

EFEK ANTIOKSIDAN EKTRAK BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) TERHADAP MAKROFAG ALVEOLAR TIKUS YANG DIPAPAR ASAP ROKOK

Novera Herdiani¹, Endah Budi Permana Putri²

¹Fakultas Kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya, Surabaya

Email: novera.herdiani@unusa.ac.id

²Fakultas Kesehatan, Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya, Surabaya

Email: endah.budi92@unusa.ac.id

Abstrak

Asap rokok mengandung radikal bebas yang membahayakan tubuh. Apabila radikal bebas terlalu banyak maka antioksidan tidak mampu mengatasinya. Buah naga merah merupakan sumber antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa aktivitas antioksidan ekstrak buah naga merah dan makrofag alveolar tikus dipapar asap rokok. Total sampel 24 tikus jantan dan dibagi 4 kelompok: kontrol negatif, positif, perlakuan ekstrak buah naga merah dosis 7,2 g/200 g BB, dan 10,8 g/200 g BB. Kontrol negatif hanya diberi pakan standar. Kontrol positif diberi pakan standar dan dipapar 2 rokok/hari. Kelompok perlakuan diberi pakan standar dan ekstrak buah naga merah di pagi hari dan setelah itu dipapar 2 rokok. Penelitian dilakukan selama 21 hari. Antioksidan ekstrak buah naga merah diuji dengan metode DPPH dan paru tikus diamati dengan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) untuk menentukan makrofag alveolar. Makrofag alveolar dianalisis *One Way ANOVA* dan uji *HSD*. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak mengandung 16181 ppm antioksidan. Makrofag alveolar kontrol positif berbeda nyata dengan semua perlakuan lainnya. Pemberian ekstrak dapat menangkal radikal bebas dan mencegah peningkatan jumlah makrofag alveolar pada tikus dipapar asap rokok.

Kata kunci: antioksidan, buah naga, makrofag alveolar

Abstract

Cigarette smoke contained free radical which harm body. When there are too many free radical, the antioxidant is unable to overcome. Red dragon fruit is one of antioxidant source. This study aims to analyze the antioxidant activity of red dragon fruit extracts and alveolar macrophages of rats exposed to cigarette smoke. Total sample are 24 male rats which are divided into 4 cohorts: negative control, positive, treatment of red dragon fruit extract 7,2 g/200 g BW, and 10,8 g/200 BW. Negative control is just given standard feed. Positive control is given standard feed and exposed 2 cigarette/day. Treatment group is given standard feed and red dragon fruit extract in the morning and exposed 2 cigarette. This study was conducted for 21 days. The antioxidant activity test was using DPPH method, the rat lung observation was done with Hematoxylin Eosin (HE) staining to determine alveolar macrophages. The alveolar macrophages amount was analyzed with One Way ANOVA and HSD test. The results showed that the extract contained 16181 ppm antioxidants. Alveolar macrophages in the positive control group were significantly different from all groups. The extract can counter free radicals and prevent an increase the alveolar macrophages amount in rats exposed to cigarette smoke.

Keywords : antioxidants, dragon fruit, alveolar macrophages

PENDAHULUAN

Merokok merupakan salah satu faktor penyebab penyakit kardiovaskuler penyebab kematian terbesar di dunia. *World Health Organization* telah memberikan peringatan bahwa dalam dekade 2020-2030 tembakau akan membunuh 10 juta orang per tahun, 70% di antaranya terjadi di negara berkembang (WHO, 2008). Menghilangkan kebiasaan merokok bukanlah hal mudah. Sementara dalam asap rokok terkandung radikal bebas yang membahayakan tubuh, sehingga perlu adanya inovasi untuk mengembangkan produk yang dapat meminimalisir dampak negatif yang ditimbulkan asap rokok. Menurut survey Perokok Muda Dunia 2007 (*Global Youth Tobacco Survey*) 6 dari 10 siswa yang berumur 13-15 tahun mempunyai satu atau lebih orangtua perokok, dan 65% dari mereka berada di lingkungan perokok (Reimondos, dkk., 2012).

Berdasarkan data RISKESDAS (2013), perilaku merokok penduduk usia \geq 15 tahun di Indonesia mengalami peningkatan yaitu sejumlah 36,3%, dibandingkan RISKESDAS sebelumnya. Ditemukan 1,4% perokok 10-14 tahun, 9,9% perokok pada kelompok tidak bekerja, dan 32,3% pada kelompok kuintil indeks kepemilikan terendah. Rerata jumlah batang rokok yang dihisap per hari per orang di Indonesia adalah 12-13 batang (setara satu bungkus). Jumlah perokok yang mengalami peningkatan terlihat juga pada sekitar 69% rumah tangga memiliki pengeluaran untuk rokok. Hal ini berarti minimal terdapat 1 orang anggota rumah tangga mengkonsumsi tembakau. Secara nasional 85,4% perokok usia 10 tahun ke atas merokok di dalam rumah ketika bersama anggota rumah tangga lain.

Jumlah radikal bebas yang terdapat dalam asap rokok yang sangat tinggi dan memiliki sifat yang tidak stabil sehingga dapat merusak jaringan. Kelainan paru yang diakibatkan radikal bebas dalam rokok akan menyebabkan gangguan atau kelainan pada saluran pernafasan, mulai dari trakea, bronkus, dan bronkiolus sampai pada alveoli paru (Nurliani, dkk 2012). Kristianti (2008) menyatakan bahwa terjadi peningkatan sel-sel radang akibat radikal bebas pada tikus yang dipapar asap rokok. Pada jaringan alveolus paru terdapat sel makrofag alveolar. Sel ini merupakan perkembangan dari sel monosit yang terdapat pada leukosit, bertugas memfagosit benda asing di dalam alveolus paru (Djojodibroto, 2007). Konsekuensi untuk fungsi pertahanan leukosit (makrofag dan neutrofil) adalah leukosit dapat menyebabkan cedera jaringan dan memperpanjang peradangan karena produksi

leukosit yang menghancurkan mikroba juga menciderai jaringan normal pejamu (Mitchell, dkk., 2009).

Secara normal, radikal bebas sudah ada dalam tubuh. Tubuh secara alami mempunyai antioksidan yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas yang lebih stabil. Antioksidan dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas dalam lemak. Namun jika radikal bebas terlalu banyak maka antioksidan alami tidak mampu mengatasinya. Pada kondisi ini tubuh memerlukan asupan antioksidan dari luar, contohnya antioksidan yang terkandung pada buah naga merah (Nurliyana dkk., 2010). Penelitian yang dilakukan oleh Rebecca dkk (2010) menunjukkan bahwa buah naga merah mengandung polifenol terbanyak dibandingkan dengan *species* lainnya yaitu $86,13 \pm 17,02$ mg dalam 0,50 g ekstrak kering buah naga merah. Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan salah satu tanaman yang dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan. Menurut Subagja (2013), protein dalam buah naga merah mampu meningkatkan metabolisme tubuh dan menjaga kesehatan jantung, dapat menurunkan berat badan, dan vitamin C yang mampu menjaga kesehatan kulit.

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui manfaat buah naga merah sebagai sumber antioksidan untuk mencegah pembentukan radikal bebas terhadap resiko kerusakan oksidatif dalam tubuh dengan cara melihat jumlah makrofag alveolar. Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk mengetahui efek antioksidan ekstrak buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) pada makrofag alveolar tikus yang diberi paparan asap rokok.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini yaitu eksperimental laboratorium. Tahap *in vivo* yang digunakan adalah *True Experimental Laboratory* dengan *post test only control group design*. Rancangan perlakuan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel terdiri atas 24 ekor tikus jantan dipilih dengan cara *random sampling* dibagi dalam satu kelompok kontrol negatif (normal), satu kelompok kontrol positif, dan dua kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus dengan penjelasan sebagai berikut: Kelompok I adalah kontrol negatif (kelompok normal), tidak diberi paparan dan tidak diberi ekstrak buah naga merah (KN); Kelompok II adalah kontrol positif, yang diberi air 1 ml p.o selanjutnya diberi paparan asap rokok sebanyak 2

batang (KP); Kelompok III adalah perlakuan yang diberi ekstrak buah naga merah dosis 7,2 g/200 g BB tikus/hari selanjutnya diberi paparan asap rokok sebanyak 2 batang (P1); Kelompok IV adalah perlakuan yang diberi ekstrak buah naga merah dosis 10,8 g/200 g BB tikus/hari selanjutnya diberi paparan asap rokok sebanyak 2 batang (P2).

Pengujian antioksidan dilakukan dengan DPPH (α diphenyl picryl hydrazil) dengan absorbansi $\lambda = 517$ nm menggunakan metode spektrofotometri. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil dengan absorbansi maksimal pada $\lambda = 515-530$ nm. Pembuatan ekstrak buah naga merah dilakukan dengan terlebih dahulu memisahkan daging buah naga merah dengan kulitnya kemudian dihancurkan dengan blender. Buah naga merah yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam penyaring tekan (*filter press*) sehingga diperoleh cairan yang bebas dari ampas dan bijinya. Sari buah naga merah dipanaskan pada suhu 50-60°C selama 2 jam. Filtrat buah naga merah dievaporasi sampai pekat dengan menggunakan suhu 60°C selama 4 jam. Sari yang kental dimasukkan ke dalam bejana kecil berukuran 50 ml dan ditutup dengan aluminum foil supaya terhindar dari cahaya. Selanjutnya dimasukkan ke dalam lemari pendingin dengan suhu 5 °C. Tahap *in vivo* dilakukan dengan memberikan ekstrak buah naga merah sesuai dosis yang telah ditetapkan. 24 tikus diadaptasikan selama 7 hari (minggu adaptasi). Setelah diadaptasikan 24 tikus kemudian dipilih secara random dan dibagi ke dalam 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (KN), kontrol positif (KP), perlakuan pertama (P1), dan perlakuan kedua (P2). Tahap lainnya meliputi diberi paparan asap rokok selama 21 hari. Pada hari ke-22 tikus dikorbankan, paru diambil untuk pengamatan perubahan gambaran histopatologi paru tikus dengan pembuatan preparat histologi organ paru dibuat pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) dan diamati di bawah mikroskop cahaya perbesaran 400x untuk menentukan jumlah makrofag alveolar. Seluruh pemeriksaan kerusakan paru ini menggunakan mikroskop cahaya biasa merk Nikon H600L yang dilengkapi dengan digital kamera DS Fi2 300 megapixel dan software pengolah gambar *Nikkon Image System*.

Pemberian dosis buah naga merah pada 2 kelompok perlakuan (P1 dan P2). Ekstrak buah naga merah diberikan dengan menggunakan sonde lambung sebelum makan pagi, dan dilaksanakan selama 21 hari dengan dosis masing-masing, yaitu dosis I (7,2 g/200 g BB tikus/hari) untuk kelompok P1, dosis II (10,8 g/200 g BB tikus/hari) untuk kelompok P2. Asap rokok dari rokok kretek yang mengandung

2,90 mg Nikotin dan 44,30 mg Tar akan dipaparkan kepada kelompok KP, P1 dan P2. Tiga kelompok dipaparkan terhadap asap rokok sebanyak 2 batang selama 21 hari (Minggu II – Minggu IV) dimana diketahui akan menyebabkan stress oksidatif.

Penelitian dilaksanakan di Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi UNAIR untuk uji aktivitas antioksidan dan Laboratorium Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan UNAIR untuk pembuatan preparat paru. Hewan coba adalah tikus putih jenis *Rattus norvegicus* strain wistar jantan dewasa usia 3-4 bulan dengan berat rata-rata 200 gram. Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah sistem random sampling (rancangan acak lengkap). Pada tahap awal akan dilakukan analisis normalitas dengan uji Shapiro-Wilk dan uji homogenitas dengan Levene's Test. Apabila didapatkan data normal dan homogen, maka selanjutnya dilakukan analisis perbandingan antar kelompok dengan uji One Way Anova. Apabila ada perbedaan yang signifikan, maka pengujian dilanjutkan dengan uji HSD untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BUAH NAGA MERAH

Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak buah naga merah bertujuan untuk mengetahui adanya antioksidan yang terkandung pada ekstrak buah naga merah yang akan diberikan pada hewan coba. Hasil aktivitas antioksidan (Uji DPPH) dari ekstrak buah naga merah disajikan pada tabel 1. Analisis uji menunjukkan adanya aktivitas antioksidan ekstrak buah naga merah sebanyak 16,181 ppm yang setara dengan vitamin C 12,290 ppm.

Tabel 1. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Naga Merah Pembanding Vitamin C

Nama Sampel	ppm
Ekstrak Buah Naga Merah	16,181
Vitamin C	12,290

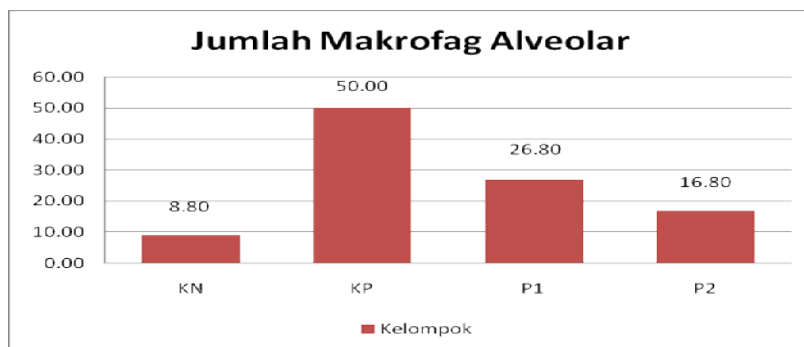
Penelitian tentang aktivitas antioksidan bertujuan untuk mengetahui kandungan antioksidan pada ekstrak buah naga merah dan untuk membuktikan bahwa ekstrak buah naga merah mengandung antioksidan yang dapat berperan menangkal radikal bebas juga bertujuan untuk mengetahui kandungan antioksidan pada ekstrak buah naga merah (Nurliyana, dkk., 2010). Pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak buah naga merah sebanyak 8 ml mengandung antioksidan setara dengan 16,181 ppm vitamin C. Artinya terdapat 111 µg senyawa yang setara dengan

vitamin C di dalam 1 ml ekstrak buah naga merah. Ekstrak buah naga merah sebesar 8 ml berasal dari 600 gram berat basah buah naga merah. Jika terdapat 111 μg senyawa setara vitamin C di dalam 1 ml ekstrak buah naga merah, maka kandungan senyawa antioksidan setara vitamin C dalam 8 ml adalah 8,88 mg. Dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat 8,88 mg senyawa antioksidan setara dengan vitamin C dalam 600 gram buah naga merah.

Angka yang diperoleh terkait kadar antioksidan setara vitamin C dalam ekstrak buah naga merah berbeda dengan perhitungan konsentrasi vitamin C yang tertera dalam laporan *Taiwan Food Industry Development and Research Authorities* 2007, yaitu terdapat 8 -9 mg vitamin C dalam 100 gram berat basah buah naga. Hal ini disebabkan oleh proses pembuatan ekstrak buah naga merah yang telah melalui proses *filter pressing* dengan suhu 50-60°C selama 2 jam. Selain itu, sari buah naga dipanaskan kembali dengan tekanan 1 atm selama 4 jam untuk memperoleh ekstrak yang kental. Proses ini dapat menurunkan kadar vitamin C dalam ekstrak buah naga merah karena vitamin C mudah teroksidasi akibat suhu panas yang tinggi dalam waktu yang lama dan mudah larut dalam air (Winarsi, 2007).

ANALISIS MAKROFAG ALVEOLAR

Selain uji aktivitas antioksidan dilakukan pengamatan dan pemeriksaan kerusakan paru-paru yang dinilai secara semikuantitatif di akhir perlakuan. Kerusakan paru dilihat berdasarkan jumlah makrofag alveolar pada tiap kelompok percobaan. Rerata jumlah makrofag alveolar dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rerata Makrofag Alveolar Berdasarkan Kelompok

Berdasarkan Gambar 1 diketahui bahwa rerata jumlah makrofa alveolar pada kelompok yang diberi ekstrak buah naga merah dosis 10,8 g/200 g BB yaitu 16,80. Rerata jumlah makrofag alveolar kelompok ekstrak buah naga merah dosis

7,2 g/200 g BB yaitu 26,80. Rerata jumlah makrofag alveolar kelompok kontrol negatif yaitu 8,80. Sedangkan kelompok kontrol positif yaitu 50,00. Jumlah rerata makrofag alveolar didapatkan hasil tertinggi pada kelompok kontrol positif, sedangkan rerata terendah terdapat pada kelompok kontrol negatif. Rerata makrofag alveolar adalah rata-rata dari suatu kelompok percobaan yang didapat dari jumlah sel makrofag alveolar yang mengalami degenerasi pada 5 kali pengamatan dengan bantuan kraticule, di mana pada tiap pengamatan dilakukan dengan melihat sel yang mengalami degenerasi/ 100 sel, dengan bantuan mikroskop perbesaran 400x.

Tabel 2. Perbedaan Jumlah Makrofag Alveolar pada Berbagai Kelompok

Kelompok	Rerata ± SD
Ekstrak buah naga merah dosis 10,8 g/200 g BB	16,80 ^a ± 1,483
Ekstrak buah naga merah dosis 7,2 g/200 g BB	26,80 ^b ± 1,924
Kontrol positif	50,00 ^c ± 2,236
Kontrol negatif	8,80 ^d ± 0,837

Pada Tabel 2 disebutkan bahwa jumlah makrofag alveolar kelompok kontrol positif berbeda nyata dengan semua kelompok, yaitu ekstrak buah naga merah dosis 10,8 g/200 g BB, ekstrak buah naga merah dosis 7,2 g/200 g BB, dan kontrol negatif. Jumlah makrofag alveolar kelompok kontrol negatif berbeda nyata dengan ekstrak buah naga merah dosis 10,8 g/200 g BB, dan ekstrak buah naga merah dosis 7,2 g/200 g BB, ekstrak buah naga merah dosis 10,8 g/200 g BB. Sama halnya dengan kelompok kontrol negatif, di mana kelompok perlakuan ekstrak buah naga merah dosis 10,8 g/200 g BB dan ekstrak buah naga merah dosis 7,2 g/200 g BB, masing-masing juga memiliki perbedaan nyata dengan kelompok kontrol positif.

Hasil pengukuran menunjukkan adanya peningkatan jumlah makrofag alveolar karena paparan asap rokok. Rerata jumlah makrofag alveolar pada kelompok kontrol positif, berbeda nyata dengan kontrol negatif, di mana rerata jumlah makrofag alveolar kelompok kontrol positif lebih banyak. Penurunan jumlah sel makrofag terlihat pada kelompok yang mendapat perlakuan ekstrak buah naga merah. Jumlah rerata makrofag alveolar pada kelompok kontrol positif, berbeda nyata dengan kelompok perlakuan ekstrak buah naga merah dosis 10,8 g/200 g BB, dan kelompok perlakuan ekstrak buah naga merah dosis 7,2 g/200 g BB, di mana rerata jumlah makrofag alveolar lebih sedikit. Hal ini menunjukkan bahwa menurunnya aktivasi jumlah makrofag alveolar disebabkan pemberian ekstrak buah naga merah. Hasil pengamatan rerata jumlah makrofag alveolar kelompok kontrol

positif (dipapar asap rokok) ($50,00 \pm 2,236$), lebih banyak dibanding dengan kelompok kontrol negatif (tidak terpapar asap rokok) ($8,80 \pm 0,837$). Kelompok kontrol positif dengan semua kelompok, yaitu ekstrak buah naga merah dosis 10,8 g/200 g BB, ekstrak buah naga merah dosis 7,2 g/200 g BB, dan kontrol negatif, menunjukkan ada perbedaan rata-rata jumlah makrofag alveolar. Hal ini menunjukkan bahwa asap rokok dapat meningkatkan aktivasi makrofag alveolar.

Beberapa penelitian membuktikan, bahwa paparan asap rokok dapat mempengaruhi jumlah aktivasi makrofag alveolar. Penelitian yang dilakukan Marwan, dkk (2005), Lopes, dkk (2013) menunjukkan bahwa tikus yang dipapar asap rokok, jumlah makrofag alveolar secara signifikan lebih banyak dibanding dengan yang tidak terpapar asap rokok. Paparan asap rokok pada hewan coba tikus menyebabkan terjadinya kerusakan paru-paru berupa kerusakan pada dinding alveolus. Namun, tingkat kerusakan pada dinding alveolus semakin menurun seiring dengan meningkatnya dosis pemberian ekstrak buah naga merah. Berdasarkan hasil penelitian, bahwa derajat kerusakan ekstrak buah naga merah dosis 10,8 g/200 g BB lebih rendah ($16,80 \pm 1,483$) dibandingkan ekstrak buah naga merah dosis 7,2 g/200 g BB ($26,80 \pm 1,924$). Pada kelompok kontrol negatif menunjukkan hubungan antar alveolus yang rapat pada kelompok yang tidak dipapar asap rokok dimana matriks ekstraseluler terdiri dari serabut kolagen dan elastin masih utuh. Lumen alveolus nampak normal tidak membesar yang umum terjadi apabila ada kelainan paru-paru. Gambaran makroskopis alveoli paru dalam keadaan normal, di mana hasil pemeriksaan histopatologi paru kelompok negatif menunjukkan kerusakan atau makrofag alveolar tidak terjadi. Hal ini disebabkan paru-paru tersebut tidak terpapar dengan toksikan yang terkandung dalam asap rokok, sehingga sel-selnya tidak mengalami kerusakan.

Buah naga merah dapat dijadikan sumber antioksidan yang dapat memangsa radikal bebas yang berasal dari asap rokok, sehingga dapat melawan stres oksidatif dan menolak kerusakan lebih lanjut, dan tidak dapat merangsang makrofag alveolar. Akibat dari kurangnya rangsangan pada makrofag maka sel paru-paru tidak ada pengaktifan makrofag alveolar yang menyebabkan bertambahnya jumlah makrofag alveolar (Anggraini, dkk, 2012).

Hasil yang diperoleh dari penelitian secara preventif menunjukkan bahwa kelompok yang diberi paparan asap rokok disertai dengan pemberian ekstrak buah naga merah menunjukkan adanya penurunan jumlah makrofag alveolar

dibandingkan dengan kelompok yang hanya dipapar asap rokok tanpa diberi ekstrak buah naga merah. Rerata jumlah makrofag yang hanya dipapar asap rokok sebesar $50,00 \pm 2,236$. Jumlah makrofag pada kelompok preventif yang mendapat ekstrak buah naga merah dosis 10,8 g/200 g BB dapat menurunkan atau mencegah kenaikan jumlah makrofag dengan rerata $16,80 \pm 1,483$.

KESIMPULAN

Paparan asap rokok mempengaruhi jumlah makrofag alveolar pada tikus wistar yang diberi paparan asap rokok. Pemberian ekstrak buah naga merah dapat mencegah peningkatan jumlah makrofag alveolar secara signifikan pada tikus yang dipapar asap rokok. Ekstrak buah naga merah dosis 10,8 g/200 g BB dapat menurunkan atau mencegah kenaikan jumlah makrofag dengan rerata $16,80 \pm 1,483$

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian yang mendapat hibah dari Kemenristekdikti berupa Penelitian Dosen Pemula (PDP) dengan kontrak No. 065/SP2H/LT/K7/KM/2018. Terimakasih juga pada Universitas Airlangga atas ijin penelitian dan Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya atas support penelitian yang diberikan.

REFERENSI

- Anggraini, H., Neni S. dan Pudjadi. (2012). *Pengaruh Pemberian Jus Mengkudu terhadap Reactive Oxygen Intermediate (ROI) Makrofag Bronchoalveolar Tikus Yang Terpapar Asap Rokok. Seminar Hasil-Hasil Penelitian - LPPM Unimus.* ISBN 978-602-18809-0-6.
- Djojodibroto, D., (2007). *Respirologi (Respiratory Medicine)*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Kristianti, J.B., dkk. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Lopes, A.G., Thiago S.F., Renata T.N., Manuella L., Karla M.P.P., Ari M.S., Ricardo M.B., Antonio J.R.S., Samuel S.V., and Luis C.P. (2013). Antioxidant Action of Propolis on Mouse Lungs Exposed to Short-term Cigarette Smoke, *Bioorganic And Medicinal Chemistry*, 21, 7570 - 7577.
- Marwan, E.W. dan 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*. Universitas Brawijaya. Malang.

- Mitchell, R.N., Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N., (2009). *BS Dasar Patologis Penyakit*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- 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*, 9 (1), 60-69.
- Nurliyana, R., Syed Zahir, I., Mustapha, S.K., Aisyah, M.R., and Kamarul, R.K. (2010). Antioxidant Study, of Pulps and Peels of Dragon Fruits: A Comparative Study. *International Food Research Journal*, 17, 367-375.
- Rebecca, O.P.S., Boyce, A.N., dan Chandra, S. (2010). Pigment Identification and Antioxidant Properties of Red Dragon Fruits (*Hylocereus polyrhizus*). *African Journal of Biotechnology*, 9 (10), 1450-1454.
- Reimondos, A., Utomo, I.D., McDonald, P., Hull, T., Suparno, H., dan Utomo, A. (2012). *Merokok dan Penduduk Dewasa Muda di Indonesia*. Australia The Australian National University.
- RISKESDAS. (2013). *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Akses internet online. www.litbang.depkes.go.id/sites/download/rkd2013/Laporan_Riskesdas2013.PDF [6 Juni 2017].
- Subagja, H.P. (2013). *Saktinya Buah Naga dan Delima: Tangkal Penyakit-Penyakit Mematikan*. Yogyakarta: FlashBooks.
- Winarsi, H. (2007). *Antiosidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- World Health Organization. (2008). *WHO Report on The Global Tobacco Epidemic 2008*. New York: WHO publisher.