

**UJI AKTIVITAS FILTER BUAH JUWET (*Syzygium cumini*) SEBAGAI PELURUH RADIKAL BEBAS TERHADAP PAPARAN ASAP ROKOK PADA HATI MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.)**

*(Activity of Juwet (*Syzygium cumini*) filters to free radical scavenging exposure to cigarette )*

Ida Ayu Manik Damayanti\*, Ni Wayan Sukma Antari\*\*, Anak Agung Sagung Alit Sukmaningsih\*\*\*

\*,\*\*)Institut Teknologi dan Kesehatan Bali

\*\*\*Universitas Udayana

Email : idaayumanik.dm@gmail.com

**ABSTRAK**

**Latar Belakang :** Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui gambaran histologi hepar mencit jantan (*Mus musculus*) yang diberi ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini*) pada filter rokok kretek sebagai peluruh radikal bebas pada asap rokok.

**Metode :** Jenis penelitian ini adalah eksperimental murni (*true experimental*) dengan pendekatan *post test only control group design*. Data hasil penelitian diuji statistik menggunakan SPSS 22.0, hasil uji *Shapiro Wilk* menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai  $p > 0,05$ , selanjutnya dilakukan uji homogenitas yang hasilnya menunjukkan data homogen, dengan nilai  $p < 0,05$ . Setelah itu dilanjutkan dengan uji *Anova*.

**Hasil :** Hasil penelitian menunjukkan bahwa mencit yang diberikan rokok kretek memiliki hasil yang signifikan dengan kelompok kontrol sebesar  $5,78 \pm 1,64$  dimana sel nekrosis dan perlemakan hati lebih banyak terjadi pada mencit yang diberikan rokok kretek dibandingkan dengan yang tidak diberikan rokok kretek. Pemberian filter ekstrak juwet pada mencit jantan yang terpapar asap rokok menunjukkan hasil yang signifikan menurunkan jumlah nekrosis dan perlemakan hati, hal ini ditunjukkan dari hasil uji statistik nilai  $p < 0,05$  dimana kelompok kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan yang diberikan filter ekstrak juwet.

**Kesimpulan :** Pada penelitian ini filter rokok ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini*) dapat menurunkan nekrosis dan perlemakan hati pada mencit jantan. (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok.

**Kata Kunci :** *Syzygium cumini*, radikal bebas, asap rokok

**ABSTRACT**

**Introduction :** This study was conducted to determine the histological picture of the liver of male mice (*Mus musculus*) which were given juwet fruit extract (*Syzygium cumini*) in a cigarette filter as a free radical scavenger in cigarette smoke.

**Method :** This type of research is a pure experimental (*true experimental*) with a *post test only control group design* approach. The data from the research results were statistically tested using SPSS 21.0, the results of the *Shapiro Wilk* test showed that the data were normally distributed with a value of  $p > 0.05$ , then the homogeneity test was carried out which showed that the data was homogeneous, with a value of  $p < 0.05$ . After that, proceed with the *Anova* test.

**Result :** The results showed that the mice given cigarettes had a significant result with the

control group of  $5.78 \pm 1.64$  where necrosis and fatty liver cells were more common in mice given cigarettes than those not given cigarettes. Giving juwet extract filters to male mice exposed to cigarette smoke showed significant results in reducing the amount of liver necrosis and fatty liver, this was indicated by the results of the statistical test with  $p$  value  $<0.05$  where the control group did not show a significant difference to the treatment group given the extract filter juwet.

**Conclusion :** In this study, the cigarette filter of juwet fruit extract (*Syzygium cumini*) was able to reduce necrosis and fatty liver in male mice (*Mus musculus*) exposed to cigarette smoke.

**Keywords:** *Syzygium cumini*, free radicals, cigarette smoke

## PENDAHULUAN

Radikal bebas dalam sistem kehidupan merupakan bagian dari proses untuk menghasilkan energi yang berperan penting dalam proses fisiologis tubuh tetapi dalam jumlah tidak terkendali akan mengganggu aliran energi sehingga merubah keteraturan dan keseimbangan dinamis yang terbentuk di dalam tubuh yang sehat. Radikal bebas adalah atom atau kelompok atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Pala & Tabakcioglu, 2007) sehingga bersifat tidak stabil dan reaktif. Dalam usaha melengkapi kekurangan elektron, radikal bebas mudah berikatan dengan elektron dari atom atau molekul senyawa lain di dekatnya dalam waktu yang singkat (Sisein, 2014). Senyawa yang kehilangan elektron akan menjadi radikal dan memicu reaksi terbentuknya radikal bebas baru secara berantai.

Radikal bebas pada asap rokok menurunkan mekanisme pertahanan antioksidan di dalam tubuh, menimbulkan stress oksidatif (Forkink, dkk., 2010) dan membentuk peroksidasi lipid, (Chari & Colagar, 2011). Hal ini dapat menimbulkan kerusakan struktur dan fungsi sel yang akhirnya menimbulkan gangguan pada sistem organ, salah satunya pada hepar. (Ozyurt dkk., 2006). Buah juwet merupakan salah satu tanaman yang mempunyai berbagai macam senyawa aktif pada berbagai bagian tanaman. Tanaman ini telah digunakan sebagai bahan obat tradisional yang bersifat sebagai bahan antibakteri (Kothari, dkk., 2011), antijamur, antivirus, radikal bebas scavenger, anti inflamasi (Lima, dkk., 2007), hepatoprotektif, antidiabetes (Rekha, dkk., 2008), antifertilitas, dan kardioprotektif. Beberapa senyawa flavonoid polifenol dari juwet berupa myricetin, kaempferol, quercetin, dan myricitrin. Senyawa fenol

berupa ellagic acid, gallic acid, caffeic acid, dan ferulic acid.

Penelitian lain menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah juwet dapat memperbaiki struktur histologi trakea mencit yang telah terpapar asap rokok (Kristiawan, dkk., 2017). Berdasarkan hasil penelitian tersebut diduga bahwa serbuk buah juwet bila diaplikasikan pada filter rokok dapat bertindak sebagai peluruh radikal bebas. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai gambaran histologi hepar mencit jantan (*Mus musculus*) yang diberi ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini*) pada filter rokok kretek sebagai peluruh radikal bebas pada asap rokok.

## METODE PENELITIAN

### Pembuatan Ekstrak Buah Juwet

Buah juwet dipilih yang sudah masak. Buah juwet tersebut dibersihkan dan dipisahkan dari bijinya. Tahap selanjutnya buah juwet tersebut dihancurkan kemudian dikeringkan. Setelah kering buah juwet dihaluskan dengan menggunakan blender hingga buah juwet berbentuk bubuk kemudian ditimbang agar mengetahui kadar airnya.

Buah juwet yang telah berbentuk bubuk selanjutnya dimaserasi dengan diletakkan pada tabung erlemeyer dan direndam dengan larutan ethanol 96% (teknis) selama 24 jam, selanjutnya disaring dengan menggunakan kain kasa dan kertas saring. Maserasi dilakukan sebanyak tiga kali sampai pelarut berwarna bening pada suhu kamar kemudian disaring dan dipisahkan dari ampas.

Ekstrak cair dari sampel tersebut kemudian dievaporasi dengan menggunakan alat yang disebut vacuum rotary evaporator. Proses penguapan ini dilakukan hingga diperoleh ekstrak kental berbentuk gel. Ekstrak kental berbentuk gel tersebut kemudian dilarutkan dengan menggunakan

CMC Na 0,5 % (carboxy methyl cellulose).

### **Pemeliharaan Hewan Percobaan**

Penelitian ini menggunakan mencit jantan dewasa (*Mus musculus*) sebanyak 24 ekor. Mencit jantan dipisahkan menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol, P1, dan P2. Sebelum diberi perlakuan mencit jantan dihabituasi selama tujuh hari. Kandang yang digunakan selama pemeliharaan berupa bak plastik yang berukuran panjang 25 cm, lebar 20 cm dan tinggi 15 cm yang di tutup dengan penutup kawat dan dialasi dengan sekam untuk menyerap kotoran mencit. Mencit jantan diberi pakan berupa kensentrat dan air minum yang diberikan secara *ad libitum*.

#### **a. Pemaparan Asap Rokok**

Pemaparan asap rokok dilakukan di dalam bak kaca berukuran 40 x 25 x 20 cm dan dibuatkan dua lubang, satu lubang untuk memasukkan rokok ke dalam kandang dan lubang satunya sebagai ventilasi. Pada pangkal rokok dihubungkan selang aerotor yang sama dengan diameter rokok agar rokok tetap menyala. Tiap pemaparan menggunakan satu batang rokok kretek per ekor per hari, dan dilakukan selama 36 hari.

#### **b. Pemberian Filter Buah Juwet Pada Rokok Kretek**

Filter rokok kretek diisi dengan larutan ekstrak buah juwet. Pemaparan asap rokok dari filter buah juwet dilakukan di dalam bak kaca berukuran 40 x 25 x 20 cm dan dibuatkan dua lubang, satu lubang untuk memasukkan rokok filter buah juwet ke dalam kandang dan lubang satunya sebagai ventilasi. Pada pangkal rokok dihubungkan selang aerotor yang sama dengan diameter rokok agar rokok tetap menyala. Tiap pemaparan menggunakan satu batang rokok kretek yang filternya diisi dengan larutan ekstrak buah juwet per ekor per hari, dan dilakukan selama 36 hari.

### **Pembedahan**

Pada hari ke-37 mencit jantan dibedah dan ditimbang berat Heparnya. Setelah dibedah hepar dimasukkan ke dalam wadah kaca yang telah berisi larutan fiksatif yaitu formalin buffer untuk mengawetkan elemen organ hepar agar tidak berubah bentuk dan fungsinya.

### **Proses Pembuatan Sediaan Hepar**

Proses pembuatan sediaan mikroskop anatomi hepar dilakukan dengan metode paraffin dengan tahapan sebagai berikut:

#### **Fiksasi**

Hepar di fiksasi menggunakan fiksatif yaitu larutan formalin buffer 1%

#### **2. Washing (pencucian)**

Hepar dicuci dengan alkohol 70% untuk membersihkan lemak atau kotoran yang masih menempel disekitar Hepar.

#### **3. Dehidrasi**

Dehidrasi dilakukan dengan alkohol konsentrasi bertingkat dimulai dari alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, absolute. Masing-masing selama 5 menit.

#### **4. Clearing (Penjernihan)**

Untuk menjernihkan digunakan xilol, organ Hepar direndam selama 24 jam di dalam larutan xilol.

#### **5. Infiltrasi**

Infiltrasi parafin ke dalam jaringan dilakukan dengan cara merendam organ dengan larutan parafin murni lalu dimasukan ke dalam oven pada suhu 50-60°C hingga larutan menjadi keruh.

#### **6. Embedding**

Setelah dilakukan infiltrasi organ ditanam di dalam parafin dan didiamkan pada suhu kamar hingga parafin mengeras.

#### **7. Section (penyayatan) dan penempelan**

Block parafin dikeluarkan dari dalam kotak kemudian ditempelkan pada *holder* pada mikrotom. Cetakan parafin dipotong dengan mikrotom putar pada ketebalan 2  $\mu$ m. Direkatkan pita jaringan di atas gelas objek yang sebelumnya telah diolesi albumin: aquades (1:1), lalu dipanaskan lembaran pita jaringan di atas hot plate hingga parafin mencair.

#### **8. Staining dan Mounting**

Proses pewarnaan dilakukan dengan cara memasukkan kaca objek yang berisi preparat dalam larutan xilol I, direndam selama 5 menit. Selanjutnya dicelupkan dalam alkohol 100%, 95%, 80%, 70%, 50% dan 30% dengan waktu 5 menit pada tiap pencelupan. Lalu diwarnai dengan Eosin selama 5 menit, dilanjutkan dengan pewarnaan dengan Hematoxilin selama 5 menit dan dicuci dengan akuades. Setelah diwarnai sediaan ditutup dengan menggunakan Canada balsam

## Analisis Data

Analisis data dilakukan secara kuantitatif dengan menggunakan program statistik komputer (SPSS 22.0 for Windows). Untuk menguji normalitas data dilakukan dengan uji *Kolmogorov-smirnov*. Untuk melihat homogenitas varians dilakukan dengan *Leven's Test*. Untuk melihat adanya pengaruh akibat perlakuan dilakukan dengan uji *One Way Anova*. Apabila terdapat hasil yang bermakna dilanjutkan dengan uji jarak berganda *Duncan* dengan derajat kepercayaan yang dipakai adalah 5% ( $P < 0,05$ ).

## HASIL

Penelitian ini menggunakan rokok sebagai bahan toksik untuk merusak hati dan menggunakan ekstrak buah juwet yang dicelupkan pada filter rokok kretek sebagai antioksidan. Setelah menjalankan perlakuan pada hewan coba yaitu mencit jantan sesuai dengan rancangan penelitian yang telah ditetapkan kemudian dilakukan pengamatan dan perhitungan terhadap semua parameter yang diteliti.

Data hasil penelitian diuji statistik menggunakan SPSS 22.0, hasil uji *Shapiro Wilk* menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai  $p > 0,05$ , selanjutnya dilakukan uji homogenitas yang hasilnya menunjukkan data homogen, dengan nilai  $p < 0,05$ . Setelah itu dilanjutkan dengan uji *Anova* untuk menentukan data hasil uji bernilai signifikan. Adapun hasil uji statistik ini akan dijabarkan di bawah ini:

### 1. Analisis Deskriptif

Hasil analisis deskriptif terhadap nekrosis dan perlemakan hati pada masing-masing kelompok disajikan dalam Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Analisis deskriptif data nekrosis dan perlemakan hati pada masing-masing kelompok

Kelompok	Sel per 100		Min	Max
	Mea	SD		
Nekrosis				
Kontrol	5,78	1,64	4	8
Perlakuan 1	24,67	2,74	22	29
Perlakuan 2	7,33	1,94	5	10
Perlemakan Hati				
Kontrol	5,89	1,54	4	8
Perlakuan 1	24,11	3,18	20	29
Perlakuan 2	7,78	1,92	4	10

Berdasarkan Tabel 1 nekrosis pada kelompok kontrol  $5,78 \pm 1,64$ , kelompok perlakuan 1 sebesar  $24,67 \pm 2,74$ , dan kelompok perlakuan 2 sebesar  $7,33 \pm 1,94$ . Untuk data perlemakan hati, rata-rata pada kelompok kontrol, perlakuan 1 dan perlakuan 2 secara berturut-turut adalah  $5,89 \pm 1,54$ ,  $24,11 \pm 3,18$  dan  $7,78 \pm 1,92$ .

### 2. Uji Normalitas Data

Data nekrosis dan perlemakan hati pada masing-masing kelompok diuji normalitasnya dengan menggunakan *Shapiro-Wilk*. Hasil uji normalitas disajikan pada Tabel 4.2

Tabel 2. Hasil uji normalitas data nekrosis dan perlemakan hati

Kelompok Subjek	N	P	Ket.
<b>Nekrosis</b>			
Kontrol	9	0,137	Normal
Perlakuan 1	9	0,051	Normal
Perlakuan 2	9	0,175	Normal
<b>Perlemakan Hati</b>			
Kontrol	9	0,308	Normal
Perlakuan 1	9	0,372	Normal
Perlakuan 2	9	0,425	Normal

Berdasarkan Tabel 2 dapat disimpulkan bahwa data Nekrosis dan perlemakan hati pada masing-masing kelompok berdistribusi normal dengan nilai  $p > 0,05$ .

### 3. Uji Homogenitas Data

Data nekrosis dan perlemakan hati pada masing-masing kelompok diuji homogenitasnya menggunakan *Levene's Test*. Hasil uji homogenitas disajikan pada Tabel 3

Tabel 3. Hasil uji homogenitas data nekrosis dan perlemakan hati

Kelompok Subjek	F	P	Ket.
Nekrosis	0,873	0,308	Homogen
Perlemakan hati	5,243	0,013	Tidak Homogen

Berdasarkan tabel 3 dapat disimpulkan bahwa data nekrosis memiliki varian data yang homogen dengan nilai  $p > 0,05$ , tetapi data perlemakan hati memiliki varian data yang tidak homogen, dengan nilai  $p < 0,05$ . Dari tabel normalitas di atas variabel nekrosis dan perlemakan hati berdistribusi normal dan homogen sehingga uji yang digunakan adalah uji *One Way ANOVA*. Hasil uji *Anova* disajikan pada Tabel 4.

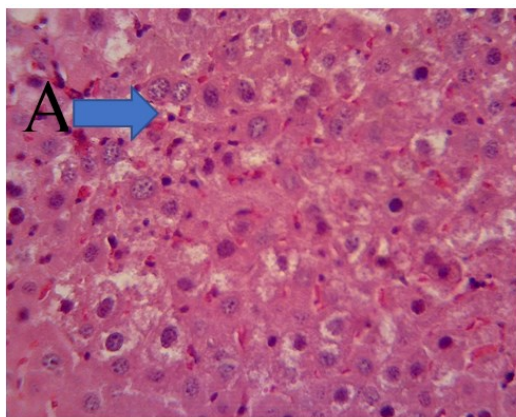
#### 4. Nekrosis dan Perlemakan Hati

Tabel 4. Hasil uji anova data nekrosis dan perlemakan hati

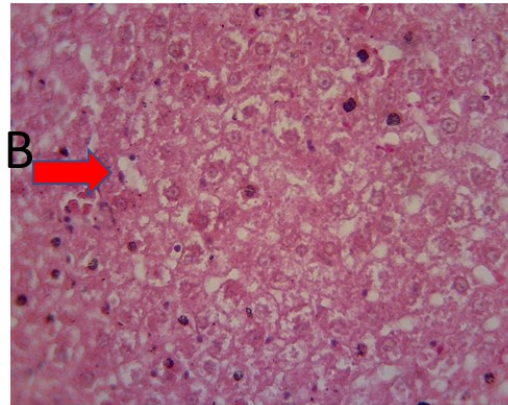
Kelompok Subjek	P	Ket.
Nekrosis	0,001	Signifikan
Perlemakan hati	0,001	Signifikan

Berdasarkan tabel 4 dapat disimpulkan bahwa data nekrosis dan perlemakan hati memiliki nilai  $p < 0,05$  atau berbeda secara signifikan, untuk melihat perbedaan antar kelompok digunakan uji lanjutan LSD dimana uji LSD menunjukkan hasil antara kelompok kontrol dengan perlakuan 1 memiliki hasil yang signifikan atau terdapat perbedaan yang nyata dengan nilai  $p < 0,05$ , kelompok kontrol dengan perlakuan 2 memiliki hasil yang tidak signifikan atau tidak terdapat perbedaan yang nyata dengan nilai  $p > 0,05$  dan hasil kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2 memiliki hasil yang signifikan dengan nilai  $p < 0,05$ .

Perhitungan nekrosis dan perlemakan hati dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x pada 100 sel hepatosit. Nekrosis ditandai dengan Membran sel rusak dan berbentuk tidak beraturan, sitoplasma kosong dan tidak berwarna, inti memadat berwarna ungu tua dan pekat. Sedangkan perlemakan hati ditandai dengan adanya penimbunan sel lemak pada sel hepatosit. (Gambar 1) dan (Gambar 2)



**Gambar 1.** A sel hepar yang mengalami Nekrosis



**Gambar 2.** B sel hepar yang mengalami Perlemakan hati

#### PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa mencit yang dipaparkan asap rokok kretek memiliki hasil yang signifikan dengan kelompok kontrol dimana sel nekrosis dan perlemakan hati lebih banyak terjadi pada mencit yang diberikan rokok kretek dibandingkan dengan yang tidak diberikan rokok kretek. Hal ini disebabkan karena asap rokok memiliki kandungan 4000 bahan kimia dan gas berbahaya termasuk poliakrilik aromatic hydrocarbon, benzene heterosiklik amina, nitrosamine, elemen radioaktif, karbon monoksida serta bahan karsinogen lainnya. Zat dalam asap rokok yang paling berbahaya dan merupakan agen karsinogen adalah zat nitosamine (Slaga dan Keuncke, 2005).

Pada kelompok perlakuan 1 terlihat adanya sel-sel yang mengalami perlemakan hati hal ini terjadi karena penimbunan lemak melebihi 5% dari hati atau mengenai lebih dari separuh jaringan sel hati yang diakibatkan oleh asap rokok. Perlemakan hati terjadi akibat tidak seimbangnya pembentukan dan perombakan dari trigliserid, akibat adanya ROS yang dibawa oleh asap rokok, adanya resistensi insulin diduga memiliki pengaruh besar pada awal terjadinya perlemakan hati, karena pada resistensi insulin akan terjadi peningkatan sintesis dan transport trigliserida menuju hati serta terjadi peningkatan lipolysis khususnya pada adiposa di bagian sentral tubuh, dimana asal lemak hasil lipolisis tersebut akan dibawa melalui vena porta ke hati untuk diproses dan menyebabkan tingginya kadar asam lemak pada hati (Marzio, 2014). Lipogenesis serta sintesis trigliserida di hati

yang berlebihan pada akhirnya menyebabkan terjadinya penimbunan adiposa pada sel hepatosit. Perlemakan hati sering berpotensi menjadi penyebab kerusakan hati dan sirosis hati. Kerusakan hati dapat bersifat irreversibel dan reversibel perubahan degenerasi merupakan perubahan yang bersifat sementara atau reversibel, degenerasi yang terjadi secara terus menerus dapat mengakibatkan kematian sel (nekrosis) (Dyson,2014)

Asap rokok yang dipaparkan pada mencit mengandung radikal bebas dalam jumlah sangat tinggi. Selain itu, asap rokok juga dapat memicu terbentuknya radikal bebas dalam tubuh sehingga jumlah radikal bebas dalam tubuh menjadi lebih banyak.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, asap rokok dapat meningkatkan aktivitas sel hepar tikus wistar yang dilihat dengan indikator peningkatan kadar MDA. Radikal bebas yang masuk ke dalam sel hepar selama pemberian paparan asap rokok terjadi melalui mekanisme kerusakan peroksidasi lemak, kerusakan protein hingga kerusakan DNA. Kerusakan tersebut terjadi jika radikal bebas yang terdapat dalam tubuh melebihi antioksidan yang terdapat dalam tubuh (Valko,dkk.2007). Secara fisiologis tubuh mempunyai sistem pembuatan antioksidan untuk melawan oksidan yang dibentuk oleh tubuh sendiri. Hati merupakan organ utama yang berfungsi membersihkan radikal tersebut dengan membentuk senyawa antioksidan seperti GSH, vitamin C, vitamin E, SOD, dan enzim katalase. Paparan asap rokok ke dalam sel hepar meningkatkan jumlah oksidan dalam sel hepar melampaui antioksidan yang dibentuk sel hepar pada mencit sehingga dibutuhkan antioksidan dari luar (Buettner,2003)

Pada penelitian ini pemberian filter ekstrak juwet pada mencit jantan yang terpapar asap rokok menunjukkan hasil yang signifikan menurunkan jumlah nekrosis dan perlemakan hati, hal ini ditunjukkan dari hasil uji statistic dimana kelompok control tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan yang diberikan filter ekstrak juwet . Hal ini diduga karena ekstrak buah juwet mengandung senyawa antioksidan yang ditandai dengan adanya antosianin

sebagai penyebab warna ungu pada buah juwet. Kandungan senyawa antosianin pada buah juwet mampu melindungi sel dari serangan radikal bebas oleh pemberian asap rokok dengan cara memutus reaksi dari oksidasi berantai radikal bebas. Radikal bebas secara khusus akan mencari kekurangan electron dengan cara merusak sel hepar dimulai dari membrane sel hepar mencit tersebut. Reaksi pengrusakan ini akan berlanjut hingga menjadi reaksi berantai ke seluruh membran sel sampai inti sel hepar sehingga menyebabkan kerusakan sel hepar dari bentuk degenerasi hingga nekrosis. Antioksidan yang terbentuk dari ekstrak buah juwet digunakan untuk memberikan kekurangan electron pada radikal bebas sehingga radikal bebas tidak merebut kekurangan electron dari sel hepar (Revianti,2003)

#### **SIMPULAN**

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah filter rokok ekstrak buah juwet (*Syzygium cumini*) dapat menurunkan nekrosis dan perlemakan hati pada mencit jantan. (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok.

#### **KEPUSTAKAAN**

- Borgerding, M., & Klus, H.2005. Analysis of complex mixtures – Cigarette smoke. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 57: 43–73.
- Buettner GR, Oberley LW. 2008. Free Radicals in Biology and Medicine.
- Chari, M. G., & Colagar, A. H. 2011. Seminal plasma lipid peroxidation, total antioxidant capacity, and cigarette smoking in asthenoteratospermic men. *Journal of Men's Health*, 8 (1), 43–49.
- Dyson JK, Anstee QM, McPherson S. 2014. Non-alcoholic fatty liver disease: a practical approach to treatment. *Frontline Gastroenterology*.1-10
- Fitria, R.I.N.K., Retno, T., Jabhar, C., Mangimbulude., dan Ferry, F.K. 2013. Merokok dan Oksidasi DNA. *Sains Medika*. 5(2): 113-120.
- Forkink, M., Smeitink, J. a M., Brock, R., Willems, P. H. G. M., & Koopman, W. J. H. (2010). Detection and ma-

- manipulation of mitochondrial reactive oxygen species in mammalian cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1034–1044.
- Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345–391.
- Gupta VK, Kumria R, Garg M, Gupta M. 2010. Recent updates on free radicals scavenging flavonoids: An Overview. *Asian Journal of Plant Sciences* 9: 108-117.
- Kothari, V., Seshadri, S., & Mehta, P. 2011. Fractionation of antibacterial extracts of *Syzygium cumini* ( Myrtaceae ) seeds. *Research in Biotechnology*, 2(6): 53-63
- Kristiawan, I.K.A., Suarni, N.M.R., Yulihastuti, D.A., 2017. Struktur Histologi Trakea Tikus Putih (*Rattus sp.*) Yang Terpapar Asap Rokok Setelah Diberi Ekstrak Buah Juwet (*Syzygium cumini* L.). *Jurnal Simbiosis*. (1): 11-15.
- Lima, L., Siani, A. C., Brito, F. A., Sampaio, A. L. F., & Richi, C. A. da S. 2007. Correlation of anti-inflammatory activity with phenolic content in the leaves of, 30(4), 860–864.
- Ozyurt, H., Pekmez, H., Parlaktas, B. S., Kus, I., Ozyurt, B., & Sarsilmaz, M. 2006. Oxidative stress in testicular tissues of rats exposed to cigarette smoke and protective effects of caffeic acid phenethyl ester. *Asian Journal of Andrology*, 8(2), 189–93.