

Artikel Penelitian

Pemberian Buah Kawista Menghambat Peningkatan Kadar *Malondialdehid* Serum Tikus Wistar yang Dipapar Asap Rokok

Kawista Fruit Prevents the Increase of Serum Malondialdehyde Level in Wistar Rats Exposed to Cigarette Smoke

Kristian Triatmaja R¹, Bambang Wirjatmadi², Merryana Adriani²

¹Politeknik NSC Surabaya

²Departemen Gizi Masyarakat Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga Surabaya

ABSTRAK

Asap rokok merupakan sumber radikal bebas (oksidan) yang dapat meningkatkan terjadinya peroksidasi lipid membran sel. *Malondialdehid* (MDA) adalah salah satu produk akhir dari peroksidasi lipid, digunakan sebagai biomarker stres oksidatif. Buah kawista (*Limonia acidissima* Linn) memiliki senyawa fenolik antara lain *flavonoid* dan tanin yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian buah kawista secara preventif, untuk menghambat peningkatan kadar *malondialdehid* serum tikus Wistar yang dipapar asap rokok. Studi eksperimental menggunakan *post-test only group design*, dengan rancangan acak lengkap, pada tikus Wistar jantan sebanyak 25 ekor, perlakuan selama 35 hari. Tikus dibagi dalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan), kontrol positif (dipapar asap rokok), kelompok P1 (asap rokok dan buah kawista dosis 500mg/kg BB), kelompok P2 (asap rokok dan buah kawista dosis 600mg/kg BB), kelompok P3 (asap rokok dan buah kawista dosis 700mg/kg BB). Hasil penelitian menunjukkan bahwa buah kawista yang diberikan secara preventif pada ketiga dosis, dapat menghambat peningkatan kadar *malondialdehid* serum tikus yang dipapar asap rokok ($p=0,000$). Kadar *malondialdehid* serum terendah terlihat pada dosis 700mg/kg BB. Dapat disimpulkan bahwa pemberian buah kawista secara preventif, dapat menghambat peningkatan kadar *malondialdehid* serum tikus Wistar yang dipapar asap rokok.

Kata Kunci: Antioksidan, asap rokok, buah kawista, *malondialdehid*, peroksidasi lipid

ABSTRACT

Cigarette smoke is a source of free radicals (oxidants) which can increase the occurrence of lipid peroxidation of cell membranes. Malondialdehyde is one of the end products of lipid peroxidation used as a biomarker of oxidative stress. Kawista fruit (*Limonia acidissima* Linn) has phenolic compounds such as flavonoids and tannins that have the potential as antioxidants. This study aimed to find out the effect of Kawista fruit, to prevent the increase of serum malondialdehyde level in Wistar rats exposed to cigarette smoke. This experimental study used *post-test only group design*, with a completely randomized design, in 25 male Wistar rats over a 35 day of treatment. Rats were divided into 5 groups, namely, the negative control group (without treatment), positive control group (exposed to cigarette smoke), group P1 (cigarette smoke and Kawista fruit at a dose of 500 mg/kg BW), group P2 (cigarette smoke and Kawista fruit at a dose of 600 mg/kg BW), group P3 (cigarette smoke and Kawista fruit at dose of 700 mg/kg BW). The results showed that the Kawista fruit was given preventively at the three doses can prevent the increase of malondialdehyde serum level in rats exposed to cigarette smoke ($p=0,000$). The lowest serum malondialdehyde level was seen at a dose of 700 mg/kg BW. It can be concluded that the Kawista fruit can prevent the increase of serum malondialdehyde level in Wistar rats exposed to cigarette smoke.

Keywords: Antioxidant, cigarette smoke, kawista fruit, lipid peroxidation, malondialdehyde

Korespondensi: Kristian Triatmaja R. Politeknik NSC Surabaya, Jl. Basuki Rahmat No.85, Embong Kaliasin, Genteng, Surabaya, Jawa Timur 60271 Tel. (031) 5310331 Email: kristiantraharja@gmail.com

DOI: <http://dx.doi.org/10.21776/ub.jkb.2017.029.03.2>

PENDAHULUAN

Jumlah rokok yang dihisap oleh masyarakat Indonesia terus meningkat, yaitu sebanyak 182 milyar batang pada tahun 2001 dan tahun 2009 menjadi 260,8 milyar batang (1). Merokok merupakan perilaku berisiko untuk terjangkit penyakit kardiovaskular, kanker, tumor, dan penyakit paru obstruksi kronis (PPOK) (2). Hal tersebut diketahui karena dalam asap rokok (fase gas dan partikel) mengandung komponen pengoksidasi, karsinogenik, dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang merusak gen, makromolekul dan membran sel (3). ROS merupakan sumber radikal bebas utama tubuh. Peroksidasi lipid diperantai oleh radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$) yang merupakan senyawa ROS (4). *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) merupakan komponen utama penyusun membran sel, memiliki ikatan rangkap karbon-karbon ($\text{C}=\text{C}$), dan ikatan tersebut melemahkan ikatan karbon-hidrogen, sehingga memudahkan abstraksi hidrogen oleh $\cdot\text{OH}$ (5). Penyusunan ulang elektron tunggal menyebabkan PUFA mengalami degradasi. *Malondialdehid* (MDA) adalah salah satu senyawa yang terbentuk, larut dan dapat dijumpai dalam darah (6).

Diperkirakan golongan ROS yang paling berperan dalam proses terjadinya penyakit adalah radikal superoksida ($\cdot\text{O}_2$), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan $\cdot\text{OH}$. Tubuh mempunyai sistem pertahanan terhadap ROS. Enzim *superoxide dismutase* (SOD), katalase, dan *glutathione peroxidase* (GPx) adalah antioksidan endogen yang berperan dalam meredam efek buruk ROS. Penumpukan $\cdot\text{O}_2$ dicegah oleh enzim SOD, SOD mangan yang terletak di mitokondria, dan SOD tembaga-besi yang ditemukan pada sitosol. Penimbunan H_2O_2 dicegah melalui aktivitas enzim katalase dan GPx. Katalase terutama ditemukan di dalam peroksisom, serta sedikit di dalam fraksi sitosol dan mikrosom sel, sedangkan GPx terdapat dalam sitosol dan mitokondria (7). Jika paparan rokok menetap dan semakin besar, antioksidan endogen tidak mampu menetralkannya. Sebagai akibatnya, terjadi penumpukan $\cdot\text{O}_2$ dan H_2O_2 yang dapat menghasilkan $\cdot\text{OH}$, baik melalui

reaksi *haber weiss* (8) maupun reaksi *fenton* (4). $\cdot\text{OH}$ merupakan golongan ROS yang paling reaktif, yang memicu peroksidasi lipid pada membran sel (4).

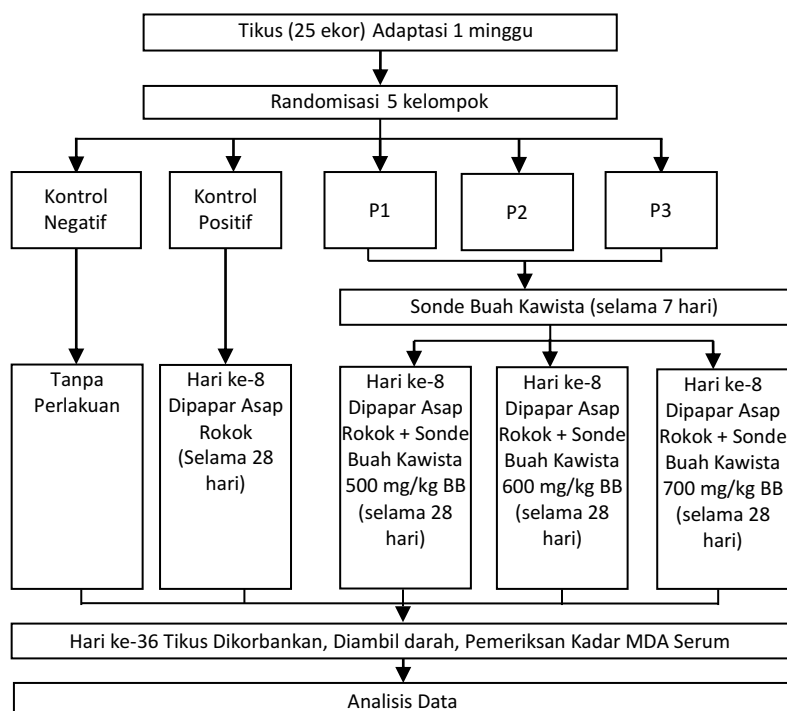
Saat mekanisme pertahanan tubuh tidak mampu meredam ROS yang berlebih, maka dibutuhkan asupan antioksidan. Buah kawista adalah bahan pangan alami yang memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan. Buah kawista mengandung senyawa fenolik, antara lain flavonoid dan tanin (9-11). Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki minimal satu gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik. Adanya cincin aromatik mempengaruhi kestabilan ikatan atom oksigen dengan hidrogen, sehingga senyawa fenolik dapat bertindak sebagai donor atom hidrogen kepada radikal bebas (8). Komponen fenolik bertindak sebagai penampung yang baik terhadap $\cdot\text{O}_2$ dan $\cdot\text{OH}$, yang melindungi lipid membran terhadap reaksi oksidasi yang merusak, sehingga pembentukan *malondialdehid* dapat dicegah (12).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian buah kawista untuk mencegah terjadinya peroksidasi lipid membran sel karena paparan asap rokok, dengan mengukur produk akhirnya yaitu kadar *malondialdehid* serum.

METODE

Desain Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *post-test only group design*, menggunakan rancangan acak lengkap. Tikus yang digunakan sebagai obyek penelitian adalah tikus jantan *Rattus norvegicus* galur Wistar, usia 2-3 bulan, dan berat 180-200 g. Metode pemberian pakan tikus dengan pakan standar protein 17% dan minuman diberikan secara *ad libitum*. Tikus dipelihara dalam kandang, disediakan dua kandang untuk setiap kelompok perlakuan. Ruang tempat kandang dengan ventilasi yang baik, penyiaran normal, suhu dan kelembapan diperhatikan. Penggunaan hewan coba pada penelitian ini telah lolos uji



Gambar 1. Alur penelitian

etik oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga, dengan nomor sertifikat: 358-KEPK.

Tikus sejumlah 25 ekor, dikelompokkan secara random menjadi 5, yaitu kontrol negatif (tanpa perlakuan), kontrol positif (dipapar asap rokok), P1 (asap rokok dan kawista 500mg/kg BB), P2 (asap rokok dan kawista 600mg/kg BB), P3 (asap rokok dan kawista 700mg/kg BB). Perlakuan buah kawista diberikan per oral dengan sonde lambung. Sonde diberikan sehari sekali (pagi hari), dilakukan 1 minggu sebelum dipapar asap rokok, dan tetap berlanjut sampai akhir perlakuan (selama 35 hari). Penelitian ini menggunakan buah kawista matang yang didapat dari pasar buah di Sidoarjo. Buah kawista diambil dan dipisahkan dari bijinya, kemudian ditimbang sesuai dosis yaitu 500, 600, 700mg/kg BB tikus, dilarutkan dengan 1ml aquades/dosis. Paparan asap rokok dimulai pada hari ke-8, sebanyak 2 batang rokok kretek sehari (siang dan sore hari), dilakukan dengan alat *smoking pump* selama 4 minggu. Pada hari ke-36 tikus dikorbankan. Tikus diinjeksi dengan ketalar secara intra muskuler pada paha tikus, saat kondisi teranestesi dilakukan pembedahan untuk mengambil darah dari jantung dengan spuit. Kemudian darah disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, serum dipisahkan dengan komponen darah lain, dilakukan analisis kadar MDA serum dengan pereaksi *thiobarbituric acid* (TBA). Alur penelitian disajikan pada Gambar 1.

Penentuan Dosis Paparan Asap Rokok

Pada penelitian yang sebelumnya, paparan asap rokok kretek 2 batang/hari selama 28 hari, terbukti dapat meningkatkan kadar MDA serum pada tikus Wistar (13). Berdasarkan penelitian tersebut, pada penelitian ini digunakan dosis paparan 2 batang/hari selama 28 hari, menggunakan rokok kretek.

Penentuan Dosis Buah Kawista

Pada penelitian terdahulu, terbukti bahwa dosis buah kawista 600mg/kg BB dapat menurunkan kadar ureum dan kreatinin serum tikus Wistar jantan model diabetes melitus tipe 2, sebagai aktivitas antioksidan (14). Pada penelitian ini digunakan dosis 500, 600, 700mg/kg BB untuk variasi dalam melihat dosis optimal dari buah kawista sebagai antioksidan.

Pembuatan Sediaan Buah Kawista

Penelitian ini menggunakan buah kawista matang (11). Daging buah kawista diambil dan disaring untuk memisahkan buah dari bijinya. Daging buah kawista ditimbang sesuai dosis (500/600/700mg/kg BB), dilarutkan dengan 1ml aquades/dosis, dicampur menggunakan pengaduk. Selanjutnya sediaan diberikan pada kelompok perlakuan melalui sonde lambung (14).



Gambar 2. Buah kawista

Pengukuran Kadar MDA Serum

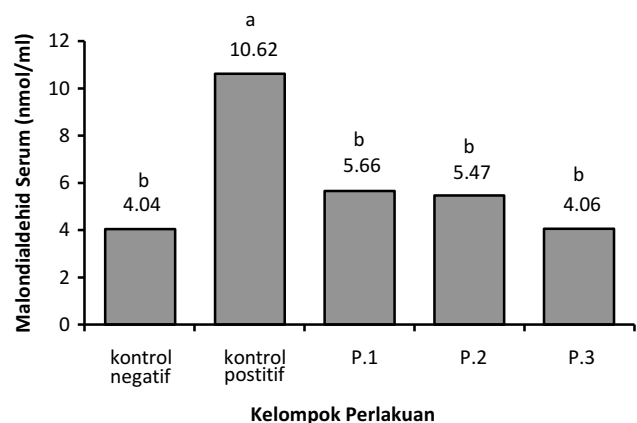
Pengukuran kadar MDA serum menggunakan pereaksi TBA menurut metode Esterbauer dan Cheeseman (15). Sebanyak 0,5ml serum dicampur dengan 4,5ml *phosphate buffer saline* (PBS) dingin, disentrifus selama 15 menit, diambil 4ml supernatan. Ditambahkan 1ml *trichloroacetic acid* (TCA) 15% dan 1 ml TBA. Dipanaskan dalam *waterbath* dengan suhu 80°C selama 15 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang selama 60 menit. Larutan disentrifus selama 15 menit, dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer dengan λ 532 nm. Ditentukan konsentrasi MDA (nmol/ml) berdasarkan kurva standar 1,1,3,3-tetramethoxypropane (16).

Analisis Data

Analisis statistik menggunakan SPSS versi 16.0, uji *Shapiro Wilk* untuk normalitas data, uji *Levene* untuk homogenitas data, uji *one way ANOVA* dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Uji statistik dilakukan dengan taraf kepercayaan 95%.

HASIL

Hasil uji statistik, data berdistribusi normal pada semua kelompok dan varians data homogen ($p=0,472$). Uji *one way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan kadar MDA serum yang bermakna ($p=0,000$). Analisis rerata kadar MDA serum disajikan dalam Gambar 2.



Gambar 3. Rerata kadar MDA serum

Keterangan:

Huruf di atas diagram menunjukkan adanya perbedaan jika huruf berbeda, berdasar uji LSD pada $\alpha=0,05$

Kontrol Negatif = kelompok tikus tanpa perlakuan

Kontrol Positif = kelompok tikus dipapar asap rokok

P.1 = kelompok tikus dipapar asap rokok dan diberi sonde buah kawista 500mg/kg BB

P.2 = kelompok tikus dipapar asap rokok dan diberi sonde buah kawista 600mg/kg BB

P.3 = kelompok tikus dipapar asap rokok dan diberi sonde buah kawista 700mg/kg BB

Gambar 2 menunjukkan adanya peningkatan rerata kadar MDA karena paparan asap rokok, dengan rerata kadar MDA pada kelompok kontrol positif ($10,62 \pm 1,59$ nmol/ml) lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($4,04 \pm 0,90$ nmol/ml). Penurunan rerata kadar MDA serum terlihat pada kelompok P.1 ($5,66 \pm 1,59$ nmol/ml), P.2 ($5,47 \pm 1,26$ nmol/ml), P.3 ($4,06 \pm 0,73$ nmol/ml), dengan rerata kadar MDA serum lebih rendah dibandingkan

dengan kelompok kontrol positif.

Hasil uji LSD kadar MDA serum, menunjukkan ada perbedaan kadar MDA serum yang bermakna antara kelompok kontrol positif, dengan kontrol negatif, nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Perbedaan yang bermakna, juga terlihat antara kelompok kontrol positif dengan kelompok P.1, P.2, dan P.3, nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Sebaliknya antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok P.1 ($p=0,076$), P.2 ($p=0,133$), dan P.3 ($p=0,983$) tidak ada perbedaan bermakna ($p>0,05$). Perbedaan yang tidak bermakna juga terlihat antar kelompok P.1, P.2, dan P.3 ($p>0,05$).

DISKUSI

Pengukuran terhadap kadar MDA serum menunjukkan bahwa rerata kadar MDA serum pada kelompok kontrol positif, berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, di mana rerata kadar MDA serum pada kelompok kontrol positif lebih tinggi. Senada dengan hasil penelitian ini, penelitian yang dilakukan oleh Mansour dkk (17), Lopes dkk (18), dan Marwan dkk (19) menunjukkan bahwa paparan asap rokok meningkatkan kadar MDA tikus. Asap rokok merupakan sumber radikal bebas, yang dapat meningkatkan terjadinya peroksidasi lipid membran sel, sehingga kadar malondialdehid juga meningkat.

Rerata kadar MDA serum pada kelompok perlakuan P.1, P.2, dan P.3, berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif, di mana rerata kadar MDA serum pada kelompok P.1, P.2, dan P.3 lebih rendah. Senada dengan hasil penelitian ini, penelitian yang dilakukan Ilango *et al* (20) mengenai kadar MDA serum pada tikus model diabetes dengan induksi *aloxan*, serta penelitian Vasant *et al* (21) mengenai kadar MDA jaringan hepar dan ginjal tikus dengan induksi flouride yang mendapat perlakuan buah kawista, secara signifikan menunjukkan rerata kadar MDA yang lebih rendah dibanding dengan yang tidak mendapat perlakuan buah kawista. Buah kawista memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan, sehingga melindungi lipid membran dari reaksi oksidasi yang merusak. Berkurangnya kejadian peroksidasi lipid membran sel, menyebabkan berkurangnya kadar malondialdehid serum.

Asap rokok terdiri dari dua bagian yaitu fase gas dan partikulat, yang kesemuanya mengandung radikal bebas (3). Fase gas mengandung radikal dalam bentuk $\cdot O_2$, H_2O_2 , $\cdot OH$, dan nitrogen oksida ($NO\cdot$) (22). Senyawa $\cdot O_2$ dapat bereaksi dengan $NO\cdot$ menghasilkan peroksinitrit ($ONOO\cdot$), kemudian $ONOO\cdot$ dapat bereaksi dengan asam (H^+) menghasilkan asam peroksinitrit ($ONOOH$) yang dapat terdegradasi membentuk $\cdot OH$ (23). Fase partikulat mengandung radikal semiquinone ($\cdot QH$), yang dapat bereaksi dengan oksigen (O_2) menghasilkan $\cdot O_2$. Senyawa $\cdot O_2$ yang telah terbentuk, mengawali terbentuknya H_2O_2 dan $\cdot OH$ melalui reaksi dismutasi (24). Proses tersebut akan menghasilkan ROS berlebih, yang merupakan radikal bebas utama dalam tubuh. Mekanisme meningkatnya ROS karena efek langsung dari asap rokok itu sendiri, dan respon imun yaitu aktivasi sel inflamasi (25).

Secara fisiologis, tubuh juga menghasilkan ROS. Fungsi utama ROS adalah untuk membunuh bakteri dan virus yang masuk ke dalam tubuh. Sumber endogen terbentuknya radikal $\cdot O_2$ di dalam tubuh melalui beberapa mekanisme. Antara lain melalui reaksi yang dikatalis oleh enzim NADPH, reaksi yang dikatalis oleh enzim xantin oksidase, reaksi sampingan yang melibatkan Fe^{2+} , dan pada keadaan khusus

dapat terjadi kebocoran rantai respirasi yang menyebabkan oksigen tereduksi menjadi $\cdot O_2$ (5). Apabila jumlah ROS yang dihasilkan baik secara endogen, maupun eksogen (asap rokok) berlebih di luar kemampuan antioksidan untuk menetralkannya, maka akan terjadi stres oksidatif (26).

Untuk dapat mencegah stres oksidatif karena efek buruk ROS, tubuh mempunyai aktivitas antioksidan endogen. Pada dasarnya tujuan antioksidan ini adalah mencegah terjadinya $\cdot OH$, yang merupakan radikal yang paling berbahaya. Serangkaian enzim bekerja sebagai antioksidan yang mencegah terbentuknya $\cdot OH$. Enzim-enzim ini terletak dekat dengan pembentukan berbagai radikal bebas di dalam sel, *superoxide dismutase* (SOD), katalase, dan *glutathione peroxidase* (GPx). Penumpukan $\cdot O_2$ dicegah oleh enzim SOD, SOD mangan yang terletak di mitokondria, dan SOD tembaga-besi yang ditemukan pada sitosol. Penumpukan H_2O_2 dicegah melalui aktivitas enzim katalase dan GPx. Katalase terutama ditemukan di dalam peroksisom, serta sedikit di dalam fraksi sitosol dan mikrosom sel, sedangkan GPx terdapat dalam sitosol dan mitokondria (7). Jika paparan rokok menetap atau semakin besar, antioksidan endogen tidak mampu menetralkannya. Akibatnya, terjadi penumpukan $\cdot O_2$ dan H_2O_2 yang dapat menghasilkan $\cdot OH$, baik melalui reaksi *haber weiss* (8) maupun reaksi *fenton* (4). $\cdot OH$ merupakan golongan ROS yang paling reaktif, yang memicu peroksidasi lipid pada membran sel (4).

Membran sel disusun atas fosfolipid yang kaya akan PUFA. PUFA memiliki ikatan rangkap karbon-karbon ($C=C$). Ikatan rangkap ini melemahkan ikatan karbon-hidrogen sehingga memudahkan abstraksi atom hidrogen oleh $\cdot OH$. Terdapat 3 tahap utama reaksi peroksidasi, yaitu inisiasi, pengembangan, dan degradasi. Pada tahap inisiasi, $\cdot OH$ mengabstraksi sebuah atom hidrogen dari PUFA (LH), sehingga terbentuk suatu radikal lipid ($L\cdot$). Tahap pengembangan, radikal lipid ($L\cdot$) diperluas dengan penambahan oksigen (O_2), yang membentuk radikal peroksil lipid ($LOO\cdot$) yang akan bereaksi kembali dengan PUFA yang lain, untuk mengabstraksi atom hidrogen menghasilkan peroksida lipid ($LOOH$) dan radikal lipid ($L\cdot$). Tahap degradasi, penyusunan ulang elektron tunggal menyebabkan lipid mengalami degradasi, MDA adalah salah satu hasilnya (5).

Saat terjadi stres oksidatif, karena sistem antioksidan endogen yaitu enzim SOD, katalase, dan GPx tidak dapat meredam efek buruk ROS, maka dibutuhkan asupan antioksidan. Buah kawista adalah bahan pangan alami yang memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan. Buah kawista mengandung senyawa fenolik, antara lain *flavonoid* dan tanin (9-11). Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki minimal satu gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik. Adanya cincin aromatik mempengaruhi kestabilan ikatan atom oksigen-hidrogen, sehingga senyawa fenolik dapat bertindak sebagai donor atom hidrogen kepada radikal bebas (8). Komponen fenolik bertindak sebagai penampung yang baik terhadap $\cdot O_2$ dan $\cdot OH$, yang melindungi lipid membran terhadap reaksi oksidasi yang merusak, sehingga peningkatan kadar *malondialdehid* dapat dicegah (12,27).

Pada penelitian ini terbukti bahwa pemberian buah kawista pada dosis 500, 600, 700mg/kg BB, dapat mencegah terbentuknya *malondialdehid* serum tikus yang dipapar asap rokok. Rerata kadar MDA serum pada ketiga kelompok perlakuan buah kawista adalah sama. Hal ini

mungkin terjadi, karena jarak interval dosis terlalu dekat pada masing-masing kelompok perlakuan yaitu 100mg/kg BB. Pada penelitian lebih lanjut yang memanfaatkan buah kawista sebagai antioksidan, dapat menggunakan dosis dengan interval jarak yang lebih lebar, sehingga dapat

diketahui dosis optimal yang dapat digunakan. Terbukti bahwa buah kawista merupakan pangan fungsional dengan bioaktivitas sebagai antioksidan. Diharapkan buah ini dapat dikonsumsi dan dibudayakan kembali, mengingat tanaman buah kawista semakin langka.

DAFTAR PUSTAKA

1. Eriksen M, Mackay J, and Ross H. *The Tobacco Atlas. Fourth edition.* (Online) 2012. <http://www.tobaccoatlas.org>. [diakses tanggal 4 Juni 2014].
2. Ford CL and Zlabek JA. *Nicotine Replacement Therapy and Cardiovascular Disease.* Mayo Clinic Proceedings. 2005; 80(5): 652-656.
3. Yanbaeva DG, Dentener MA, Creutzberg EC, Wesseling G, and Wouters EF. *Systemic Effects of Smoking.* Chest. 2007; 131(5): 1557-1566.
4. Hayashi Y, Ueda Y, Nakajima A, and Mitsuyama Y. *EPR Evidence of Hydroxyl Radical Generation as an Initiator of Lipid Peroxidation in Amyloid β -Protein-Stimulated PC12 Cells.* Brain Research. 2004; 1025(1-2): 29-34.
5. Catala A. *A Synopsis of the Process of Lipid Peroxidation Since the Discovery of the Essential Fatty Acids.* Biochemical and Biophysical Research Communications. 2010; 399(3): 318-323.
6. Zhang G, Tang Y, Shi X, et al. *A Chemiluminescence Method to Detect Malondialdehyde in Plasma and Urine.* Analytical Biochemistry. 2013; 443(1): 16-21.
7. Sudiana I. *Patobiologi Molekuler Kanker.* Jakarta: Salemba Merdeka; 2008; Hal. 27-42.
8. Michalak A. *Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing Under Heavy Metal Stress.* Polish Journal of Environmental Studies. 2006; 15(4): 523-530.
9. Darsini DTP, Maheshu V, Vishnupriya M, Nishaa S, and Sasikumar JM. *Antioxidant Potential and Amino Acid Analysis of Underutilized Tropical Fruit Limonia acidissima L.* Free Radicals and Antioxidants. 2013; 3: S62-S69.
10. Phapale R and Misra-Thakur S. *Antioxidant Activity and Mutagenic Effect of Phenolic Compounds Feronia limonia Swingle Fruit.* International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2010; 2(4): 6873.
11. Dewi R. *Bioktivitas Buah Kawista (Limonia acidissima) Bima dan Penentuan Sidik Jarinya menggunakan Kromatografi Lapis Tipis.* [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor. 2013.
12. Samak G, Shenoy RP, Manjunatha SM, and Vinayak KS. *Superoxide and Hydroxyl Radical Scavenging Actions of Botanical Extracts of Wagatea spicata.* Food Chemistry. 2009; 115(2): 631-634.
13. Dao LH. *Analisis Pemberian Ekstrak Bunga Rosela Kering terhadap Penderita Aktifitas Glutamiltransferase dan Kadar Malondialdehyde Serum pada Tikus Jantan Strain Wistar yang Dipapar Asap Rokok.* [Tesis]. Universitas Airlangga, Surabaya. 2012.
14. Rochmah S, Wahyuningsih D, dan Dewi AR. *Efek Buah Kawista (Limonia Acidissima L.) terhadap Kadar Ureum dan Kreatinin Serum Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2.* [Skripsi]. Universitas Islam Malang, Malang. 2012.
15. Esterbauer H and Cheeseman KH. *Determination of Aldehydic Lipid Peroxidation Products: Malonaldehyde and 4-Hydroxynonenal.* Methods in Enzymology. 1990; 186: 407-421.
16. Erdemir F, Parlaktas BS, Ozyurt H, Boztepe O, Atis O, and Sahin S. *Antioxidant Effect of Melatonin in Systemic Circulation of Rats After Unilateral Testicular Torsion.* Turkish Journal of Medical Science. 2008; 38(1): 1-6.
17. Mansour NAA, Aulani'am, and Kusnadi J. *Garciniamangostana Linn. Pericarp Extract Reduced Malondialdehyde (MDA) Level in Cigarette Smoke Exposed Rats.* International Refereed Journal of Engineering and Science. 2013; 2(9): 1-5.
18. Lopes AA, Ferreira TS, Nesi RT, et al. *Antioxidant Action of Propolis on Mouse Lungs Exposed to Short-Term Cigarette Smoke.* Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2013; 21(24): 7570-7577.
19. Marwan, Widjanto E, dan Karyono S. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Jinten Hitam (Nigella sativa) terhadap kadar GPX, MDA, Jumlah serta Fungsi Sel Makrofag Alveolar Paru Tikus Wistar yang Dipapar Asap Rokok Kronis.* Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2005; 21(3): 111-121.
20. Ilango K and Chitra V. *Antidiabetic and Antioxidant Activity of Limonia acidissima linn.in Alloxan Induced Rats.* Der Pharmacia Lettre. 2009; 1(1): 117-125.
21. Vasant RA and Narasimhacharya AVR. *Alleviation of Fluoride-induced Hepatic and Renal Oxidative Stress in Rats by The Fruit of Limonia acidissima.* Research Report Fluoride. 2011; 44(1): 14-2.
22. Hasnis E, Bar-Shai M, Burbea Z, and Reznick AZ. *Mechanisms Underlying Cigarette Smoke-induced NF-KappaB Activation in Human Lymphocytes: The Role of Reactive Nitrogen Species.* Journal of Physiology and Pharmacology. 2007; 58(5): 275-287.
23. Imaram W, Gresch C, Kim KM, Johnson RJ, Henderson GN, and Angerhofer A. *Radicals in the Reaction between Peroxynitrite and Uric Acid Identified by Electron Spin Resonance Spectroscopy and Liquid Chromatography Mass Spectrometry.* Free Radical Biology & Medicine. 2010; 49(2): 275-281.
24. Stringer KA, Freed BM, and Dunn JS. *Particulate Phase Cigarette Smoke Increases MnSOD, NQO1, and CINC-1 in Rat Lungs.* Free Radical Biology & Medicine. 2004; 37(10): 1527-1533.
25. Block G, Jensen C, Dietrich M, Norkus EP, Hudes M, and Packer L. *Plasma C-reactive Protein Concentrations in Active and Passive Smokers: Influence of Antioxidant Supplementation.* Journal of the American College of Nutrition. 2004; 23(2):

- 141-147.
26. Lykkesfeldt J. *Malondialdehyde as Biomarker of Oxidative Damage to Lipids Caused by Smoking*. Clinica Chimica Acta. 2007; 380(1-2): 50-58.
27. Nasution AS, Wirjatmadi B, dan Adriana M. *Efek Preventif Pemberian Ekstrak Kulit Buah Naga Berdaging Super Merah (Hylocereus costaricensis) terhadap Malondialdehid Tikus Wistar yang Dipapar Asap Rokok*. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2016; 29(1);