

Ekstrak Kelopak Rosella Merah Mencegah Kenaikan Malondialdehid Tikus Wistar yang Dipapar Asap Rokok

(Red Rosella Calyx Extract Prevent the Increase of Malondialdehyde of Wistar Rats Exposed to Cigarette Smoke)

ARYA ULILALBAB^{1,2*}, BAMBANG WIRJATMADI², MERRYANA ADRIANI²

**Program Studi D3 Gizi, STIKES Karya Husada, Jalan Soekarno Hatta No. 7, Pare, Kediri.
Program Studi Magister Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat,
Universitas Airlangga, Kampus C, Jalan Airlangga No. 4-6 Mulyorejo, Surabaya.**

Diterima 10 Maret 2015, Disetujui 30 Juli 2015

Abstrak: Saat ini, jumlah perokok di Indonesia masih tinggi. Asap rokok mengandung radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis dampak pemberian ekstrak rosella merah terhadap pencegahan kenaikan malondialdehid (MDA) serum tikus wistar yang dipapar asap rokok. Total sampel 20 tikus jantan dan dibagi menjadi empat kelompok: kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan ekstrak kelopak rosella merah dosis 270 mg/bb dan ekstrak kelopak rosella merah dosis 540 mg/bb. Kontrol negatif hanya diberi pakan standar. Kontrol positif diberi pakan standar + dipapar 2 rokok per hari. Kelompok perlakuan diberi pakan standar + ekstrak kelopak rosella merah di pagi hari dan setelah itu dipapar 2 rokok. Penelitian ini dilakukan selama 28 hari. Di akhir penelitian, serum darah dianalisis untuk menentukan nilai MDA. Hasil penelitian uji MDA serum dianalisis dengan *One Way* ANOVA dan diikuti oleh uji Tukey HSD pada level 5%. Pemberian ekstrak kelopak rosella merah dosis 270 mg/kg bb dan ekstrak kelopak rosella merah dosis 540 mg/bb dapat mencegah peningkatan MDA serum secara signifikan pada tikus wistar yang dipapar asap rokok.

Kata kunci: MDA serum, rosella merah, antioksidan, asap rokok, radikal bebas.

Abstract: Currently, the number of smokers in Indonesia are still high. Cigarette smoke contains free radicals. This study was aimed to analyze the effects of red rosella extract on the prevention of the increasing of malondialdehyde (MDA) serum of wistar rats exposed to cigarette smoke. The total sample of 20 male rats were divided into four groups: negative control, positive control, treatment of red rosella calyx extract dose 270 mg/bw and red rosella calyx extract dose 540 mg/bw. Negative control only given with standard feed. Positive control given by standard feed + exposed to 2 cigarettes a day. Treatment group were feeded by standard + red rosella calyx extract in the morning and exposed to 2 cigarettes after that. This study was conducted for 28 days. At the end of the study, blood serum was analyzed to determine MDA. The results of the study of MDA serum test was analyzed with One Way ANOVA and followed by Tukey HSD test at 5% level. The giving of red rosella calyx extract dose 270 mg/bw and red rosella calyx extract dose 540 mg/bw can significantly prevent the increase of MDA serum in wistar rats exposed to cigarette smoke.

Keywords: MDA serum, red rosella, antioxidant, cigarette smoke, free radical.

* Penulis korespondensi: Hp.: 085707133710
Email: arya17051990@gmail.com

PENDAHULUAN

MEROKOK merupakan hal yang tidak asing dalam kehidupan masyarakat Indonesia. Perilaku merokok penduduk usia ≥ 15 tahun di Indonesia tahun 2007 yaitu 34,2%⁽¹⁾. Berdasarkan hasil RISKESDAS 2013, sejumlah 36,3% prevalensi penduduk usia ≥ 15 tahun yang merokok mengalami peningkatan. Sulit untuk menghentikan kebiasaan merokok pada masyarakat. Nikotin pada rokok dapat menyebabkan ketagihan dan gangguan pada jantung serta paru-paru⁽²⁾.

Secara normal, radikal bebas sudah terdapat di dalam tubuh (radikal bebas endogen). Tubuh secara alami mempunyai antioksidan yang berperan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas yang relatif stabil. Apabila radikal bebas terlalu banyak, maka antioksidan tersebut tidak mampu mengatasinya. Dalam keadaan seperti ini, tubuh memerlukan suplai antioksidan⁽³⁾, contohnya seperti antioksidan yang terkandung pada kelopak rosella.

Data RISKESDAS 2007 menunjukkan bahwa 69% rumah tangga memiliki pengeluaran untuk rokok. Hal ini berarti minimal terdapat 1 orang anggota rumah tangga yang mengkonsumsi tembakau. Secara nasional, 85,4% perokok usia 10 tahun keatas merokok di dalam rumah ketika bersama anggota rumah tangga lain⁽⁴⁾. Permasalahannya, menghilangkan kebiasaan merokok bukanlah hal yang mudah. Dalam asap rokok terkandung radikal bebas yang membahayakan tubuh, sehingga sementara ini perlu adanya inovasi untuk mengembangkan suatu produk yang dapat meminimalisir dampak negatif yang ditimbulkan oleh asap rokok.

Sangat ironis, banyak masyarakat yang tidak menyadari dampak negatif rokok. Padahal bahaya rokok sudah tercantum dalam kemasan, bahwasanya merokok dapat menyebabkan kanker, serangan jantung, impotensi, gangguan kehamilan dan janin. Dampak tersebut berhubungan dengan adanya kandungan radikal bebas dalam asap rokok seperti NO, CO, NO_x, H₂-O₂, aldehyd, *trace elements* dan *nitroso compounds*⁽⁵⁾. Radikal bebas dapat menyebabkan stress oksidatif yang merupakan muara dari penyakit degeneratif.

Ekstraksi kelopak rosella dengan menggunakan pelarut air mempunyai total aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan biji, daun, maupun batang rosella. Kelopak rosella dalam pelarut air mempunyai total aktivitas antioksidan yang tinggi yaitu sebesar 54,1%⁽⁶⁾. Dalam penelitian ini diuraikan pemanfaatan ekstrak kelopak rosella dalam pelarut air sebagai alternatif antioksidan untuk meminimalisir dampak buruk rokok. Ekstrak rosella dalam pelarut

air dapat diaplikasikan sebagai bahan tambahan alami untuk pangan fungsional. Pelarut air cocok untuk mengekstrak antosianin yang mempunyai kepolaran sama dengan air. Selain itu, pelarut air dipilih karena lebih aman dan mudah diaplikasikan dalam skala rumah tangga.

Rosella banyak mengandung antosianin. Satu gram rosella mengandung 56,5 mg *delphinidin-3-O-sambubioside* dan 20,8 mg *cyanidin-3-O-sambubioside*⁽⁷⁾. Asap rokok mengandung radikal bebas dalam konsentrasi tinggi⁽⁸⁾. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan cara menerima atau mendonorkan sebuah elektron untuk menghasilkan molekul yang lebih stabil (berpasangan). Radikal bebas bisa bersumber dari asap kendaraan, minyak jelantah dan asap rokok.

Antioksidan yang terkandung dalam *effervescent* rosella ungu terbukti efektif menangkalkan radikal bebas yang bersumber dari minyak jelantah⁽⁹⁾, sehingga perlu pengkajian lebih lanjut apakah antioksidan ekstrak kelopak rosella merah dapat menangkalkan radikal bebas yang bersumber dari paparan asap rokok. Perlu dilakukan penelitian tentang manfaat ekstrak kelopak rosella melalui pengujian pada hewan coba yang diberi paparan asap rokok dengan melihat indikator stres oksidatif berupa MDA serum.

BAHAN DAN METODE

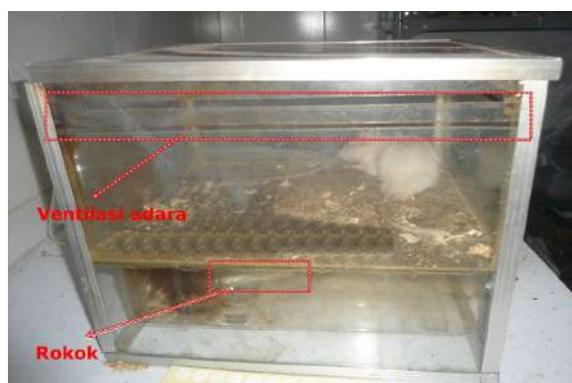
BAHAN. Rosella merah diperoleh dari Desa Joho, Kecamatan Semen, Kabupaten Kediri. Rokok yang digunakan dalam penelitian ini mengandung nikotin 2,1 mg dan tar sebesar 34 mg.

ALAT. Peralatan gelas dan non gelas yang umum digunakan di laboratorium, timbangan digital dan timbangan analitik (Denver instrument M-310), *vacuum evaporator*, labu ukur, tabung erlenmeyer.

METODE. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium. Tahap *in vivo* yang digunakan adalah *True Experimental Laboratory* dengan *post test only control group design*. Rancangan perlakuan pada penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel terdiri dari 20 ekor tikus jantan, dipilih secara acak/ *random sampling* untuk dibagi dalam satu kelompok kontrol negatif (normal), satu kelompok kontrol positif dan empat kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus dengan penjelasan sebagai berikut: kelompok I adalah kontrol negatif (kelompok normal), diberi pakan standard, tidak diberi ekstrak rosella dan tidak diberi paparan asap rokok; kelompok II adalah kontrol positif, diberi pakan standard, diberi air 1 mL *per oral* (p.o.), selanjutnya diberi paparan asap rokok sebanyak 2 batang; kelompok III adalah perlakuan

1, diberi pakan standard, diberi ekstrak rosella merah dosis 270 mg/kg bb *p.o.*, selanjutnya diberi paparan asap rokok sebanyak 2 batang; kelompok IV adalah perlakuan 2, diberi pakan standard, diberi ekstrak rosella merah dosis 540 mg/kg bb *p.o.*, selanjutnya diberi paparan asap rokok sebanyak 2 batang.

Tahap *in vivo* dilakukan dengan memberikan ekstrak rosella merah dan ekstrak rosella ungu sesuai dosis yang telah ditetapkan, selanjutnya diberi paparan asap rokok sebanyak 2 batang/ ekor. Perlakuan tersebut dilakukan selama 28 hari. Pada tahap akhir dilakukan pembedahan, selanjutnya darah diambil dan dilakukan pengujian bio-assay MDA serum. Tikus yang dipapar asap rokok disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Tikus yang dipapar asap rokok.

Rosella merah diperoleh dari Desa Joho Kecamatan Semen Kabupaten Kediri. Rokok yang digunakan dalam penelitian ini mengandung nikotin 2,1 mg dan tar sebesar 34 mg. Dosis paparan asap rokok sebanyak 2 batang/tikus/hari. Proses pemaparan dilaksanakan setelah pemberian ekstrak rosella *p.o.* (*per oral*/sonde lambung) pada kelompok perlakuan. Pemaparan dilakukan di *chamber* untuk kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Penelitian dilaksanakan selama 6 bulan dan dilakukan di beberapa tempat, yaitu: Laboratorium *In Vivo*, Fakultas Kedokteran (FK), Universitas Wijaya Kusuma, Surabaya (pembuatan ekstrak, pemeliharaan dan perlakuan, serta pembedahan hewan coba), Laboratorium Biokimia FK Universitas Wijaya Kusuma Surabaya (pengujian MDA), Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Universitas Brawijaya (pengujian kadar antosianin) dan Laboratorium Farmakologi, FK Universitas Brawijaya (pengujian aktivitas antioksidan).

Sampel untuk *in vivo* adalah tikus putih jenis *Rattus norvegicus* strain Wistar jantan dewasa usia 3-4 bulan dengan berat rata-rata 180-200 g. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri atas lima ekor tikus. Pada tahap awal akan dilakukan analisis normalitas

dengan uji Shapiro-Wilk dan uji homogenitas dengan Levene statistic. 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 Tukey HSD untuk melihat lebih jelas seberapa besar perbedaan tiap kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, hewan coba pada saat adaptasi diberikan pakan merk POKPHAND CP 591, dengan komposisi kadar air maksimal 13,0%, protein 18,0-20,0%, lemak minimal 3,0%, serat maksimal 6,0%, abu maksimal 7,0%, kalsium minimal 0,9%, dan fosfor minimal 0,6%. Bahan-bahan yang dipakai dalam formulasi pakan, antara lain: jagung, dedak, tepung ikan, bungkil kedelai, bungkil kelapa, tepung daging dan tulang, pecahan gandum, bungkil kacang tanah, tepung daun, canola, vitamin, kalsium, fosfat dan *trace mineral*.

Kadar antosianin berturut-turut dari yang tertinggi yaitu ekstrak rosella merah dosis 540 mg/kg bb (289,86 bpj dan ekstrak rosella merah dosis 270 mg/kg bb (215,47 bpj) (Tabel 1). Aktivitas antioksidan (uji DPPH) berturut-turut dari yang tertinggi yaitu ekstrak rosella merah dosis 540 mg/kg bb (91,867%), BHT sebagai kontrol (91,620%) dan ekstrak rosella merah dosis 270 mg/kg bb (82,810%) (Tabel 2).

Tabel 1. Hasil analisis kadar antosianin ekstrak rosella merah.

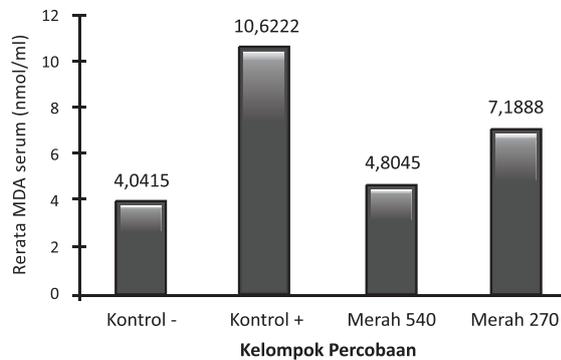
Sampel	Antosianin (ppm)
540 mg/kg bb (M)	289,86
270 mg/kg bb (M)	215,47

Tabel 2. Hasil analisis aktivitas antioksidan (uji DPPH) ekstrak rosella merah.

Sampel	% inhibisi
BHT (butil hidroksi toluena)	91,620
540 mg/kg bb (M)	91,867
270 mg/kg bb (M)	82,810

Rerata nilai MDA kelompok ekstrak rosella merah dosis 540 mg/kg bb yaitu 4,8045 nmol/mL. Rerata nilai MDA kelompok ekstrak rosella merah dosis 270 mg/kg bb yaitu 7,1888 nmol/mL. Rerata nilai MDA kelompok kontrol positif yaitu 10,6222 nmol/mL. Rerata nilai MDA kelompok kontrol negatif yaitu 4,0415 nmol/mL. Nilai MDA paling tinggi yaitu pada

kontrol positif, sedangkan nilai MDA paling rendah yaitu pada kontrol negatif. Pada kelompok perlakuan, nilai MDA paling rendah yang mendekati kelompok kontrol negatif yaitu pada perlakuan rosella merah dosis 540 mg/kg bb (Gambar 2).



Gambar 2. Rerata nilai MDA serum.

Nilai MDA serum untuk kelompok pemberian ekstrak rosella merah dosis 540 mg/kg bb, tidak berbeda nyata dengan ekstrak rosella merah dosis 270 mg/kg bb dan kontrol negatif. Ekstrak rosella merah dosis 540 mg/kg bb, ekstrak rosella merah dosis 270 mg/kg bb, dan kontrol negatif berbeda nyata dengan kontrol positif.

Kelompok kontrol negatif mempunyai rerata MDA serum paling rendah dibandingkan kelompok lain. Hal ini dikarenakan pada kelompok ini tidak diberikan paparan asap rokok sehingga MDA serum yang dihasilkan cenderung lebih rendah dibandingkan kelompok lain. MDA serum paling tinggi terdapat pada kelompok kontrol positif. Hal ini dikarenakan pada kelompok kontrol positif diberikan paparan asap rokok tanpa diberi asupan sumber antioksidan. Asap rokok merupakan radikal bebas yang dapat menyebabkan stres oksidatif.

Radikal bebas yang tinggi ditandai dengan meningkatnya MDA serum. MDA merupakan produk akhir proses peroksidasi lipid. Tingginya MDA serum dipengaruhi oleh peroksidasi lipid yang disebabkan radikal bebas. Adanya antioksidan akan mampu mengurangi jumlah radikal bebas⁽¹⁰⁾. Kelompok perlakuan ekstrak rosella merah dosis 540 mg/kg bb dan ekstrak rosella merah dosis 270 mg/kg bb tidak signifikan dengan kelompok kontrol negatif (kelompok normal). Hal ini menandakan bahwa pemberian kedua dosis memberikan pengaruh terhadap penurunan tingkat stres oksidatif yang ditimbulkan oleh asap rokok. Kelompok kontrol positif menunjukkan kondisi stres oksidatif yang ditandai oleh radikal bebas yang tinggi.

Malondialdehyde (MDA) merupakan produk

oksidasi sekunder yang bersifat toksik terhadap sel hidup. MDA merupakan inisiator, karsinogen dan mutagen. MDA dapat berikatan dengan lipid dan protein, menginaktivasi ribonuklease dan berikatan kovalen dengan asam nukleat⁽¹¹⁾. Malondialdehyde (MDA) adalah indikator yang sering digunakan untuk mengukur stres oksidatif⁽¹²⁾. Pengukuran MDA cocok digunakan sebagai indikator peroksida lemak. Peningkatan tingkat produk peroksida lemak dapat dihubungkan dengan berbagai macam penyakit kronik pada manusia seperti aterosklerosis, stres oksidatif dan penyakit degeneratif yang disebabkan adanya radikal bebas akibat meningkatnya konsentrasi MDA⁽¹³⁾.

Keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara produksi senyawa turunan oksigen dengan sistem antioksidan tubuh inilah yang memicu kondisi stres oksidatif, dimana salah satu parameternya adalah peningkatan produksi turunan radikal bebas⁽¹⁴⁾. Antioksidan berperan dalam meredam efek buruk radikal bebas dimana radikal bebas ini merupakan salah satu penyebab proses penuaan⁽¹⁵⁾.

Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif (normal). Hal ini dikarenakan kelompok kontrol negatif hanya diberi perlakuan pakan standard sehingga MDA serum cenderung normal (4,0415 nmol/ mL) dan paling rendah dibandingkan dengan kelompok lain. Sedangkan kelompok kontrol positif mempunyai MDA serum paling tinggi (10,6222 nmol/ mL) dibandingkan dengan kelompok lain.

Hal ini mengindikasikan pada kelompok kontrol positif terjadi stress oksidatif, dikarenakan hanya diberi paparan asap rokok dan pakan standard tanpa pemberian asupan antioksidan. MDA testis tikus pada kontrol positif yang diberi paparan asap rokok mempunyai nilai paling tinggi dibandingkan dengan kelompok normal⁽¹⁶⁾.

Pada kontrol positif, tidak adanya asupan antioksidan menyebabkan radikal bebas dalam darah meningkat. Hal ini ditandai dengan meningkatnya MDA serum. Tingginya MDA serum disebabkan oleh tidak adanya asupan antioksidan yang dapat menetralkan reaksi peroksidasi lemak. Peroksidasi lemak merupakan reaksi berantai terhadap asam lemak tak jenuh (PUFA) yang dipicu oleh radikal bebas⁽¹⁷⁾. Keberadaan radikal bebas tanpa adanya antioksidan sebagai peredam menyebabkan MDA serum tikus menjadi meningkat⁽¹⁸⁾.

MDA merupakan produk akhir dari oksidasi lipid. Tingginya MDA serum dipengaruhi oleh peroksidasi lipid, yang secara tidak langsung menunjukkan tingginya jumlah radikal bebas. Adanya kinerja antioksidan pada kedua dosis ekstrak rosella merah tersebut dapat mengurangi efek radikal bebas yang

dapat menyebabkan stres oksidatif⁽¹⁰⁾. Ekstrak rosella merah dosis 540 mg/kg bb dan dosis 270 mg/kg bb memberikan efek antioksidan yang signifikan dalam mencegah stres oksidatif. Hal ini ditunjukkan dengan MDA serum yang dapat dicegah kenaikannya, dibandingkan kelompok kontrol positif yang mempunyai MDA serum tinggi.

Ekstrak rosella dengan pelarut etanol dosis 250 mg/kg bb menurunkan MDA sebesar 28%, dosis 500 mg/kg bb menurunkan MDA sebesar 50,2% pada tikus wistar jantan yang diberi minyak jelantah⁽¹⁹⁾. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak rosella mampu menurunkan MDA tikus wistar yang diberi minyak jelantah, sesuai dengan penelitian ini bahwa ekstrak rosella merah dosis 270 mg/kg BB dan dosis 540 mg/kg BB mampu menurunkan nilai MDA tikus wistar yang diberi paparan asap rokok.

SIMPULAN

Ekstrak rosella merah dosis 540 mg/kg bb secara efektif mampu mencegah kenaikan MDA serum. Hal ini dikarenakan kadar antosianin (289,86 bpj) dan aktivitas antioksidan (91,867%) ekstrak rosella merah dosis 540 mg/kg bb lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak rosella merah dosis 270 mg/kg bb. Pada kelompok kontrol negatif, MDA serum paling rendah dibandingkan kelompok lain. Sedangkan pada kelompok kontrol positif, MDA serum paling tinggi dibandingkan kelompok lain.

SARAN

Setelah dilakukan penelitian, penulis menyadari perlunya dilakukan pengujian lebih lanjut pemberian ekstrak rosella merah dosis 540 mg/kg bb terhadap keamanan lambung. Hal ini dikarenakan rosella merah dosis tinggi (540 mg/kg bb) bersifat lebih asam dan dimungkinkan bisa menyebabkan iritasi lambung. Selain itu juga diperlukan standardisasi ekstrak rosella sehingga aman untuk dimanfaatkan sebagai bahan pangan fungsional.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih saya sampaikan kepada Bapak Wahyu Pradana, S.TP., sebagai laboran di laboratorium *in vivo*, Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, yang telah membantu segala keperluan mulai dari persiapan penelitian sampai pembedahan hewan coba sehingga penelitian ini bisa berjalan dengan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. Riset kesehatan dasar (RISKESDAS). Jakarta: Badan penelitian dan pengembangan kesehatan kementerian kesehatan RI; 2013. Diambil dari URL:http://www.litbang.depkes.go.id/sites/download/rkd2013/Laporan_Riskesda2013.PDF. Diakses 20 Maret, 2014.
2. Voges E. Tobacco encyclopedia. Tabac Journal International. 2000. 279.
3. Sofia, Dinna. Antioksidan dan radikal bebas. 2006. Diambil dari URL: www.chemistry.org. Diakses 20 Maret, 2014.
4. Anonim. Riset kesehatan dasar (RISKESDAS) 2007. Jakarta: Badan penelitian dan pengembangan kesehatan kementerian kesehatan RI; 2007. Diambil dari URL :http://www.litbang.depkes.go.id/bl_riskesda2007/ . diakses 20 Maret, 2014.
5. Valvanidis A, Haralambous E. A comparative study by electron paramagnetic resonance of free radicals species in the main steam and side stream smoke of cigarettes with conventional acetate filters and biofilters. Medline Journal. 2001.6(3):161-71.
6. Esa NM, Hern FS, Ismail A, Yee CL. Antioxidant activity in different parts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential exploitation of the seeds. Food Chemistry. 2010. 122:1055-60.
7. Alarco-Alonso J, Zamilpa A, Aguilar FA, Herrera-Ruiz M, Tortoriello J, Jimenez-Ferrer E. Pharmacological characterization of the diuretic effect of *Hibiscus sabdariffa* Linn (Malvaceae) extract. J Ethnopharmacol. 2012.139:751-6.
8. Park EM, Park Y, Mec YS, Gwak YS. Oxidative damaged tissue of rats exposed to cigarette smoke. Free Radicals Biology Medicine. 1998. 25(1):79-86.
9. Ulilalbab A, Dani A, Maulana HI., Fitriani E, Resti F, dan Estiasih T. Pemberian tablet effervescent rosella ungu menurunkan nilai MDA (malondialdehid) tikus wistar yang dipapar minyak jelantah. The Indonesian Journal of Public Health. 2012.9(1):81-86. Diambil dari: <http://journal.unair.ac.id/filerPDF/phdd6f78b8a6full.pdf>. Diakses 16 Agustus, 2014.
10. Favier A, Cadet J, Kalyanaraman B, Fontecave M and Pierre JL. Analysis of free radical in biological system. Switzerland: Birkhauser Verlag-Basel; 1995.
11. Jadhav SJ, Nimbalkar SS, Kulkarni AB and Madhavi DL. Lipid oxidation in biological and food system. In: Madhavi DL, Deshpande SS, Salunkhe DK, editors. Food antioxidants: technological, toxicological, and health perspective. USA: Marcell Dekker Inc.; 1996.
12. Wulandari SS. Pengaruh pemberian dekok dan instant jahe (*Zingiber officinale* Rocs.) terhadap kadar MDA serum, hepar dan paru tikus (*Rattus norvegicus*) yang dipapar asap rokok kretek sub akut [skripsi]. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya; 2002.
13. Sesa LB. Pengaruh cuka apel terhadap kadar malondialdehyde (MDA) hepar tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar yang diberi diet aterogenik [skripsi]. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas

- Brawijaya; 2009.
14. Cotran J, Kumar V. Basic pathology of disease. New York: McGraw Hill Publisher; 1999.
 15. Pangkahila W. Memperlambat penuaan meningkatkan kualitas hidup. Anti-aging medicine. Cetakan ke-1. Jakarta. Penerbit Buku Kompas; 2007. 8-11. Dalam: Suwandi T. Pemberian ekstrak kelopak bunga rosella menurunkan malondialdehid pada tikus yang diberi minyak jelantah [tesis]. Denpasar: Program Pascasarjana Universitas Udayana; 2012.
 16. Permatasari HK, Permatasari N, Subandi. Pengaruh ekstrak jintan hitam terhadap MDA dan sel spermatogonium tikus yang dipapar asap rokok kretek subakut. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2011. 26(3):161-5.
 17. Suryohudoyo P. Oksidan dan antioksidan pada diabetes melitus. Dalam: Tjokroprawiro A. Proceedings of The 3rd Surabaya Diabetes Update. Surabaya, 14-15 June, 1997:1-21.
 18. Arief A. Pengaruh antioksidan pada tempe kedelai terhadap kadar superoksid dismutase (SOD) dan malondialdehid (MDA) serum tikus wistar dipapar dengan asap rokok sub-akut [skripsi]. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya; 2000.
 19. Suwandi T. Pemberian ekstrak kelopak bunga rosella menurunkan malondialdehid pada tikus yang diberi minyak jelantah [tesis]. Denpasar: Program Pascasarjana Universitas Udayana; 2012.