

## Pengaruh Pemberian Ekstrak Bekatul Beras Merah Terhadap Perubahan Diameter Lumen Arteri Koronaria Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan galur Sprague-Dawley Yang Diinduksi Paparan Asap Rokok Kretek

Efrida Warganegara<sup>1</sup>, Hanna Mutiara<sup>2</sup>, Ocsi Zara Zettira<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>2</sup>Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>3</sup>Mahasiswa, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

### Abstrak

Asap rokok merupakan sumber radikal bebas eksogen yang dapat menimbulkan peroksida lipid. Proses peroksida lipid mengakibatkan kerusakan membran sel endotel yang berpengaruh terhadap terjadinya penyempitan lumen arteri koronaria. Bekatul merupakan antioksidan yang berasal dari hasil penggilingan padi. Bekatul beras merah memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan bekatul beras putih maupun bekatul beras hitam. Bekatul beras merah mengandung komponen bioaktif  $\gamma$ -oryzanol,  $\alpha$ -tokoferol, senyawa fenol, dan antosianin yang dapat memutus proses peroksida lipid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bekatul beras merah terhadap perubahan diameter lumen arteri koronaria tikus yang diinduksi paparan asap rokok kretek. Penelitian eksperimental dengan menggunakan 25 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu K(-) tidak diberi perlakuan, K(+) diberi paparan 2 batang asap rokok kretek, P1 diberi paparan 2 batang rokok kretek dan ekstrak bekatul beras merah dosis 100 mg/KgBB, P2 diberi paparan 2 batang rokok kretek dan ekstrak bekatul beras merah dosis 200 mg/KgBB dan P3 diberi paparan 2 batang rokok dan ekstrak bekatul beras merah dosis 400 mg/KgBB. Perlakuan dilakukan selama 30 hari. Diameter rerata lumen arteri koronaria pada kelompok K(-), K(+), P1, P2 dan P3 adalah  $56,12 \pm 0,65$ ,  $38,46 \pm 0,82$ ,  $66,94 \pm 2,82$ ,  $79,71 \pm 5,35$ ,  $101,83 \pm 7,46$ . Data dianalisis dengan uji *One Way Anova* didapatkan hasil  $p=0,00$  ( $p<0,05$ ). Uji *Posthoc* menunjukkan perbedaan nyata pada masing-masing kelompok. Pemberian ekstrak bekatul beras merah dapat meningkatkan diameter lumen arteri koronaria tikus putih yang diinduksi paparan asap rokok kretek.

**Kata kunci** : asap rokok kretek, bekatul beras merah, diameter lumen arteri koronaria

## The Effect Of Red Rice Bran Extract On Changes In Lumen Diameter Of Coronary Artery Of Male White Rat (*Rattus norvegicus*) Sprague dawley Strain Induced Exposure To Clove Cigarette Smoke

### Abstract

Cigarette smoke is a source of exogenous free radicals that can cause lipid peroxides. The lipid peroxide process results in endothelial cell membrane damage that affects the occurrence of coronary artery lumen constriction. Bran is an antioxidant derived from the rice mill. Rice bran has a higher antioxidant activity than white rice bran where red rice bran contains bioactive components of  $\gamma$ -oryzanol,  $\alpha$ -tocopherol, phenol compounds, and anthocyanins that can break the lipid peroxide process. This study aims to determine the effect of red rice bran extract on changes in diameter of coronary artery lumen of rats induced exposure to clove cigarette smoke. Experimental research using 25 rats divided into 5 groups of K (-) not treated, K (+) was given exposure 2 cigarette smoke clove, P1 exposed 2 cigarette smoke clove and red rice bran rice extract dose 100 mg / KgBB, P2 was exposed to 2 sticks of kretek smoke and red rice bran extract dose 200 mg / KgBB and P3 was exposed 2 cigarette smoke and red rice bran rice dose 400 mg / KgBB. Treatment was carried out for 30 days. The mean diameter of the coronary artery lumen in groups K (-), K (+), P1, P2 and P3 were  $56.12 \pm 0.65$ ,  $38.46 \pm 0.82$ ,  $66.94 \pm 2.82$ ,  $79.71 \pm 5.35$ ,  $101.83 \pm 7.46$ . The data were analyzed by *One Way Anova* test showed that  $p = 0,00$  ( $p < 0,05$ ). *Posthoc* tests show significant differences in each group. Administration of red rice bran extract may increase the diameter of coronary artery lumen of white rats induced by exposure to clove cigarette smoke.

**Keyword** : clove cigarette smoke, red rice bran, diameter of coronary artery

Korespondensi : Ocsi Zara Zettira, alamat Perum Polri Hajimena Blok B 8 NO. 7 Lampung Selatan, HP 08217599, email ocsizettira@gmail.com

### Pendahuluan

Kebiasaan merokok masih dianggap sebagai gaya hidup untuk sebagian besar masyarakat Indonesia tanpa memahami risiko

kesehatan yang akan dialami baik bagi diri sendiri maupun orang lain di sekitarnya.<sup>1</sup> Indonesia merupakan negara ketiga dengan jumlah perokok terbanyak di dunia setelah

China dan India serta menjadi negara pertama di Asia Tenggara dengan jumlah perokok terbanyak.<sup>2,3</sup> Sedangkan Provinsi di Indonesia dengan proporsi perokok tertinggi adalah Kepulauan Riau sebesar 29,3% dan Provinsi Lampung menempati proporsi tertinggi kedua sebesar 27,2%.<sup>4</sup> Diperkirakan tahun 2025 di Indonesia terdapat 5.675.700 orang merokok setiap harinya mulai usia 15 tahun ke atas.<sup>5</sup>

Rokok kretek adalah rokok yang paling sering dikonsumsi dengan jumlah nikotin dan tar yang lebih tinggi dibandingkan rokok putih. Rokok kretek sering disebut dengan rokok cengkeh.<sup>2</sup> Asap yang dihasilkan rokok kretek lebih banyak dibandingkan rokok putih.<sup>6</sup> Asap tersebut mengandung radikal bebas yang berbahaya bagi kesehatan. Ketika radikal bebas terus menerus masuk ke dalam tubuh maka akan terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan dalam tubuh yang disebut dengan stress oksidatif. Potensi dari adanya keadaan stress oksidatif adalah terbentuknya peroksida lipid yang dapat merusak sel membran endotel.<sup>7,8</sup>

Disfungsi endotel yang terjadi akan mengakibatkan terbentuknya plak aterosklerosis yang dapat menonjol ke arah lumen sehingga lumen arteri koronaria mengalami penyempitan.<sup>8</sup> Oleh karena itu, dibutuhkan antioksidan dari luar tubuh untuk memutus rantai peroksida lipid. Salah satu antioksidan yang memiliki nilai aktivitas antioksidan yang tinggi adalah bekatul.<sup>9</sup>

Bekatul sebagai hasil samping penggilingan padi diperoleh dari lapisan luar beras. Pada penelitian Wulandari tahun 2011 menyebutkan bahwa bekatul diyakini banyak mengandung antioksidan. Bekatul beras merah memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dibandingkan dengan bekatul beras hitam maupun bekatul beras putih. Bekatul beras merah mengandung antioksidan utama yaitu vitamin E yang memiliki 8 isomer terdiri dari 4 tokoferol ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) dan 4 tokotrienol ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) homolog. Tetapi  $\alpha$  tokoferol merupakan isomer vitamin E yang kuat dan potensial yang berfungsi sebagai antioksidan yang memutus rantai peroksida lipid yang terdapat di membran sel dengan cara berikatan dengan radikal lipid dan radikal peroksil lipid sehingga tidak membentuk rantai hidroperoksil lipid yang dapat merusak membran sel.<sup>10,11</sup>

Selain itu, terdapat komponen bioaktif lainnya dari bekatul beras merah yaitu  $\gamma$ -oryzanol, senyawa fenol, dan antosianin. Aktivitas antioksidan dalam  $\gamma$ -oryzanol 8-10 kali lebih tinggi dibandingkan vitamin E.<sup>12</sup> Peran  $\gamma$ -oryzanol juga akan memutus rantai peroksida lipid. Antosianin dan senyawa fenol merupakan senyawa yang berperan untuk memutus peroksidasi lipid. Adanya gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatis pada molekul senyawa fenolik dan antosianin dapat memberikan komponen yang diperlukan sebagai penangkap senyawa radikal hidroperoksil lipid.<sup>12,13</sup>

Dalam kehidupan sehari-hari, bekatul telah banyak digunakan sebagai bahan bakar, bahan makanan, pupuk, obat-obatan, sabun dan pakan. Selain itu, bekatul juga dapat digunakan untuk bahan baku kosmetik dan suplemen kesehatan.<sup>14</sup> Bekatul yang digunakan sebagai bahan makanan antara lain digunakan sebagai bahan pencampur pada pembuatan biskuit dan kue, diawetkan dengan ekstruder sebagai sarapan sereal, dan sebagai minuman yang kaya akan sumber vitamin B15 dalam bentuk kapsul.<sup>15</sup>

## Metode

Penelitian ini merupakan penelitian analitik eksperimental dengan *Post Test Only Control Group Design* dengan membandingkan hasil pada kelompok yang diberi perlakuan dengan kelompok yang tidak diberi perlakuan. Penelitian ini dilakukan di *Pet House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, dan Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Hewan coba dipelihara di *Pet House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dari masa adaptasi, diberi perlakuan hingga terminasi. Penelitian ini akan dilakukan 30 hari pada bulan Oktober-November 2017. Populasi penelitian adalah tikus putih jantan galur Sprague-Dawley berumur 2-3 bulan dengan berat 200-350 gram. Sampel berjumlah 25 ekor tikus putih jantan galur Sprague-Dawley yang diambil menggunakan metode *simple random sampling* dan dikelompokkan dalam 5 kelompok yaitu : 1) Kelompok kontrol negatif (K-): tikus tidak diberikan perlakuan. 2) Kelompok kontrol positif (K+): tikus diberikan

paparan 2 batang rokok kretek selama 30 hari. 3) Kelompok perlakuan 1 (P1): tikus diberi paparan asap rokok dan ekstrak bekatul beras merah 100 mg/KgBB selama 30 hari. 4) Kelompok perlakuan 2 (P2): tikus diberi paparan 2 batang rokok kretek dan ekstrak bekatul beras merah selama 30 hari. 5) kelompok perlakuan 3 (P3): tikus diberi paparan 2 batang rokok kretek dan ekstrak bekatul beras merah selama 30 hari.

Pembuatan ekstrak bekatul dilakukan di Fakultas Pertanian Program studi Teknik Hasil Pertanian dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Bekatul dipanaskan pada suhu 105°C selama 5 menit untuk menginaktivasi enzim lipase yang menyebabkan bekatul mudah berbau tengik.<sup>16</sup> Bekatul beras merah direndam dalam pelarut etanol 96%, pelarut dipersiapkan sesuai dengan perbandingan 1gr: 6 ml selama 7 hari dan diaduk sesering mungkin. Hasilnya di peras dan disaring untuk diambil filtratnya. Filtrat hasil penyaringan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 30°C untuk mendapatkan ekstrak kental bekatul. Setiap 1 kg bekatul utuh menghasilkan ekstrak 31,197 gram.<sup>16</sup>

Tikus putih jantan galur Sprague-Dawley dilakukan paparan radikal bebas dengan menggunakan 2 batang rokok kretek.

Paparan dilakukan di kandang khusus yang diberi celah untuk air pump

dengan spuit 10cc dan dihubungkan oleh selang karet sepanjang 3 cm, dan celah yang digunakan untuk ventilasi udara.<sup>17</sup> Pada penelitian yang dilakukan Syamsulina tahun 2005 menyatakan bahwa paparan asap rokok kretek dengan dosis 2 batang rokok kretek selama 30 hari dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif.<sup>18</sup>

Pada akhir perlakuan, tikus akan dimasukkan dalam toples berisi kapas yang dibasahi eter kemudian ditunggu sampai mati. Setelah itu dilakukan pembedahan untuk mengambil organ arteri koronaria pada tikus. Bangkai tikus dimusnahkan dengan cara pembakaran di Balai Veteriner Bandar Lampung. Selanjutnya dilakuan pembuatan preparat arteri koronaria untuk melihat perubahan diameter lumen di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Proses pengukuran diameter lumen arteri koronaria dilakukan dengan cara setiap lumen arteri koroanria diambil 4 titik yang mewakili kemudian dirata-ratakan.<sup>19</sup>

## Hasil

Diameter rerata lumen arteri koronaria diukur dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Didapatkan rerata diameter lumen arteri koronaria pada tikus putih jantan galur S Sprague-Dawley yang dapat dilihat pada tabel berikut ini.

**Tabel 1. Rerata diameter lumen arteri koronaria .**

	Rerata diameter lumen arteri koronaria tiap sampel dalam $\mu\text{m}$					Rerata tiap kelompok $\pm$ SD
	1	2	3	4	5	
K(-)	56,54	55,34	56,79	56,23	55,52	56,12 $\pm$ 0,65
K(+)	37,92	37,60	39,73	38,731	38,36	38,,46 $\pm$ 0,82
P1	67,54	66,67	69,70	62,30	68,49	66,94 $\pm$ 2,82
P2	73,16	79,60	77,53	87,86	80,42	79,71 $\pm$ 5,35
P3	94,23	99,20	96,18	109,91	109,65	101,83 $\pm$ 7,46

Rerata diameter lumen arteri koronaria terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data Saphiro-Wilk dan didapatkan data berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Selanjutnya data dilakukan uji statistik *one way ANOVA* didapat hasil  $p < 0,05$  yakni sebesar 0,000 yang menandakan bahwa terdapat perbedaan diameter lumen arteri koronaria

yang bermakna pada masing-masing kelompok. Kemudian dilihat juga hasil uji variasi atau homogenitas nya dengan uji homogenitas levene dan didapatkan data rerata diameter lumen arteri koronaria memiliki variasi tidak homogen ( $p < 0,05$ ) artinya paling tidak terdapat dua atau lebih kelompok yang mempunyai rerata diameter lumen arteri koronaria yang berbeda akan bermakna.

Analisis data dilanjutkan untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok dengan dengan uji *posthoc Tamhane's*. Hasil dari uji *post hoc Tamhane's* menyatakan bahwa masing-masing kelompok memiliki perbedaan yang bermakna yaitu  $p < 0,05$ . Jika dilihat dari tabel 1 maka dapat diinterpretasikan bahwa P3 memiliki diameter lumen arteri koronaria yang paling besar dibandingkan K-, K+, P1, dan P2 dan K+ adalah kelompok dengan diameter lumen arteri koronaria paling kecil.

### Pembahasan

Berdasarkan data hasil pengukuran diameter lumen arteri koronaria tikus didapatkan bahwa pada kelompok K+ memiliki rerata diameter lumen arteri koronaria yang paling kecil jika dibandingkan dengan kelompok K-, P1, P2, dan P3 yakni sebesar  $38,46 \pm 0,82 \mu\text{m}$ . Pada hasil foto preparat pada kelompok K+, gambaran dari arteri koronaria terlihat adanya penebalan dinding pembuluh darah sehingga terjadi penyempitan lumen.

Penyempitan lumen arteri koronaria pada kelompok K+ disebabkan oleh pemberian 2 batang rokok kretek selama 30 hari. Asap dari rokok kretek dapat meningkatkan pelepasan asam lemak bebas dari jaringan adiposa yang kemudian akan diambil oleh hati dan diekspektasikan dalam sirkulasi dengan meningkatkan sintesis VLDL. Peningkatan kadar VLDL akan meningkatkan sintesis IDL dan LDL.<sup>20</sup>

Selain itu, asap dari rokok kretek merupakan sumber radikal bebas. Paparan radikal bebas dalam tubuh yang tinggi melebihi yang dapat dikompensasi, maka akan mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Jika paparan radikal bebas terjadi secara terus-menerus dapat menyebabkan pembentukan lipid peroksida yang dapat menyebabkan kerusakan membran sel endotel.<sup>21</sup>

Berdasarkan penjelasan diatas, dapat diartikan bahwa asap rokok kretek dapat menyebabkan terjadinya peroksida lipid dan peningkatan LDL. Dengan terjadinya peningkatan LDL maka mempermudah LDL untuk melekat pada sel endotel yang disfungsi kemudian LDL teroksidasi dan menimbulkan plak aterosklerosis yang merupakan akumulasi lemak, makrofag, dan otot polos pada tunika intima dan tunika media yang merupakan

dinding atau lapisan pembuluh darah. Oleh karena itu, dinding pembuluh darah mengalami penebalan sehingga diameter lumen akan semakin kecil.<sup>22</sup>

Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pemberian 2 batang rokok kretek selama 30 hari dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif pada eritrosit tikus yang dipapar asap rokok. Stress oksidatif yang terjadi pada eritrosit dapat meningkatkan kadar lipid peroksida sebab eritrosit atau sel darah merah memiliki membran yang mengandung asam lemak tak jenuh yang sangat rawan terhadap serangan radikal hidroksil (OH). Apabila asam lemak tak jenuh berikatan dengan OH maka dapat menyebabkan kerusakan sel endotel.<sup>18</sup>

Pada penelitian mengenai kenaikan Malondialdehid (MDA) tikus wistar yang dipapar asap rokok menyatakan bahwa pemberian 2 batang rokok kretek dapat meningkatkan kadar MDA yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid. Tingginya MDA dipengaruhi oleh peroksidasi lipid, yang secara tidak langsung menunjukkan tingginya jumlah radikal bebas.<sup>23</sup>

Pada kelompok K- hanya diberikan pakan standar dan *aquadest* yang bukan merupakan sumber radikal bebas sehingga tidak terjadi kerusakan endotel pembuluh darah. Hasil pada kelompok ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya bahwa kelompok kontrol yang hanya diberikan pakan standar dan *aquadest* menunjukkan gambaran arteri koronaria yang normal.<sup>24, 25, 26</sup>

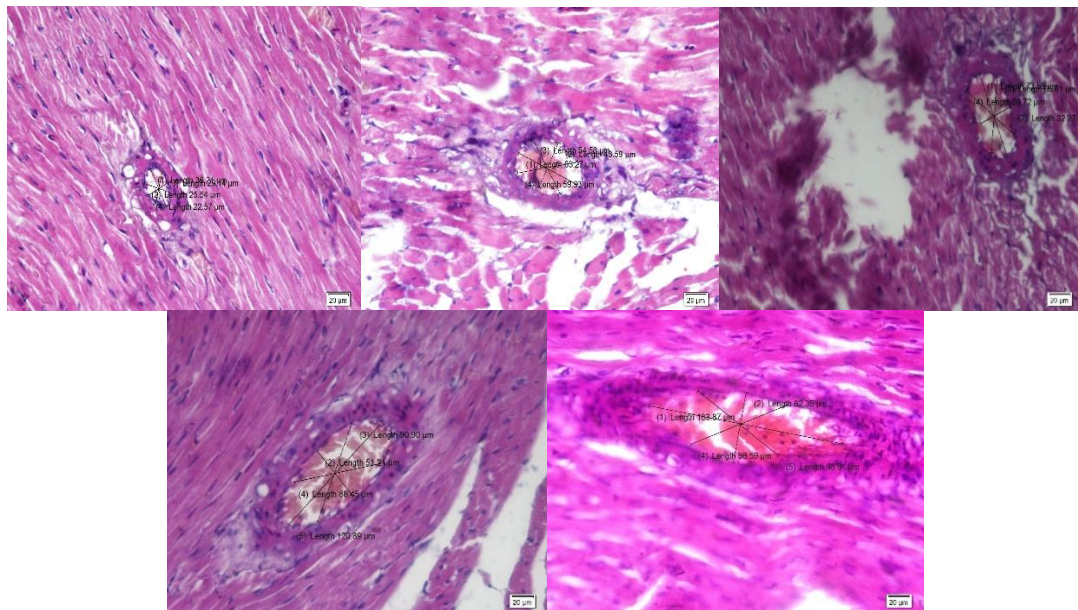
Hasil data dari P1 didapatkan rerata diameter lumen arteri koronaria yang lebih besar dari K-. Hal ini dikarenakan ekstrak bekatul beras merah yang berfungsi sebagai antioksidan mengandung komponen bioaktif tokoferol (isomer vitamin E), senyawa fenol, antosianin, dan  $\gamma$ -oryzanol dalam memutus rantai peroksida lipid sehingga mencegah timbulnya plak aterosklerosis yang mempersempit lumen arteri koronaria.<sup>10</sup>

Kelompok P2 didapatkan rerata diameter lumen arteri koronaria yang lebih besar dari kelompok negatif dan perlakuan 1. Dosis 200 mg/kgBB berdasarkan penelitian sebelumnya menyatakan bahwa dosis 200 mg/kgBB memiliki total status antioksidan yang paling tinggi dibandingkan dosis 50

mg/kgBB dan dosis 100mg/kgBB dalam memutus rantai peroksida lipid.<sup>27</sup>

Hasil data dari P3 didapatkan rerata lumen arteri koronaria yang jauh lebih besar dibandingkan kelompok lainnya. Sebab semakin tinggi dosis yang diberikan maka fungsi ekstrak bekatul beras merah sebagai antioksidan untuk memutus peroksida lipid semakin meningkat dilihat dari dinding pembuluh darah pada dosis 400mg/kgBB yang lebih tipis dibandingkan K-, K+, P1, dan P2.

Hal ini juga sejalan dengan penelitian dimana dosis 460mg/200grBB ekstrak bekatul beras merah pada tikus wistar jantan dislipidemia yang menyatakan bahwa dosis tersebut dapat menurunkan kolesterol total, menurunkan trigliserida, menurunkan LDL, dan meningkatkan HDL. Berdasarkan penjelasan sebelumnya mengenai proses timbulnya plak aterosklerosis bahwa LDL yang menurun dapat mencegah LDL mengalami oksidasi.<sup>28</sup>



**Gambar 2. Gambaran Diameter Lumen Arteri Koronaria dengan Perbesaran 400x. Kiri atas : kelompok K(-). Tengah : kelompok K(+). Kanan atas : kelompok P1. Kiri bawah : kelompok P2. Kanan bawah : kelompok P3.**

## Kesimpulan

Pemberian ekstrak bekatul beras merah berpengaruh terhadap diameter lumen arteri koronaria. Semakin tinggi dosis ekstrak bekatul, maka semakin meningkat diameter lumen arteri koronaria.

## Daftar Pustaka

1. Ema, Mulyatin T, Sumbara. Hubungan kebiasaan merokok dengan kejadian penyakit jantung koroner di Poli Dalam Rawat Jalan RSUD Sumedang. *Bhakti Kencana Medika*. 2014; 4(1):1-74.
2. WHO. Global adult tobacco survey: Indonesia report; 2011
3. Centers for Disease and Prevention (CDC). Chemistry and toxology of cigarette smoke and biomarkers of exposure and harm. Geneva: CD; 2013.
4. Kemenkes RI. InfoDATIN : Perilaku

merokok masyarakat Indonesia 2007-2013. Jakarta: Indonesia; 2013.

5. WHO. WHO Global Report on Trends in Prevalence of Tobacco Smoking. Switzerland: WHO press; 2015.
6. Susanna D, Hartono B, Fauzan H. 2003. Penentuan kadar nikotin dalam asap rokok. *J FKMUI*. 2003; 7(2): 2-5.
7. Mangimbulude JC, Karwur FF. Merokok dan oksidasi DNA. *J Sains Medika*. 2013; 5(2): 113-120.
8. Baraas F. Kardio molekuler, radikal bebas, disfungsi endotel, aterosklerosis, antioksidan, latihan fisik dan rehabilitasi jantung. Jakarta: Yayasan Kardia Ikratama; 2006.
9. Susanto D, Ayustaningwarno F. Potensi bekatul sebagai sumber antioksidan dalam produk selai kacang [artikel penelitian]. Semarang: Universitas

- Diponegoro; 2011.
10. Mumpuni PD. Analisis kadar tokoferol,  $\gamma$ -oryzanol dan  $\beta$ -karoten serta aktivitas antioksidan minyak bekatul kasar [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro; 2013.
  11. Dimmeler S, Zeiher AM. Unchain my heart: the scientific foundation of cardiac repair. *J Chin Incest*. 2004; 15: 572-83.
  12. Minatel IO, Francisqueti FV, Corrêa CR, Pace G, Lima P. Antioxidant activity of  $\gamma$ -oryzanol: A complex network of interactions. *Int J Mol Sci*. 2016;17:3-6.
  13. Balasaheb S, Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv*. 2015; 5:27986–28006.
  14. Nursalim Y dan Razali ZY. Bekatul Makanan yang Menyehatkan. Jakarta: PT Agro Media Pustaka; 2007
  15. Damayanti E, Kustiyah L, Khalid M, Farizal H. Aktivitas antioksidan bekatul lebih tinggi daripada jus tomat dan penurunan aktivitas antioksidan serum setelah intervensi minuman kaya antioksidan. *J Nutrition Food*. 2010; 5(3): 205-10.
  16. Widarta IWR, Arnata IW. Stabilitas aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah terhadap oksidator dan pemanasan pada berbagai. *J Teknol dan Industri Pangan*. 2014; 25(2): 193-99.
  17. Fitriana R, Sutyarso, Susantiningsih T. The effect of red ginger ethanol extract (*zingiber officinale roxb var rubrum*) on sperm motility and morphology of cigarette smoke-induced male rats (*rattus norvegicus*) sprague dawley strains. *Majority*. 2014; 3(2): 154-63.
  18. Syamsulina R. Efek proteksi ekstrak buah merah terhadap stress oksidatif di eritrosit *Rattus novergicus* galur wistar yang terpapar asap rokok kretek [tesis]. Surabaya: Universitas Airlangga; 2005.
  19. Tim Laboratorium Histologi. Instruksi kerja pembuatan preparat histopatologi laboratorium anatomi, histologi, dan patologi anatomi fakultas kedokteran universitas lampung. Lampung: Universitas Lampung; 2017.
  20. Benowitz NL, Dains KM, Hall SM, Syewart S, Wilson M, Dempsey D, et al. Smoking behavior and exposure to tobacco toxicants during 6 month of smoking progressively reduced nicotine content cigarrates. *N. Engl J Med*. 2012; 21: 761-9.
  21. Arief S. Radikal bebas. Surabaya: Ilmu kesehatan Anak FK Universitas Airlangga; 2007.
  22. Roberts JM, Hubel CA. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta*. 2009; 30: 32–7.
  23. Ulilalbab A, Wirjatmadi B, Adriani M. Ekstrak kelopak rosella merah mencegah kenaikan malondialdehid tikus wistar yang dipapar asap rokok. *J Farmasi Indonesia*. 2015; 13(2): 215-20.
  24. Rukmini A. Komparasi efektivitas adsorben komersial dan non komersial dalam proses regenerasi minyak jelantah. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan*; 2001 Oktober 9-10; Semarang. Indonesia: Universitas Widya Mataram.; 2001.
  25. Isdadiyanto, Moeljopawiro S, Puniawati SN, Wuryastuty H. Chitosan mempertipis dinding dan memperbesar diameter lumen arteri koroner tikus putih yang diberi lemak tinggi. *J Veteriner*. 2013; 14:310-6.
  26. Eckman DM, Stacey RB, Rowe R, Agostino RD, Kock ND. Weekly doxorubicin increases coronary arteriolar wall and adventitial thickness. *J Plos One*. 2013; 8(2): 1-6.
  27. Laili NH, Taufiqurrachman, Eni. Pengaruh ekstrak bekatul terhadap peningkatan total antioxidant status (TAS) pada tikus yang diinduksi MSG [skripsi]. Semarang: Universitas Islam Sultan Agung; 2016.
  28. Cholidah DK. Pemberian ekstrak bekatul beras merah (*Oryza nivara*) sama efektif dengan simvastatin dalam memperbaiki kadar kolesterol total dan trigliserida pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dislipidemia [tesis]. Denpasar: Universitas Udayana; 2017.