0.05 yaitu terdapat perbedaan yang tidak nyata. Pada penelitian ini ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) memperlihatkan adanya penurunan hemoragi, nekrosis, dan infiltrasi sel radang pada histopatologi organ trakea tikus *Wistar* yang diberi paparan asap rokok

2. Penggunaan ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dengan dosis 75mg/kgBB lebih efektif dari pada dosis ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) 50mg/kgBB.

## REFERENSI

- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan kandungan senyawa aktif yang berpotensi sebagai bahan antifertilitas*. Edisi ke-1. Jakarta: Penerbit Adabla Press. Hal, 4-5.
- Alviventiasari S, R. I. Z. K. A., Ismail, A., dan Susilaningsih, N. 2012. Pengaruh Pemberian Dosis Bertingkat Jus Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L) Terhadap Jumlah Eritrosit Tikus Galur *Wistar* (*Rattus Norvegicus*) Yang Diberi Paparan Asap Rokok (*Doctoral Dissertation, Fakultas Kedokteran*).
- Arimbi, A. Azmijah, R. Darsono, H. Plumeriastuti, T. V. Widiyanto Dan D. Legowo. 2013. *Buku Ajar Patologi Umum Veteriner Edisi 2*. Airlangga University Press. Surabaya
- Arkeman H, David. 2006. *Efek Vitamin C Dan E Terhadap Sel Goblet Saluran Nafas Pada Tikus Akibat Paparan Asap Rokok*. *Universal Medicina* 25 (2). 61-66.
- Ayanblu F, Wang MY, Peng L, Nowicki J, Anderson G, Nowiciki D. 2006. Antithrombotic Effect Of *Morinda Citrifolia* (Noni) Fruit Juice On The Jugular Vein Thrombosis Induced By Ferric Chloride In Male Adult SD Rats. *Arteriosclerosis Thrombosis And Vascular Biology* ;26
- Baris, S. A., Vural, C., Yaprak, B., Onyilmaz, T., Tuncel, D., Vatansever, S., and Yildiz, F. 2016. *The Effects Of Sildenafil On Smoke Induced Lung Inflammation In Rats*. *The Malaysian Journal of Pathology*, 38(1), 39.
- BPOM Badan Pengawas Obat Dan Makanan. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. Perka BPOM Nomor 875 Tahun 2014.
- Berata, I. K., Winaya, I. B. O., Adi, A. A. A. M., Adnyana, I. B. W., 2019. *Patologi Veteriner Umum*. Cetakan ke-5. Swasta Nulus. Denpasar.
- Berata, I. K., Winaya, I. B. O., Adi, A. A. A. M., Adnyana, I. B. W., dan Kardena, I. M. 2011. *Patologi Veteriner Umum*. Swasta Nulus. Denpasar.
- Cahyani, D., Maliza, R., Setiawan, H. 2021. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffe arabica* L.) Terhadap Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Dengan Etanol. *JBNS. 1(1)*: 12-20.
- Char, Md., 2005. *The Patophysiology Of Acute Coronary Syndromes*. *J. Emergency Medicine Cardiac Research*. 1(1):1- 6.
- Cronquist, A., 1981. *An Integrated System Of Classification Of Flowering Plant*. Columbia University Press, New York.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan: Jakarta.
- Dju, F. 2020. Uji Aktivitas Analgesik Tunggal Dan Kombinasi ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidiumguajava* L) Dan Daun Sirsak (*Annonamuricata*) Pada Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Asam Asetat. (*Doctoral Dissertation, Universitas Citra Bangsa*)
- Dewi, F.K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar . *Universitas Sebelas Maret*.
- Gartner, L. P., and Hiatt, J. L, 2012. *Atlas Berwarna Histologi, Edisi Ke-5*. Tangerang Selatan, Binarupa Aksara, 374-375
- Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., And Rakesh D.D., 2008. *An Overview Of Extraction Techniques For Medicinal And Aromatic Plants*. Trieste: ICS-UNIDO.21-54
- Hansel TT & Barnes PJ. 2004. *An Atlas of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*.
- Researchgate.Net. London: Parthenon
- Hermawan, I. P. 2016. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana* Linn) Terhadap Nekrosis Glomerulus Dan Tubulus Ginjal Mencit Jantan (*Mus Musculus*) Yang Di Papar Asap Rokok* (*Doctoral Dissertation, Universitas Airlangga*).
- Hidayah, N., Mussa, O. R. P. A., Solfaine, R., & Utomo, Y. S. 2020. Perbandingan

- Paparan Asap Rokok Konvensional dan Rokok Herbal pada Mencit (*Mus musculus*) Terhadap Perbandingan Gambaran Histologi Paru. *VITEK: Bidang Kedokteran Hewan*, 10, 25-32.
- Juniyanti, A. R., Retnaningsih, A., & Marcellia, S. 2021. Uji Formulasi Sediaan Lotion Dari Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L.) Sebagai Repellan Terhadap Nyamuk *Aedes Aegypti*. *Journal Of Pharmacy And Tropical Issues*, 1(02), 28-37.
- INDONESIA, R. 2011. *Pedoman Pengembangan Kawasan Tanpa Rokok*. Pusat Promosi Kesehatan. Jakarta.
- Illing, I., Safitri, W., Dan Erfiana, E. 2017. *Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengen*. *Dinamika*, 8 (1), 66-84.
- Juanda, S. J., & Edo, S. I. 2018. Histopatologi insang, hati dan usus ikan lele (*Clarias gariepinus*) di kota kupang, nusa tenggara timur (Gill, Liver and Gut's Histopathology of Catfish (*Clarias gariepinus*) in Kota Kupang, East West Nusa). *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 14(1), 23-29.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Permenkes Ri No. 6 Tahun 2016 Tentang *Formularium Obat Herbal Asli Indonesia*. Jakarta: Depkes Ri; 2016. Hlm. 169-172.
- Kiernan JA. 2015. *Histological and histochemical methods: theory and practice*. 5th. Edition, Scion Publishing, Banbury-United King. Pp. 330-334.
- Krinke, G. J. 2000. *The Hand Book of Laboratory Animal*. The Laboratory Rat. Midas Printing Ltd : Scotland. 349-353.
- 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*.
- Larassuci, F. D., Annisah, F., Aviani, R., Rizky, S. M., Dan Nurhidayah, S. 2013. Efek Proteksi Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) Terhadap Jumlah Spermatid Testis Mencit (*Mus Musculus*) Yang Dipapar Asap Rokok. In Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional Program Kreativitas Mahasiswa- Penelitian 2013. *Indonesian Ministry Of Research, Technology And Higher Education*.
- Marwan, Widjajanto E, Karyono S. 2005. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Jinten Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Kadar Gsh, Mda, Jumlah Serta Fungsi Sel Makrofag Alveolar Paru Tikus Wistar Yang Dipapar Asap Rokok Kronis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 21(3):111-21.
- Marieb E, Hoehn K. 2007. *Human Anatomy & Physiology*. Edisi Ke-7. Pearson: Benjamin Cumings.
- Mescher AL. 2012. *Histologi Dasar Junqueira Teks Dan Atlas*. Edisi Ke-11. Jakarta: EGC.
- Milo, L. M. A. O., Widi, A. Y., dan Tangkonda, E. 2020. Gambaran Histopatologi Sinus Infraorbitalis Dan Trakea Ayam Yang Menunjukkan Gejala Snot Pada Peternakan Ayam Di Kabupaten Kupang. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 3(2), 145-155.
- Meigaria, K. M, Mudianta I. W., dan Martiningsih, N. W 2016. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton Daun Kelor (*Moringa Oleifera*). *Jurnal: Wahana Matematika Dan Sains*, Vol. 10, No. 2
- Mescher, A. L. 2012. *Histologi Dasar Junqueira Edisi 12*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Moore KL, Anne MRA. 2013. *Anatomi Klinis Dasar*. Jakarta: Hipokrates Muliarta, I. K. G., Sriwahyuni, E., dan Yuliahwati, Y. 2009. Pemberian Kombinasi Vitamin C Dan E Peroral Memperbaiki Kerusakan Hepar Akibat Paparan Rokok Kretek Sub Kronik. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 25(1), 23-27.
- Murray M.T. 2000. *Noni Juice - The Passing of Another Panacea*. *Natural Medicine Online*, 3(2): 3.
- Muthiadin, C., Zulkarnain, Z., & Hidayat, A. S. 2020. Pengaruh Pemberian Tuak Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit (*Mus Musculus*) ICR Jantan. *Jurnal Pendidikan Matematika Dan IPA*, 11(2), 193-205.
- Myres P, Armitage D. 2004. *Rattus Novergicus Animal Diversity*. [Diakses: 16 Desember 2017].
- Nurliani, A., Santoso, Dan Rusmiati. 2012. Efek Antioksidan Ekstrak Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia*) Pada Gambaran Histopatologi Paru-Paru Tikus Yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Bioscientiase*. Volume 9, Nomor I, Hal 60-69.

- Oguntibeju OO, Esterhuyse AJ, Truter EJ. 2010. Possible Role Of Red Palm Oil Supplementation In Reducing Oxidative Stress In HIV/AIDS And TB Patients: A Review. *Journal Of Medical Plant Research*.4(3): 188-196.
- Patrick S & Villano J. 2012. *The Laboratory Rat*. Edisi Ke-2. New York: CRC Press. Hlm 1-28.
- Peterson, P. E. 2003. Continous Improvement of Oral Health in the 21<sup>th</sup> Century. *The World Oral Health Report*. World Health Organization. Switzerland
- Pinem, N. L., Adi, A. A. A. M., dan Winaya, I. B. O. 2016. Perubahan Histopatologi Saluran Pernapasan Bagian Atas Mencit (*Mus Musculus*) Akibat Paparan Asap Obat Nyamuk Bakar. *Indonesia Medicus Veterinus*. Agustus, 5(4), 311- 318.
- Prasetyo, D. Y. B., Darmanto, Y. S., Swastawati, F., Agustini, T. W., Wibisono, G., Dan Setyastuti, A. I. 2020. Analisa Keamanan Pangan Secara In Vivo Ikan Bandeng Asap Cabut Duri Dengan Asap Cair. *Pena Akuatika: Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 19(2).
- Prasthio, R., Yohannes, Y., & Devella, S. 2022. Penggunaan Fitur HOG Dan HSV Untuk Klasifikasi Citra Sel Darah Putih. *Jurnal Algoritme*, 2(2), 120-132.
- Price S. A, Wilson L. M. 2006. *Patofisiologi*. Edisi VI. Vol:1. Jakarta: EGC
- Purnama, T. E., & Fikri, F. 2020. Pengaruh Paparan Uap Rokok Elektrik Terhadap Gambaran Histopatologi Organ Pulmo Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medik Veteriner*, 3(1), 38-44.
- Rohmani, A., Yazid, N., dan Rahmawati, A. A. 2018. Rokok Elektrik Dan Rokok Konvensional Merusak Alveolus Paru. *In Prosiding Seminar Nasional Unimus* (Vol. 1).
- Rosmaidar, R., Dan Nazaruddin, N. 2017. Pengaruh Paparan Timbal (Pb) Terhadap Histopatologis Usus Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) The Effect Of Lead (Pb) Exposure To The Histopathology Of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) Intestine. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 2(1), 12-16.
- Sari, C. Y. 2015. Penggunaan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*.) Untuk Menurunkan Tekanan Darah Tinggi. *Jurnal Majority*, 4(3).
- Susanty, Dan Fairus Bachdim. 2016. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea Mays L.*)*. Jakarta: Universitas Islam Negeri.
- Suhita, N. L. P. R., Sudira, I. W. dan Winaya, I. B. O. 2013. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. *Buletin Veteriner Udayana*. 5(1): 63-69.
- Solfaine, R. 2019. *Patologi Veteriner Patogenesis Dasar Penyakit Hewan*. Sleman: Proyeksi Indonesia.
- Solfaine, R. 2011. *Pengantar Patologi Veteriner I*. Kopi. Yogyakarta.
- Snell R S. 2012. *Anatomi Klinis*. Edisi Ke-9. Jakarta: EGC.
- Tantri, S. 2021. Hubungan Jenis Rokok Dan Derajat Merokok Terhadap Status

