

Efek Protektive Kardiovaskular Ekstrak *Rhizophora Apiculata* Berbagai Pelarut pada Tikus Yang Dipaparkan Asap Rokok

Syazili Mustofa¹, Zulia Yasminanindita Fahmi²

¹Bagian Biokimia Biologi Molekular dan Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Mahasiswa Profresi Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Rhizophora apiculata adalah tanaman yang berpotensi sebagai bahan baku obat. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efek protektif ekstrak etanol, metanol, dan n-heksana kulit batang *Rhizophora apiculata* terhadap jantung tikus yang terpapar asap rokok berdasarkan gambaran histopatologi. Penelitian eksperimental ini menggunakan *Post Test-Only Control Design* terhadap 30 tikus yang dibagi 6 kelompok. Kelompok normal (N) tidak diberikan perlakuan, kelompok-kelompok lainnya dipaparkan asap rokok 24 batang/hari. Kelompok kontrol positif (K+) tidak ditambahkan apapun, kontrol negatif (K-) ditambahkan vitamin C 9 mg/KgBB/hari, perlakuan 1 (P1), 2 (P2), dan 3 (P3) berturut-turut mendapatkan dosis 56,55 mg/KgBB/hari ekstrak etanol, metanol, dan n-heksana. Setelah perlakuan selama 30 hari, histopatologi jantung tikus dinilai dengan system skoring. Rerata skor Dallas pada N, K+, K-, P1, P2, dan P3 berturut-turut adalah $0,25 \pm 0,50$; $1,15 \pm 0,25$; $0,50 \pm 0,12$; $0,45 \pm 0,19$; $0,60 \pm 0,28$; dan $0,45 \pm 0,19$. Uji *Kruskal-Wallis* bernilai $p=0,047$. Uji *Post Hoc Mann-Whitney* bernilai $p>0,05$ pada semua data, kecuali antara K+ dengan N, K-, P1, P2, dan P3. Efek protektif ekstrak etanol, metanol, dan n-heksana kulit batang *Rhizophora apiculata* sama baiknya dalam melindungi kerusakan jantung tikus yang terpapar asap rokok. Ekstrak-ekstrak tersebut sama efeknya dengan vitamin C 9 mg/KgBB/hari.

Kata kunci: asap rokok, jantung, *Rhizophora apiculata*

The Cardioprotective Effect Of *Rhizophora Apiculata* Stem Bark Extracts On Cigarette Smoke Exposed Rat's

Abstract

Rhizophora apiculata is a potential plant as medicinal material. This research is to compare the protective effect of ethanol, methanol, and n-hexane *Rhizophora apiculata* stem bark extract on rat's cardiac that exposed by cigarette smoke based on histopathologic findings. This experimental research used *Post Test-Only Control Design* for 30 rats which is divided into 6 groups. Normal group (N) was not given any treatment. Another groups were given cigarette smoke exposure 24 cigarettes/day. Positive control group (K+) was not added any treatment, negative control (K-) is added vitamin c dose 9 mg/KgBB/day, treatment 1 (P1), 2 (P2), and 3 (P3) cosecutively got dose 56,55 mg/KgBb/day for ethanol, methanol, and n-hexane extracts. After 30 days treatment, rat's cardiac histopathology scored by Dallas Criteria. The average of heart's damage on N, K+, K-, P1, P2, and P3 are $0,25 \pm 0,50$; $1,15 \pm 0,25$; $0,50 \pm 0,12$; $0,45 \pm 0,19$; $0,60 \pm 0,28$; and $0,45 \pm 0,19$. The data was tested by *Kruskal-Wallis* with $p\text{-value}>0,047$, followed by *Post Hoc Mann-Whitney* with $p\text{-value}>0,05$ for all data, except between K+ with N, K-, K+, P1, P2, and P3. The protective effect of ethanol, methanol, and n-hexane *Rhizophora apiculata* stem bark extracts is just as good in protecting the damage of rat's cardiac based on histopathologic findings.

Keyword: cigarette smoke, cardiac, *Rhizophora apiculata*

Korespondensi: dr. Syazili Mustofa, M.Biomed., alamat Jl. Soemantri Brodjonegoro No. 1, HP 081929345909, e-mail syazilimustofa.dr@gmail.com.

Pendahuluan

Rokok adalah pokok pangkal masalah kesehatan utama di dunia¹. Benda ini merupakan sejenis polutan

udara di luar ruangan dan di dalam ruangan. Padahal, salah satu hak asasi manusia adalah memperoleh akses terhadap udara udara bersih, dan

seorang manusia memerlukan 10-20 m³ udara bersih setiap hari. Peningkatan perilaku merokok menyebabkan polusi udara dan tidak terpenuhinya kebutuhan udara bersih bagi².

Republik Indonesia adalah peringkat ketiga negara yang memiliki jumlah perokok terbanyak di dunia³. Jumlah perokok di Provinsi Lampung adalah tujuh besar (26,5%) di Indonesia. Semakin hari permasalahan rokok di Indonesia semakin rumit. Terjadi peningkatan jumlah perokok muda setiap tahunnya⁴.

Permasalahan kesehatan sangat erat kaitannya dengan rokok. Merokok dapat menimbulkan gangguan pernapasan, penyakit jantung koroner, dan emfisema⁵.

Rokok mempengaruhi jantung dan pembuluh darah. Nikotin rokok merangsang sekresi katekolamin misalnya hormon adrenalin. Peningkatan kadar adrenalin memicu denyut jantung berdetak lebih cepat dan meningkatkan tekanan darah⁵. Salah satu penyakit kardiovaskuler yang disebabkan oleh merokok adalah infark miokard. Infark miokard ditandai dengan ditemukannya daerah nekrosis di miokardium akibat iskemia lokal. Risiko terjadinya infark miokard berkorelasi positif dengan jumlah konsumsi rokok per hari. Perokok memiliki 2-3 kali risiko lebih besar untuk mengalami infark miokard⁶.

Stres oksidatif dapat terjadi akibat paparan asap rokok. Keadaan ini menyebabkan kerusakan biokimiawi pada jaringan (nekrosis)⁷. Keadaan ini dapat dicegah dengan pemberian antioksidan.

Antioksidan eksogen adalah antioksidan yang berasal dari makanan/luar tubuh. Salah satu sumber antioksidan eksogen adalah berasal dari tanaman *Rhizophora apiculata*⁸. *Rhizophora apiculata* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan

tanin⁹. Sudah banyak penelitian tentang efek antioksidan dan antiinflamasi ekstrak kulit batang bakau *Rhizophora apiculata*¹⁰⁻¹⁵. Penelitian ini menggali efek kardioprotektif ekstrak *Rhizophora apiculata* pada tikus yang terpapar asap rokok.

Metode

Telah dilakukan studi eksperimental *Post Test Only Control Group Design* menggunakan 30 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley*. Tikus berumur 3 bulan dan berat badan ± 200 gram.

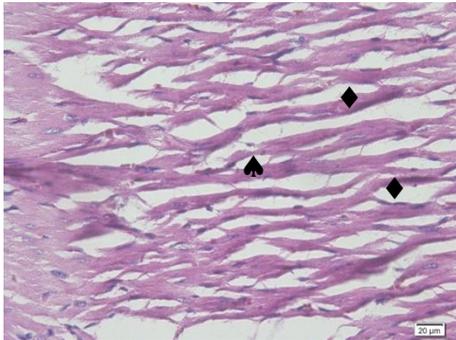
Kulit batang tanaman bakau *Rhizophora apiculata* didapatkan dari KPH Gunung Balak, Kecamatan Pasir Sakti Kabupaten Lampung Timur. Sebanyak 10 kg kulit batangnya yang dikeringkan serta dipotong-potong. Potongan kulit batang dihaluskan menjadi serbuk. Serbuk ini direndam di dalam pelarut etanol, metanol, dan n-heksana selama selama 18 jam. Hasil campuran dengan pelarut etanol, metanol, dan n-heksana disaring dengan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *rotatory evaporator* 50°C. Didapatkan berat jenis 1,22546 gram/ml untuk ekstrak etanol, 1,24218 gram/ml untuk ekstrak metanol, dan 0,66690 gram/ml untuk ekstrak n-heksana. Dosis ketiga ekstrak kulit batang bakau *Rhizophora apiculata* yang digunakan adalah 56,55 mg/kgBB.

Setelah masa adaptasi, tikus dipapar asap rokok di dalam *smoking chamber* sebanyak 24 batang/hari pada semua kelompok kecuali kelompok normal (N). Kelompok kontrol positif (K+) tidak ditambahkan perlakuan apapun, kelompok kontrol negatif (K-) ditambahkan vitamin C 9 mg/kgBB, kelompok perlakuan 1 (P1), 2 (P2), dan 3 (P3) ditambahkan berturut-turut ekstrak etanol, metanol, dan n-heksana kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*)

56,55 mg/KgBB. Perlakuan dilakukan selama 30 hari. Pada hari ke-31 dilakukan terminasi menggunakan kloroform dan pengambilan organ jantung. Setelah itu dilakukan pembuatan preparat dan diamati di bawah mikroskop pada 5 lapang pandang serta dinilai kerusakannya menggunakan kriteria Dallas.

Hasil

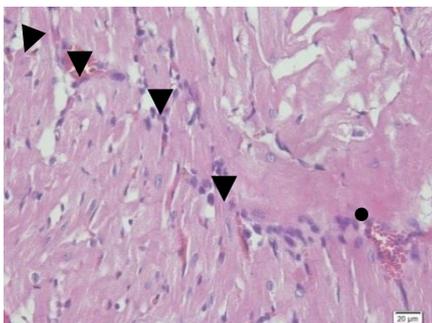
Hasil gambaran histopatologi jantung tikus yang terpapar asap rokok pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut.



Gambar 1. Hasil gambaran histopatologi jantung tikus kelompok normal (N)

Keterangan:
▲ → cabang otot jantung
◆ → inti sel

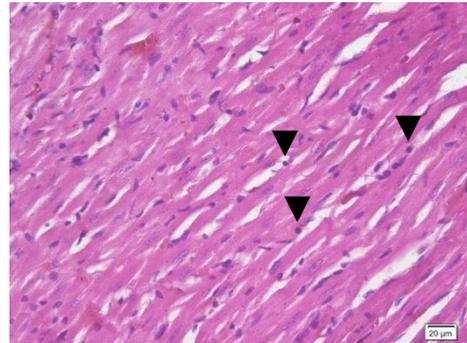
Pada gambar 1, tidak terlihat adanya gambaran infiltrasi sel radang dan nekrosis.



Gambar 2. Hasil gambaran histopatologi jantung tikus kelompok kontrol positif (K+)

Keterangan:
▼ → infiltrasi sel radang
● → nekrosis

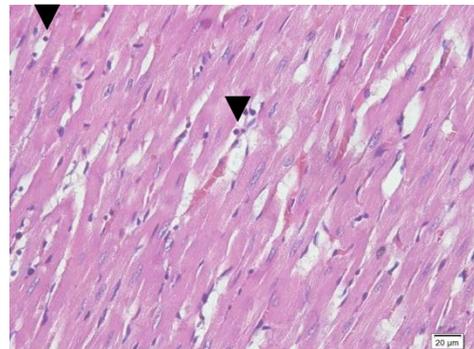
Pada gambar 2, terlihat adanya gambaran infiltrasi sel radang dan nekrosis



Gambar 3. Hasil gambaran histopatologi jantung tikus kelompok kontrol negatif (K-)

Keterangan:
▼ → infiltrasi sel radang
● → nekrosis

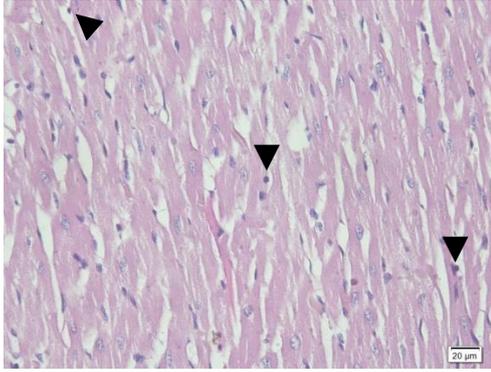
Pada gambar 3, terlihat adanya gambaran infiltrasi sel radang dan tidak nekrosis.



Gambar 4. Hasil gambaran histopatologi jantung tikus kelompok perlakuan (P1)

Keterangan:
▼ → infiltrasi sel radang
● → nekrosis

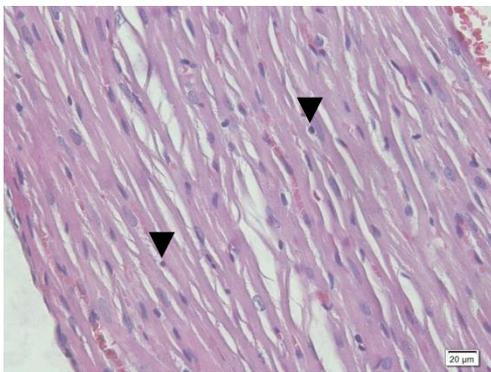
Pada gambar 4, terlihat adanya gambaran infiltrasi sel radang dan tidak nekrosis.



Gambar 5. Gambaran histopatologi jantung tikus kelompok perlakuan 2 (P2)

Keterangan:
 ▼ → infiltrasi sel radang
 • → nekrosis

Pada gambar 5, terlihat adanya gambaran infiltrasi sel radang dan nekrosis.



Gambar 6. Gambaran histopatologi jantung tikus kelompok perlakuan 3 (P3)

Keterangan:
 ▼ → infiltrasi sel radang
 • → nekrosis

Pada gambar 6, terlihat adanya gambaran infiltrasi sel radang dan nekrosis.

Hasil uji fitokimia ketiga ekstrak kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) tersaji pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia

No	Jenis uji kualitatif fitokimia	Hasil uji ekstrak etanol	Hasil uji ekstrak metanol	Hasil uji ekstrak heksana
1.	Saponin	+	+	++
2.	Steroid	-	-	++
3.	Terpenoid	+	+	-
4.	Tanin	-	-	-
5.	Alkaloid	+	+	-
6.	Flavonoid	+	+	-

Berdasarkan tabel 1, diketahui bahwa saponin adalah satu-satunya senyawa yang terkandung dalam ketiga ekstrak dan diduga sebagai senyawa utama sebagai antioksidan pada ketiga ekstrak.

Hasil rerata kerusakan miokardium pada tiap kelompok tersaji dalam tabel 2 berikut.

Tabel 2. Rerata kerusakan miokardium

Kelompok	Rerata ± SD
N	0,25 ± 0,50
K+	1,15 ± 0,25
K-	0,50 ± 0,12
P1	0,45 ± 0,19
P2	0,60 ± 0,28
P3	0,45 ± 0,19

Tabel 3. Uji Kruskal-Wallis

Uji Kruskal-Wallis	p-value
	0,047*

Pada uji hipotesis yang dilakukan didapatkan hasil bermakna dengan p-value <0,05. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh terhadap variabel yang diteliti, yaitu kerusakan jantung yang dinilai menggunakan Kriteria Dallas. Selanjutnya, untuk mengetahui

kelompok mana saja yang bermakna, maka perlu dilakukan uji *Post Hoc Mann-Whitney* dimana dikatakan bermakna apabila *p-value* <0,05. Hasil dari uji *Post Hoc Mann-Whitney* disajikan pada tabel 4 berikut.

Tabel 4. Uji *Post Hoc Mann-Whitney*

Kelompok	N	K+	K-	P1	P2	P3
N		0,0 37 *	0,2 31	0,2 34	0,1 78	0,2 34
K+	0,0 37 *		0,0 19 *	0,0 19 *	0,0 41 *	0,0 19 *
K-	0,2 31 *	0,0 19 *		0,7 52	0,7 52	0,7 52
P1	0,2 34 *	0,0 19 *	0,7 52		0,5 44	1,0 00
P2	0,1 78 *	0,0 41 *	0,7 52	0,5 44		0,5 44
P3	0,2 34 *	0,0 19 *	0,7 52	1,0 00	0,5 44	

Berdasarkan tabel tersebut, dapat dilihat bahwa terjadi perbedaan bermakna antara N dengan K+ serta antara K+ dengan K-, P1, P2, dan P3.

Pembahasan Rokok Menyebabkan Kerusakan Jantung

Perubahan mikroskopis sistem kardiovaskular berhubungan dengan penggunaan rokok dan zat kimianya, seperti nikotin dan karbon monoksida²⁰. Paparan asap rokok kronis menimbulkan gangguan fungsional kardiovaskular sehingga menimbulkan perubahan morfologi. Peningkatan konsentrasi karboksihemoglobin menyebabkan penurunan toleransi terhadap latihan dan hipoksia miokardium. Hal ini memicu perubahan morfologi bahkan nekrosis miokardium²¹⁻²².

Efek Protektif Vitamin C dan Ketiga Ekstrak

Perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif (K-) dengan kelompok kontrol positif (K+) dengan *p-value* 0,019 menunjukkan bahwa vitamin C dengan dosis 9 mg/KgBB mampu memberikan efek protektif sebagai antioksidan terhadap kerusakan jantung tikus yang terpapar asap rokok.

Vitamin C akan menetralkan radikal bebas yang dihasilkan dari asap rokok. Vitamin C berperan sebagai kofaktor dalam sejumlah reaksi hidroksilasi dan mudah larut dalam air karena sifat kepolarannya yang tinggi. Vitamin C dapat langsung bereaksi dengan radikal hidroksil, superoksida, dan hidrogen hidroksida²³.

Hasil kualitatif uji fitokimia yang telah dilakukan pada penelitian ini, diketahui bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol dan metanol kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) adalah saponin, steroid, terpenoid, alkaloid, dan flavonoid. Sedangkan dalam ekstrak n-heksana kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) mengandung saponin dan steroid.

Ekstrak kulit batang *Rhizophora apiculata* mampu menangkal radikal bebas²⁴. Pada uji penangkapan radikal bebas terindikasi bahwa senyawa yang diteliti, yaitu triterpenoid, diterpenoid, dan fenol memiliki kapasitas antioksidan yang tinggi. Ketiga senyawa ini ditemukan pada asam pyroligneus dari kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) dan telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan²⁵. Kandungan fenol dan flavonoid pada larutan ekstrak *Rhizophora apiculata* mempunyai peran yang vital sebagai antioksidan secara *in vitro*²⁶.

Berdasarkan teori tersebut, maka dapat mendukung hasil analisis data dimana terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok perlakuan 3 (P3) dengan

kelompok kontrol positif (K+) dengan *p-value* masing-masing adalah 0,019; 0,041; dan 0,019. Hal menunjukkan bahwa ekstrak etanol, metanol, dan n-heksana kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) dengan dosis 56,55 mg/KgBB mampu memberikan efek protektif sebagai antioksidan pada kerusakan jantung tikus yang terpapar asap rokok.

Efektivitas Efek Protektif Vitamin C dan Ketiga Ekstrak

Secara statistik, tidak terdapat perbedaan bermakna (*p-value* >0,05) antara kelompok normal (N) dengan kelompok kontrol negatif (K-), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2) dan perlakuan (3). Hal ini menunjukkan bahwa vitamin C dan ketiga ekstrak efektif dalam memberikan efek protektif sebagai antioksidan terhadap kerusakan jantung tikus. Hal ini juga dapat terlihat secara klinis berdasarkan rerata skor kerusakan miokardium, dimana masing-masing rerata kerusakan K-, P1, P2, dan P3 secara berurutan adalah $0,50 \pm 0,12$; $0,45 \pm 0,19$; $0,60 \pm 0,28$; dan $0,45 \pm 0,19$ tidak berbeda jauh dengan rerata kerusakan pada N, yaitu $0,25 \pm 0,50$.

Hal ini disebabkan karena senyawa-senyawa di dalam ekstrak kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) terbukti mampu bekerja sebagai penangkal radikal bebas. Dengan demikian, ekstrak etanol, metanol, dan n-heksana kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) dapat dijadikan sebagai antioksidan alternatif karena berefek yang sama baiknya dengan vitamin C.

Perbandingan Efek Protektif Ketiga Ekstrak

Pemilihan dari jenis pelarut yang digunakan adalah berdasarkan sifat kepolarannya. Sifat kepolaran suatu pelarut ditentukan oleh sifat fisiknya, yaitu nilai polaritas, konstanta dielektrik, titik didih, dan kelarutan

dalam air. Semakin tinggi salah satu komponen penilaian tersebut, maka pelarut semakin polar²⁷. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol, metanol, dan n-heksana.

Menurut Moyler (1995) serta Houghton dan Raman (1998)²⁸ nilai polaritas etanol, metanol, dan n-heksana secara berurutan adalah 0,68; 0,73; dan 0,00. Berdasarkan salah satu sifat fisik ini, maka diketahui bahwa etanol dan metanol adalah bersifat polar, sedangkan n-heksana adalah bersifat nonpolar. Sehingga hal inilah yang mendasari bahwa perlu dilihat pula sifat kepolaran senyawa yang dapat dilihat dari gugus polar, seperti gugus OH, COOH, dan lain-lain. Senyawa yang polar akan larut dalam pelarut polar (etanol dan metanol), sedangkan senyawa yang nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar (n-heksana).

Terdapat 16 jenis senyawa yang dapat diisolasi melalui uji fitokimia dari spesies bakau. Tujuh senyawa yang paling sering ditemukan adalah terpenoid (16,25%), tanin (12,5%), steroid (10%), alkaloid (9,38%), flavonoid (8,75%), saponin (8,75%), dan glikosida (8,13%). Penelitian yang dilakukan Revathi dkk.²⁸ melaporkan bahwa ditemukannya senyawa tanin, steroid, triterpenoid, dan fenol pada ekstrak kulit batang, bunga, buah, dan daun. Nur dkk.²⁹ dalam penelitiannya mendapatkan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid pada kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*). Berdasarkan teori yang telah disebutkan sebelumnya, senyawa-senyawa yang ditemukan di kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Saponin diduga sebagai senyawa utama dalam penelitian ini jika dilihat secara kualitatif karena ditemukan di dalam ketiga ekstrak. Saponin akan membentuk busa yang menunjukkan adanya glikosida. Glikosida mampu membentuk buih

dalam air. Glikosida berfungsi sebagai gugus polar, sedangkan aglikon steroid atau terpenoid sebagai gugus nonpolar³⁰. Dengan kata lain, saponin bersifat polar dan larut dalam pelarut polar, seperti etanol dan metanol, sedangkan steroid bersifat nonpolar dan larut dalam pelarut nonpolar, seperti n-heksana dan sejalan dengan hasil uji tersebut. Namun pada hasil uji, terdapat saponin di dalam ekstrak dengan pelarut polar dan nonpolar. Hal ini dapat terjadi karena sifat nonpolarnya sebagai akibat dari gugus hidrofobik (aglikon) yang dimiliki.

Hal ini mendukung hasil analisis data, dimana jika dilihat secara statistik, tidak terdapat perbedaan bermakna (*p-value* >0,05) antara P1 dengan P2 dan P3, P2 dengan P1 dan P3, P3 dengan P1 dan P2. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga ekstrak dengan pelarut yang berbeda dengan dosis masing-masing 56,55 mg/KgBB memiliki efek protektif sebagai antioksidan yang sama baiknya. Dengan kata lain, saponin yang terdapat di dalam ketiga ekstrak memiliki peran yang besar terhadap aktivitas antioksidan yang terjadi, sehingga efek antioksidan yang dihasilkan dari ketiga ekstrak sama baiknya.

Jika dilihat secara klinis melalui hasil rerata skor kerusakan miokardium, P1 dan P3 menyebabkan kerusakan yang terjadi menjadi minimal (mendekati normal, dengan rerata $0,25 \pm 0,50$) dengan rerata keduanya adalah $0,45 \pm 0,19$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan n-heksana kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) mempunyai efek protektif sebagai antioksidan yang sama baiknya.

Perbandingan Efek Protektif Vitamin C dan Ketiga Ekstrak

Jika ketiga kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) dibandingkan dengan K-, maka secara statistik tidak terdapat perbedaan bermakna (*p-value* >0,05). Hal ini menunjukkan bahwa ketiga

ekstrak memiliki efek protektif sebagai antioksidan yang sama baiknya dengan vitamin C. Namun, jika dilihat secara klinis melalui hasil rerata skor kerusakan miokardium, P1 dan P3 memiliki rerata yang lebih rendah ($0,45 \pm 0,19$) dibandingkan dengan K- ($0,50 \pm 0,12$) yang dianggap sebagai antioksidan standar yang sering digunakan pada manusia. Hal ini menunjukkan bahwa dibandingkan dengan vitamin C, sedikit lebih besar efek protektif ekstrak etanol dan n-heksana kulit batang bakau (*Rhizophora apiculata*) sebagai antioksidan terhadap kerusakan jantung.

Simpulan

Efek protektif ekstrak etanol, metanol, dan n-heksana kulit batang *Rhizophora apiculata* sama baiknya dalam melindungi kerusakan jantung tikus yang terpapar asap rokok. Ekstrak-ekstrak tersebut sama efeknya dengan vitamin C 9 mg/KgBB/hari.

Ucapan Terimakasih

Kami mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Program Hibah Penelitian Unggulan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung tahun anggaran 2021 yang telah mendanai penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Departemen Kesehatan. 2015. INFODATIN: Hari Tanpa Bakau Sedunia. Laporan Nasional 2015:2-12.
2. WHO. 2010. World health organization guidelines for indoor air quality-selected pollutants. Copenhagen: WHO Regional Officer for Europe.
3. WHO. 2012. Prevalence of tobacco use. Tersedia di <http://www.who.int>. Diakses 26 September 2020.
4. Kementerian Kesehatan RI. 2013. Riset kesehatan dasar 2013. Jakarta:

- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
5. Husaini A. 2007. Tobat merokok: rahasia dan cara empatik berhenti merokok. Depok: Pustaka ImaN.
 6. Kumar V, Cotran RS, Robbin SL. 2007. Buku Ajar Patologi. Jakarta: EGC.
 7. Yuslianti ER. 2018. Pengantar radikal bebas dan antioksidan. Yogyakarta: Deepublish.
 8. Werdhasari A. 2014. Peran antioksidan bagi kesehatan. Jurnal Biotek Medisiana Indonesia. 3(2): 59-68.
 9. Rahim AA, Rocca E, Steinmetz J, Kassim MJ, Ibrahim MS, Osman H. 2008. Antioxidant activity of mangrove *Rhizophora apiculata* bark extracts. Food Chemistry. 207: 200-207.
 10. Caesario B, Mustofa S, Oktaria D. 2019. Pengaruh pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap kadar MDA tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley yang dipaparkan asap rokok. Medula. 9(1): 43-47.
 11. Mustofa S, Bahagia W, Kurniawaty E, Rahmanisa S, Audah KA. 2018. The effect of mangrove (*Rhizophora apiculata*) bark extract ethanol on histopathology pancreas of male white rats Sprague Dawley strain exposed to cigarette smoke. Acta Biochimica Indonesiana. 1(1): 7-13.
 12. Mustofa S, Alfa N, Wulan AJ, Rakhmanisa S. 2019. Pengaruh pemberian ekstrak kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) etanol 95% terhadap arteri koronarian tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague Dawley yang dipaparkan asap rokok. JK Unila. 3(1): 28-33.
 13. Mustofa S, Hanif F. 2019. The protective effect of *Rhizophora apiculata* bark extract against testicular damage induced by cigarette smoke in male rats. Acta Biochimica Indonesiana. 2(1): 23-31.
 14. Dewi SN. 2019. Pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap histopatologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley yang dipaparkan asap rokok [skripsi]. Bandar Lampung: Universitas Lampung.
 15. Mutia V. 2018. Pengaruh pemberian ekstrak etanol 95% kulit batang bakau minyak (*Rhizophora apiculata*) terhadap histopatologi paru pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley yang terpapar asap rokok [skripsi]. Bandar Lampung: Universitas Lampung.
 16. Mustofa S, Anisya V. 2020. Efek hepatoprotektif ekstrak etanol *Rhizophora apiculata* pada tikus yang dipaparkan asap rokok. JK Unila. 4(1): 12-17.
 17. Mustofa S, Ciptaningrum 1, Zuya CS. 2020. Subacute toxicity test of *Rhizophora apiculata* bark extract on liver and pancreas histopathology of rats. Acta Biochimica Indonesiana. 3(2): 89-97.
 18. Haryoto H, Frista A. 2019. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar, dan non polar dari daun mangrove kacang (*Rhizophora apiculata*) dengan metode DPPH dan FRAP. Jurnal Sains dan Kesehatan. 2(2): 131-138.
 19. Baughman KL. 2006. Diagnosis of myocarditis death of dallas criteria. American Heart Association. 113: 593-595.
 20. Leone A, Landini L, Biadi O, Balbarini A. 2008. Smoking and cardiovascular system: cellular features of the damage. Current Pharmaceutical Design. 14(18): 1771-1777.
 21. Leone A. 2015. Morphological alterations of heart and blood vessels from tobacco smoke: the

- steps of the damage. *Journal of Cardiology and Therapy*. 2(4): 355-359.
22. Leone A, Landini L, Biadi O, Balbarini A. 2008. Smoking and cardiovascular system: cellular features of the damage. *Current Pharmaceutical Design*. 14(18): 1771-1777.
23. Pavlovic P, Cekic S, Rankovic G, Stoiljkovic N. 2005. Antioxidant and pro-oxidant effect of ascorbic acid. *Acta Medica Mediana*. 44(1): 65-69.
24. Gao M, Xiao H. 2012. Activity-guided isolation of antioxidant compounds from *rhizophora apiculata*. *Molecules*. 17: 10675-10682.
25. Loo A, Jain K, Darah I. 2008. Antioxidant activity of compound isolated from pyroligneous acid *Rhizophora apiculata*. *Food Chem*. 107: 1151-1160.
26. Ramalingan V, Rajaram R. 2018. Enhanced antimicrobial, antioxidant, and anticancer activity of *Rhizophora apiculata*: an experimental report. 3 *Biotech*. 8(200): 1-13.
27. Yasni S. 2013. Teknologi pengolahan dan pemanfaatan produk ekstraktif rempah. Bogor: PT. Penerbit IPB Press.
28. Revathi P, Senthinath TJ, Thirumalaikolundusubramanian P, Prabhu N. An overview of antidiabetic profile of mangrove plants. *International Journal Pharmaceutical Science*. 6:1-5.
29. Nur RM, Eso N, Rorano M, Suaibun I. 2019. Identifikasi golongan senyawa bioaktif *Rhizophora* sp. di perairan Pulau Morotai. *Agricola*. 9(2): 44-48.
30. Agustina S, Ruslan, Wiraningtyas A. 2016. Skrining fitokimia tanaman obat di Kabupaten Bima. *Cakra Kimia*. 4(1): 71-76.