Oral Consumption of Combined Vitamin C and E Repair Liver Damage Due to Subchronic Exposure to Cigarette Kretek

Pemberian Kombinasi Vitamin C dan E Peroral Memperbaiki Kerusakan Hepar Akibat Paparan Rokok Kretek Sub Kronik

I Ketut Gede Muliarta*, Endang Sriwahyuni**, Yuliawati***

* Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

** Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

*** Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

ABSTRACT

Free radicals in cigarette smoke can destroy tissue and cells of the body. The activity of free radicals can be reduced by antioxidants from external and internal. The objective of this research is to investigate the effects of vitamin C and vitamin E combination on the histopathology of rat liver exposed by subchronic cigarette smoke. This research using true experimental study with post test only control group design. The sample of this research we used 32 Wistar rat, ages between 2-3 months, weight 150-200 grams divided 8 grouped. Cigarette smoke exposed for 10 weeks. Parameter will be measured is the number of liver cells damage (necrosis). Data analysis uses the One-Way ANOVA method followed by Turkey test. The result show the number of liver cells damage are significantly decrease. The conclusion vitamin C and vitamin E combination decrease the number of the liver cells damage of the rat liver, that has been exposed to subchronic cigarette smoke at optimal dose 0,20 mg/kg bw vitamin C and 0,04 IU/kg bw vitamin E.

Keywords: vitamin C, vitamin E, cigarette smoke, liver cells damage.

PENDAHULUAN

Merokok dapat menyebabkan berbagai macam gangguan kesehatan, baik pada perokok itu sendiri maupun pada orang lain di sekitarnya. Telah diinformasikan bahwa setiap delapan detik satu orang meninggal karena rokok. Namun demikian, jumlah perokok di negara berkembang terus meningkat walaupun di negara maju telah mengalami penurunan (1). Di kawasan ASEAN konsumsi rokok menurun, kecuali di Indonesia. Dalam sepuluh tahun terakhir, konsumsi rokok di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 44,1% dan saat ini Indonesia menduduki peringkat ke-4 sebagai negara dengan jumlah perokok terbanyak di dunia setelah Amerika Serikat, Cina, dan Jepang (2).

Berdasarkan lamanya, merokok dapat dibedakan menjadi merokok akut, subkronik dan kronik. Yang dimaksud subkronik adalah selama 10% masa hidup, pada manusia selama ± 6 tahun (3).

Rokok mengandung kurang lebih 4000 elemen-elemen, dan setidaknya 200 diantaranya dinyatakan berbahaya bagi kesehatan (4). Asap rokok merupakan salah satu sumber radikal bebas. Dalam satu kali hisap, perokok memasukkan kurang lebih 1016 molekul radikal bebas dan berbagai bahan kimia tar, asbestos, H_2O_2 , dan lain-lain ke dalam tubuhnya. Selain datang dari luar tubuh, radikal bebas juga dihasilkan dari proses metabolisme di dalam tubuh kita. Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil yang dapat

menyebabkan kerusakan berbagai organ tubuh, seperti paru-paru, hepar, dan jantung (5).

Hepar merupakan salah satu organ utama tubuh kita yang amat rentan karena merupakan filter dari bahan-bahan toksik yang masuk ke dalam tubuh, selain itu hepar memiliki sistem sirkulasi ganda sehingga akumulasi bahan-bahan toksik di hepar lebih besar (6). Pada hepar, radikal bebas dapat menyebabkan perubahan struktur dan fungsi (7). Mekanisme kerja yang mendasarinya adalah lipid peroksidasi yang selanjutnya menyebabkan kerusakan membran sel. Hal ini menyebabkan perubahan biokimia yang bersifat kompleks dan akhirnya dapat mengakibatkan kerusakan sel hepar (8). Kerusakan sel hepar yang mekanismenya didasari oleh kerusakan membran sel adalah nekrosis (9).

Sebenarnya dalam tubuh sudah terdapat enzim yang dapat menangkal radikal bebas, namun bila jumlah radikal bebas berlebihan, seperti pada perokok, tubuh memerlukan antioksidan dari luar untuk menangkal radikal bebas (10). Dari berbagai penelitian diketahui bahwa vitamin C dan vitamin E merupakan antioksidan yang dapat mengurangi peluang terjadinya berbagai macam penyakit akibat radikal bebas. Juga telah diketahui bahwa vitamin C dapat meregenerasi vitamin E secara efektif meskipun vitamin C bekerja pada sitoplasma dan vitamin E bekerja pada membran sel (11). Sehingga timbul pertanyaan, apakah kombinasi vitamin C dan vitamin E dapat memberikan efek yang optimal dalam meredam aktifitas radikal bebas dan mengurangi kerusakan sel tubuh, khususnya sel hepar, akibat paparan asap rokok subkronik. Timbul juga pertanyaan berapakah dosis kombinasi yang paling efektif mengingat penelitian Subandi (2000) menunjukkan bahwa dosis vitamin C 0,2 mg/g BB

Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. XXV, No. 1, April 2009;
Korespondensi: I Ketut Gede Muliarta, Laboratorium
Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya; Telp:
(0341) 569117

pada tikus merupakan dosis optimal dan pemberian vitamin C di atas dosis tersebut efektivitasnya justru menurun (12).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui manfaat pemberian antioksidan dari luar berupa kombinasi vitamin C dan vitamin E yang dilarutkan dalam minyak wijen untuk mengurangi kerusakan sel, khususnya sel hepar, yang disebabkan oleh radikal bebas pada perokok subkronik. Penelitian ini menggunakan minyak wijen sebagai pelarut vitamin E untuk memudahkan pemberian vitamin E pada hewan coba. Minyak wijen memiliki efek antioksidan karena mengandung sesaminol yang berfungsi sebagai *scavenger* radikal peroksid. Penelitian yang dilakukan oleh Fatmawati (2004) menunjukkan bahwa kombinasi minyak wijen dan vitamin E mempunyai efek sinergis dalam menghambat stress oksidan pada liver (13).

Dalam penelitian ini digunakan rokok kretek karena rokok kretek memiliki kemampuan memicu radikal bebas yang lebih kompleks daripada rokok putih, hal ini terbukti dari tingkat peroksidasi lipid akibat rokok kretek yang lebih tinggi dibandingkan peroksidasi lipid akibat rokok putih (14). Diketahui pula bahwa jenis rokok yang diproduksi di Indonesia tergolong unik, rokok kretek jauh lebih dominan daripada rokok putih yang sebenarnya relatif kecil risikonya terhadap gangguan kesehatan (15).

METODE

Penelitian ini menggunakan studi *true experimental* dengan *post test only control group design*, untuk mengetahui bagaimana pengaruh pemberian kombinasi vitamin C dan vitamin E terhadap gambaran histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus strain Wistar*) yang dipapar asap rokok kretek sub kronik. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap. Hewan coba yang digunakan hewan coba (*Rattus norvegicus Strain Wistar*, umur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gram) sebanyak empat dimasing-masing kelompok. Paparan sub kronik asap rokok dalam penelitian ini diberikan sebanyak 1 batang per hari selama 10 minggu. Vitamin C dan E yang diberikan adalah vitamin C murni (proanalisa) berbentuk pulvis dan diperoleh dari perusahaan obat tertentu.

Parameter yang diukur adalah jumlah sel hepar yang mengalami kerusakan (nekrosis) dengan kategori perubahan ukuran, bentuk dan warna. Perubahan ukuran hepatosit akibat pembengkakan merupakan manifestasi awal pada semua bentuk kerusakan hepar. Hal itu disebabkan oleh masuknya cairan ekstraseluler akibat kerusakan membran sel (16). Bentuk sel hepar yang mengalami nekrosis menjadi irreguler akibat terjadinya kerusakan membran sel. Sel hepar yang mengalami nekrosis berwarna lebih merah karena adanya peningkatan kemampuan untuk mengikat eosin (16).

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah paparan asap rokok kretek subkronik dan pemberian vitamin C dan E. Sedangkan variabel

tergantungnya adalah jumlah sel hepar tikus (*Rattus norvegicus Strain Wistar*) yang mengalami kerusakan (nekrosis).

Tikus dibagi menjadi 1 kelompok kontrol negatif, satu kelompok kontrol positif, satu kelompok dengan minyak wijen saja (0,5 ml) dan lima kelompok perlakuan dengan variasi dosis Vitamin C dan E. Kelompok perlakuan terdiri dari Kelompok 3 (k3): dipapar asap rokok kretek subkronis + vitamin C 0,2 mg/g BB tikus. Kelompok 4 (k4): dipapar asap rokok kretek subkronis + vitamin E 0,04 IU/g BB tikus. Kelompok 5 (k5): dipapar asap rokok kretek subkronis + (vitamin E 0,04 IU + vitamin C 0,2 mg)/g BB tikus. Kelompok 6 (k6): dipapar asap rokok kretek subkronis + (vitamin E 0,04 IU + vitamin C 0,4 mg)/g BB tikus. Kelompok 7 (k7): dipapar asap rokok kretek subkronis + (vitamin E 0,04 IU + vitamin C 0,8 mg)/g BB tikus

Aklimatisasi hewan coba dilakukan dalam kandang dengan kondisi laboratorium yang sama selama 7 hari. Vitamin C diberikan dengan cara dilarutkan ke dalam aquades sesuai dengan rincian. Vitamin E diberikan dengan cara dilarutkan ke dalam minyak wijen sesuai dengan dosis 0,04 IU/g BB tikus. Kemudian vitamin C dan vitamin E diberikan peroral 1 kali per hari selama 10 minggu. Paparan asap rokok dengan menggunakan rokok kretek dilakukan dengan bantuan alat yang disebut *smoking pump*. Setelah 10 minggu hewan coba dibius dengan menggunakan eter, kemudian dimatikan, dibedah, diambil organ heparnya dan difiksasi dengan formalin 10%. Selanjutnya dibuat preparat histopatologi hepar. Penghitungan jumlah sel hepar yang rusak dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler perbesaran 1000x dengan 28 lapangan pandang yang berbeda dan dijumlahkan sehingga menghasilkan 1 data.

Data yang diperoleh ditabulasi sesuai dengan kelompok kemudian dianalisa statistik dengan metode *One-Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji Tukey menggunakan program SPSS 12 dengan tingkat kepercayaan $p = 0,05$.

HASIL

Hasil analisis menunjukkan perbedaan jumlah hepatosit rusak yang signifikan ($p = 0,00$) antara kelompok perlakuan. Selanjutnya hasil analisa tersebut dipertajam dengan menggunakan *Post Hoc Multiple comparison, Equal Variance by Tukey*.

Analisa tersebut menunjukkan bahwa jumlah hepatosit yang mengalami kerusakan (nekrosis) pada kelompok kontrol positif (k1) berbeda nyata ($p = 0,000$) dengan semua kelompok perlakuan asap rokok subkronik yang diberi vitamin dan kelompok normal. Diantara kelompok vitamin dapat dilihat bahwa kelompok k3 tidak berbeda nyata dengan kelompok k4 ($p = 0,877$) dan k7 ($p = 0,139$), tetapi berbeda nyata dengan k5 ($p = 0,000$) dan k6 ($p = 0,000$). k4 berbeda nyata dengan k5 ($p = 0,000$) dan k6 ($p = 0,009$), tetapi tidak berbeda nyata dengan k7 ($p = 0,810$). Sedangkan k5 tidak berbeda nyata dengan k6 ($p = 0,926$) dan berbeda nyata dengan k7

($P = 0,017$), k6 tidak berbeda nyata dengan k7 ($p = 0,204$).

Tabel 1. Hasil Penghitungan Jumlah Sel Hepar yang Rusak (Nekrosis)

	1	2	3	4	Rata-rata
N	48	62	53	45	52
k1	739	707	692	766	726
k2	604	580	621	599	601
k3	468	364	380	347	389,75
k4	347	354	417	286	353,5
k5	193	213	216	218	210
k6	235	229	246	260	242,5
k7	215	375	327	336	313,25

Tabel 2. Turkey HSD

Perlakuan	Subset for alpha = .05					
	1	2	3	4	5	6
N	4	52				
k1	4					726
k2	4				601	
k3	4			389,75		
k4	4			353,5		
k5	4	210				
k6	4	242,5	242,5			
k7	4		313,25	313,25		
Sig	1	926	,204	,139	1	1

Keterangan:

Kelompok pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata, sedangkan kelompok pada kolom yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata.

DISKUSI

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi vitamin C dan vitamin E peroral terhadap gambaran histopatologi hepar pada tikus (*Rattus novvergicus strain Wistar*) yang dipapar asap rokok kretek subkronik.

Pada kelompok tikus yang dipapar asap rokok subkronik tanpa pemberian vitamin (k1), sel hepar yang mengalami nekrosis menunjukkan angka yang paling tinggi. Hal ini dapat terjadi karena asap rokok banyak mengandung radikal bebas baik pada komponen tar maupun komponen gas. Selain itu, komponen tar juga mengandung ion besi yang dapat mengkatalisa pembentukan radikal peroksil dan hidrogen peroksida (18). Semiquinon dan hidroquinon pada tar juga dapat melepaskan ion besi dan protein feritin sehingga lebih banyak ion besi yang bebas (19). Radikal bebas yang berasal dari asap rokok masuk ke dalam paru melalui saluran nafas, kemudian dibawa oleh aliran darah menuju ke jantung dan diedarkan ke seluruh tubuh, termasuk hepar (20). Radikal bebas menyerang membran plasma yang terdiri dari komponen lipid dan komponen protein. Komponen lipid akan mengalami peroksidasi dengan cara menarik atom H dari rantai samping PUFA, menghasilkan radikal karbon. Kemudian radikal karbon akan bereaksi dengan oksigen menjadi radikal peroksil, inilah

yang menyerang ulang rantai samping PUFA menghasilkan radikal karbon baru dan peroksida lipid. Reaksi ini akan berlangsung terus secara berantai dan berakhir bila bertemu dengan radikal bebas lain atau dengan antioksidan. Komponen protein yang berfungsi sebagai kanal ion, pompa ion, reseptor, enzim, pembangkit energi, akan teroksidasi pada bagian yang mempunyai gugus sulfhidril menjadi ikatan disulfida, yang akan menyebabkan ikatan silang (*cross link*) antar molekul protein, menyebabkan degradasi depolimerisasi protein, dan sifat protein menjadi kaku dan mudah putus, sehingga protein membran akan kehilangan berbagai fungsinya. Keadaan tersebut akan menyebabkan kanal ion terbuka, maka diduga kuat Ca^{2+} ekstra seluler yang mempunyai konsentrasi lebih tinggi dari sitosol akan masuk ke dalam sel, sehingga Ca^{2+} di dalam sitosol akan meningkat (18,21).

Radikal bebas masuk ke dalam sel, akan merusak komponen-komponen intraseluler seperti sitosekleton, organella, protein non membran, molekul ades, enzim-enzim dan DNA. Radikal bebas akan menyerang komponen enzim terutama ATP ase yang tersusun dari rangkaian asam amino yang mengandung gugus sulfhidril, sehingga ATP ase menjadi inaktif, maka fungsinya sebagai pengendalian Ca^{2+} sitosol akan terganggu. Dengan terganggunya peran regulasi Ca^{2+} maka akan terjadi peningkatan Ca^{2+} di dalam sitosol. Radikal bebas juga menyerang membran mitokondria dan ER. Karena Ca^{2+} di dalam mitokondria dan ER lebih tinggi, ditambah tidak berfungsinya ATP ase dan *1,4,5 inositol tri phosphate* (IP3) dalam pengendalian Ca di dalam mitokondria dan ER maka akan terjadi efluks Ca^{2+} ke dalam sitosol. Terlepasnya Ca^{2+} dan ER mengakibatkan perubahan konformasi dari reseptor IP_3 yang memicu pembukaan kanal ion pada membran plasma, maka terjadilah influks Ca^{2+} dari ekstra seluler ke dalam sitosol yang makin meningkatkan Ca^{2+} sitosol (18,21).

Peningkatan konsentrasi Ca^{2+} sitosol disamping disebabkan hal-hal tersebut diatas juga disebabkan adanya peroksida lipid yang terbentuk akibat peroksidasi PUFA. H_2O_2 secara langsung juga menyebabkan peningkatan Ca^{2+} dan penurunan sintese ATPase. Peningkatan Ca^{2+} sitosol akan menyebabkan peningkatan aktifitas fosfolipase, protease dan endonuklease. Peningkatan aktifitas protease akan merusak komponen protein, aktifitas fosfolipase akan merusak membran lipid1 dan aktifitas endonuklease akan merusak untai DNA (18,21). Hal ini menyebabkan perubahan biokimia yang bersifat kompleks dan akhirnya dapat mengakibatkan kerusakan sel hepar (8). Kerusakan sel hepar yang mekanismenya didasari oleh kerusakan membran sel adalah nekrosis (9). Pada pemaparan asap rokok kapasitas proteksi antioksidan juga tertekan. Senyawa aldehid dalam asap rokok dapat menekan SOD yang berfungsi sebagai antioksidan enzimatis (18). Selain itu, pada perokok terdapat penurunan kadar vitamin C (22). Hal ini akan semakin memperparah nekrosis sel

hepar akibat radikal bebas.

Pada tikus yang dipapar asap rokok subkronik dan diberi vitamin C 0,2 mg/g BB (k3), jumlah sel hepar yang nekrosis menurun. Hal ini disebabkan karena vitamin C merupakan antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas yang bersifat aqueous (23). Vitamin C merupakan *scavenger* radikal bebas yang efektif dan berperan sebagai agen pereduksi (pendonor elektron) (17). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wicaksono (2001) yang menyimpulkan bahwa vitamin C dapat menurunkan aktifitas radikal bebas pada jaringan hepar tikus Wistar (24).

Demikian pula dengan hepar tikus yang dipapar asap rokok subkronik dengan pemberian vitamin E 0,04 IU/g BB (k4), jumlah sel hepar yang nekrosis menurun karena vitamin E bertindak sebagai antioksidan dengan memutuskan berbagai reaksi rantai radikal bebas pada membran. Tokoferol mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas peroksil dan asam lemak tak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi (25). Penelitian yang dilakukan oleh Ham dan Liebler pada hepar tikus yang mengalami peroksidasi lipid menunjukkan bahwa pada tikus yang mendapat suplementasi vitamin E tingkat peroksidasi lipidnya menurun (10).

Akan tetapi perlu diingat bahwa efek antioksidan yang dihasilkan oleh vitamin E pada penelitian ini juga dipengaruhi oleh minyak wijen yang digunakan sebagai pelarut. Pada tikus yang dipapar asap rokok subkronik dengan pemberian minyak wijen 0,5 ml (k2) juga didapatkan penurunan jumlah sel hepar yang mengalami kerusakan. Hal ini dapat terjadi karena minyak wijen juga mempunyai efek antioksidan. Penelitian yang dilakukan oleh Fatmawati (2004) menunjukkan bahwa kombinasi minyak wijen dan vitamin E mempunyai efek sinergis dalam menghambat stress oksidatif pada liver (13). Pada penelitian ini digunakan minyak wijen karena vitamin E yang digunakan jumlahnya sangat sedikit, sehingga dibutuhkan pelarut yang dapat homogen dengan vitamin E, yang dapat memudahkan pembedaan vitamin E pada hewan coba. Sampai saat ini minyak wijen masih dianggap sebagai pelarut vitamin E yang paling baik.

Pada pemberian kombinasi vitamin C 0,2 mg/g BB dan vitamin E 0,04 IU/g BB (k5) diperoleh jumlah sel hepar nekrosis yang paling sedikit diantara semua kelompok tikus yang dipapar asap rokok. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Subandi (1998) yang menunjukkan bahwa dosis vitamin C 0,2 mg/g BB merupakan dosis yang paling efektif (12). Ini juga sesuai dengan penelitian Lambalet, *et al* (1985) yang menunjukkan bahwa vitamin C dan vitamin E mempunyai efek yang sinergis sebagai antioksidan. Pemberian kombinasi kedua vitamin tersebut jauh lebih efektif dalam menekan peroksidasi pada mikrosom hepar tikus daripada pemberian vitamin C dan vitamin E secara terpisah, karena vitamin C dapat meregenerasi vitamin E radikal menjadi bentuk antioksidan. Chen (1981) melaporkan bahwa pemberian vitamin C dapat meningkatkan kadar vitamin E (10).

Namun pada pemberian kombinasi vitamin E dan vitamin C dengan dosis yang lebih tinggi dari 0,2 mg/g BB (k6 dan k7), jumlah sel hepar yang nekrosis malah lebih banyak. Hal ini sesuai dengan penelitian Subandi (1998) tentang kadar SOD yang lebih jelek pada pemberian vitamin C di atas dosis 0,2 mg/g BB (12). Ini disebabkan karena pada dosis yang lebih tinggi, vitamin C dapat memberikan efek pro oksidan (23,26). Vitamin C dapat mengalami reaksi auto oksidasi membentuk askorbat radikal (23). Selain itu vitamin C juga dapat meningkatkan pelepasan besi dan kompleks protein kemudian mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dan mengkatalis pembentukan radikal hidroksil melalui reaksi fenton (26).

Pada orang sehat, askorbat dosis tinggi tidak menimbulkan masalah karena ketersediaan ion logam untuk dikatalisa terkontrol. Askorbat akan difiltrasi dan direabsorpsi oleh ginjal untuk di *uptake* sesuai dengan kebutuhan dan sisanya diekskresikan lewat urin (18).

Penelitian ini membuktikan bahwa radikal bebas dapat menimbulkan nekrosis pada sel hepar secara bermakna dan pemberian kombinasi vitamin C dan vitamin E terbukti dapat meminimalisir nekrosis sel hepar dengan dosis kombinasi yang paling efektif adalah 0,2mg/g BB vitamin C dan 0,04 IU/g BB vitamin E. Namun pada kelompok dengan dosis kombinasi yang optimal sekalipun, jumlah sel hepar yang mengalami nekrosis tetap lebih banyak daripada kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa baik vitamin C maupun vitamin E tidak dapat mengatasi seluruh radikal bebas yang ada.

KESIMPULAN

Pemberian kombinasi vitamin C dan vitamin E yang dilarutkan dalam minyak wijen peroral pada tikus yang dipapar asap rokok kretek subkronik memberikan efek yang lebih baik dalam mengurangi jumlah sel hepar yang mengalami kerusakan daripada pemberian secara terpisah. Dosis kombinasi yang paling efektif adalah vitamin C 0,2mg/g BB dan vitamin E 0,04 IU/g BB.

Secara teknis penelitian perlu dikembangkan standar pemaparan asap rokok, komputerisasi pengukuran jumlah sel untuk meningkatkan obyektifitas dan akurasi. Penelitian selanjutnya perlu dilakukan dengan dosis vitamin C yang lebih rendah dan variasi dosis vitamin E.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Anonymous. *Smoking statistics*. Online [WWW]. 2002. Online [WWW]. <http://www.wpro.who.int/pubhc/pressrelease/PressList.asp>. [diakses 15 September 2005]
2. Anonymous. *Rokok kalahkan dana kesehatan*. Online [WWW]. 2003. <http://www.pikiranrakyat.com>. [diakses 27 September 2005]
3. Argo I. *Toksikologi Dasar*. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi UGM:Yogyakarta;

2001

4. Basha A. *Risalah atas rokok*. Online [WWW]. 2003. <http://www.pjhnk.ao.id>. [diakses 17 September 2005]
5. Anonymous. *Sumber radikal bebas*. Online [WWW]. 2003. <http://www.cybermed.cbn.net.id>. [diakses 8 October 2005]
6. Ganong WF. *Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC; 1980
7. Cassarett L. *The Basic Science of Poisons*. Mc Graw-Hill Inc:USA; 1993
8. Soini, Paakko P, Lehto VP. *Histopathological evaluation of apoptosis in cancer*. The American Journal of Pathology. 1998;153:1041-1053.
9. LU, Frank C. *Toksikologi dasar*. Universitas Indonesia Press:Jakarta; 1995
10. Bodwell CE. *Nutrient interaction*. Marcel Bekker Inc:New York; 1998
11. Machlin LJ. *Handbook of Vitamins*. Marcel Dekker Inc:New York; 1991
12. Subandi. *Efek Antioksidan (Vitamin C) terhadap Jumlah dan Fungsi Makrofag Alveoli serta Kadar SOD Jaringan Paru Tikus yang Dipapar dengan Asap Rokok Kronis*. [Tesis]. PPS UNIBRAW: Malang; 1998
13. Fatmawati N. *Pengaruh kombinasi minyak wijen-vitamin e terhadap stress oksidatif dan fatty liver pada tikus hiperkolesterolemia*. [Tesis]. PPS UNIBRAW: Malang; 2004
14. Yuningtyaswari. *Pengaruh asap berbagai jenis rokok terhadap peroksidasi lipid plasma tikus putih (Rattus novergicus, L)*. PPS UGM: Yogyakarta; 2002
15. Anonymous. *Ramai-ramai produksi rokok sehat*. Online [WWW]. 2003. <http://www.eksekutif.com/berita/artikel.html?aid=596>. [diakses 17 Maret 2006]
16. Kumar V, Abbas A, Fauston N. *Pathologic Basis of Disease 7th edition: Cellular adaptations, cell injury and cell death*. Elsevier Saunders, Philadelphia; 2005
17. Fox PF. *Advanced Dairy Chemistry*. Eisevier science Publisher Ltd:Bury St Edmunds; 1997
18. Halliwell B, Gutteridge J. *Free Radical in Biology and Medicine*. Claredon Press:London; 1999
19. Halliwell B, Gutteridge J. *Antioxidant in Nutrition, Health, and Disease*. Oxford University Press Inc: New York; 1996
20. Guyton & Hall. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Penerbit buku kedokteran EGC:Jakarta; 1997
21. Orrenius S. *Mechanisms of Oksidative Cell Damage*. In: Poli G, Albano E, Dianzani MU. *Free Radical from Basic Science to Medicine*. Birkhauser Verlag:Basel Switzerland; 1993.
22. Holbrook JH. *Harrison Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam Volume 5*. EGC:Jakarta; 1995
23. Favier. *Analysis of Free Radicals in Biology Systems*. Birkhauser Verlag, Basel Switzerland; 1995
24. Wicaksono H. *Efek Pemberian Klorokuin dan Asam Askorbat terhadap Aktifitas Radikal Bebas Jarigan Hepar dan Lien Tikus yang Diinfeksi Plasmodium berghei*. [Tugas Akhir]. Malang: FKUB. 2001.
25. Jadhav, Madhavi SS. *Lipid Oxidation in Biological and Food Systems*. In: Madhavi SS, Deshpande DK, Salunkhe. *Food Antioxidants*. Marcel Dekker Inc:New York; 1996
26. Droesti IE. *Free Radical Pathology and The Genome*. In: Droesti IE (Ed). *Trace Element, Micronutrients and Free Radical*. Human Press:New Jersey; 1991.