

Testicular histopathology of mice (*Mus musculus*) which have been exposed to cigarette smoke and given red watermelon extract (*Citrullus vulgaris*)

Ayu Agita Ginting¹, Ummu Balqis², Hamny³, Cut Dahlia Iskandar⁴, Zainuddin⁴, T. Armansyah⁵, Fitriani⁴

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁵Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

Alamat Korespondensi: ummu.balqis@unsyiah.ac.id

ABSTRACT

This research aims to know the testicular histopathology of mice that have been exposed to cigarette smoke and given red watermelon extract dosage 22 mg and 44 mg. Experimental research using completely random design (RAL) with 4 group treatments. The negative control group (KN). The positive control group (KP) which have been exposed to cigarette smoke. Treatment group 1 (K1) which have been exposed to cigarette smoke and given the red watermelon extract 22 mg. Treatment group 2 (K2) which have been exposed to cigarette smoke and given the red watermelon extract 44 mg. Exposed to cigarette smoke conducted in the morning for an hour to burn one cigarette and red watermelon extract given in the afternoon. This was done for 30 days. On day 31, mice were sacrificed and their testis were taken to weighed and made histology slide. The data were analyzed using ANOVA in one direction and continued with Duncan. The results of this research showed that the extract of red watermelon for 30 days looks a highly significant effect ($P < 0.05$) to the diameter of the seminiferous tubules, the number of spermatogonia cells, primary spermatocytes cells, spermatid cells. While on the weight of the testes showed no real effect ($P > 0.05$). Red watermelon extract dosage 22 mg dan 44 mg of the mice exposed cigarette smoke can prevent cell damage in mice testis.

Keywords: *cigarette smoke, red watermelon, testis*

PENDAHULUAN

Merokok merupakan salah satu faktor yang dapat merusak kesehatan tubuh. Sedikitnya ada 25 jenis penyakit mengganggu berbagai organ tubuh manusia seperti pembuluh darah, kanker paru-paru, kanker rongga mulut, tinggi, impotensi, serta gangguan kehamilan dan cacat janin (Amarudin, 2012). Jumlah perokok aktif di Indonesia mencapai sekitar 27,6% yang setara dengan jumlah 65.000.000 perokok atau 225.000.000.000 batang per tahun (Nugraha, 2014).

Asap rokok mengandung lebih dari 4.000 senyawa kimia seperti nikotin, karbon monoksida, dan tar (Hargono dkk., 2013). Asap rokok dapat dibedakan menjadi dua, yaitu asap utama (*mainstream smoke*) atau

asap yang dihisap oleh si perokok dan asap samping (*sidestream smoke*) yang merupakan asap yang terus menerus keluar dari ujung rokok (Batubara dkk., 2013). Asap samping mengandung 4-6 kali lebih banyak nikotin dibanding dari asap utama karena asap samping terus menerus dihasilkan selama rokok menyala walaupun tidak sedang dihisap (Susanna dkk., 2003). Kandungan yang terdapat dalam asap rokok membentuk radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel (Sari, 2014).

Radikal bebas merupakan senyawa atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas mengambil elektron dari molekul terdekat untuk mencapai kestabilannya (Sugeng dkk., 2010). Stress oksidatif yang

terjadi akibat meningkatnya radikal bebas dalam tubuh dipengaruhi oleh spesies oksigen reaktif (ROS) yang merupakan molekul oksidan, bersifat sangat tidak stabil sehingga cepat bereaksi dengan molekul lain (Dewi, 2011).

Paparan asap rokok tidak hanya menimbulkan permasalahan pada sistem pernafasan tetapi dapat menimbulkan efek terhadap sistem reproduksi jantan antara lain gangguan spermatogenesis, menghambat sel *leydig* untuk menghasilkan hormon testosteron dan mengakibatkan kerusakan pada tubulus seminiferus testis. Efek radikal bebas didalam tubuh akan dinetralkan oleh antioksidan sehingga proses oksidasi pada sel-sel tubuh tidak berlanjut. Antioksidan dapat dibentuk oleh tubuh sendiri maupun suplemen dari luar melalui makan, minuman, obat-obatan (Nugraha, 2014).

Semangka merupakan salah satu buah sumber likopen yang berperan sebagai antioksidan (Bijak, 2010). Likopen merupakan senyawa karotenoid yang memiliki kemampuan untuk mengendalikan radikal bebas 100 kali lebih efisien dibandingkan dengan vitamin E dan 12.500 kali lebih efisien dibandingkan glutathion. Likopen tidak hanya sebagai anti penuaan (*aging*) pada kulit tetapi juga bermanfaat untuk mencegah penyakit infertilitas dan kanker terutama kanker prostat (Maulida, 2010). Pemberian likopen pada mencit yang terpapar asap rokok dapat memperbaiki gambaran histologis tubulus seminiferus dan memperbaiki spermatogenesis yang berdampak pada peningkatan jumlah spermatozoa (Suciati dkk., 2012).

Semangka mengandung likopen relatif lebih tinggi dibandingkan dengan tomat. Semangka mengandung likopen yaitu 23–72 mikrogram/gram berat kering sedangkan tomat mengandung likopen 8,8–42 mikrogram/gram berat kering (Novita dkk., 2010).

MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang mencit beralaskan sekam, spuit insulin, *smoking chamber*, sonde lambung, timbangan digital, blender, mikroskop, alat bedah minor (scalpel, *pinset chirurgis*, gunting), sarung tangan, gelas objek, mikrotom, waterbath, slide warmer, kertas saring, *vacum rotary evaporator*, *micro eyepieces*, kamera dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*), ekstrak semangka merah (*Citrullus vulgaris*), rokok, pakan dan air minum mencit, formalin buffer 10 %, alkohol bertingkat, xylol, paraffin, pewarnaan untuk *Hematoksilin Eosin*, entelan, dan aquades.

Metode Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola satu arah. Mencit dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dengan 3 pengulangan. Pembagian kelompok adalah sebagai berikut: Kelompok I (KN) sebagai kontrol negatif yaitu kelompok yang tidak diberi perlakuan. Kelompok II (KP) sebagai kontrol positif yaitu kelompok yang hanya diberi paparan asap rokok. Kelompok III (K1) yang diberi paparan asap rokok dan diberi ekstrak semangka dengan dosis 22 mg. Kelompok IV (K2) yang diberi paparan asap rokok dan diberi ekstrak buah semangka dengan dosis 44 mg BB (Yugo, 2011). Dosis likopen yang disarankan untuk dikonsumsi manusia adalah 6 mg per hari. Setiap 100 g buah semangka mengandung 4 mg likopen, maka dosis buah semangka yang dikonsumsi adalah 150 g per hari

(Yugo, 2011). Maka berat semangka yang perhari adalah dibutuhkan untuk memenuhi konsumsi

$$\frac{\text{Dosis konsumsi manusia per hari}}{\text{Berat semangka yang diekstrak}} \times \text{hasil ekstrak semangka}$$

$$\frac{150 \text{ g}}{5000 \text{ g}} \times 283 = 8,49 \text{ g per } 70 \text{ kg BB}$$

Lalu dikonversikan pada faktor konversi mencit. Jadi dosis buah semangka yang diberikan:

$$\text{Berat semangka} \times \text{faktor konversi}$$

$$= 8,49 \text{ g}/70 \text{ kg BB manusia} \times 0,0026$$

$$= 0,022 \text{ g}$$

$$= 22 \text{ mg. Maka dosis yang diberikan pada mencit adalah } 22 \text{ mg dan } 44 \text{ mg.}$$

Parameter Penelitian

Pengamatan makroskopis dilakukan dengan melihat gambaran umum testis yang meliputi bentuk, warna, dan berat. Pengamatan mikroskopis dilakukan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 10 kali dan 100 kali lensa objektif. Pengamatan mikroskopis tubulus dilakukan dengan penghitungan diameter tubulus seminiferus dan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatid diamati dengan melihat 8 tubulus seminiferus.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi Buah Semangka (*Citrullus vulgaris*)

Proses ekstraksi dilakukan pada buah semangka segar yang diperoleh dari pasar. Semangka yang digunakan adalah semangka merah berbentuk lonjong dan

berbiji. Semangka dicuci bersih dan dilap menggunakan tisu bersih. Selanjutnya dikupas kulitnya kemudian ditimbang seberat 5 kg, lalu dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan blender. Selanjutnya direndam dalam pelarut etanol 96% sebanyak 1 liter selama 2x24 jam. Kemudian disaring dengan kertas saring dan diambil filtratnya. Setelah itu dirotasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dengan kecepatan 200 rpm hingga dihasilkan ekstrak kental. Tahap akhir ekstrak semangka dikemas dalam botol.

Persiapan Hewan Coba

Mencit dipelihara dalam kandang dengan suhu ruangan, adanya sirkulasi udara, serta tersedia cahaya yang cukup. Mencit diadaptasi selama 7 hari dengan pemberian pakan standar dan air minum *ad libitum*.

Pemaparan Asap Rokok dan Pemberian Ekstrak Semangka

Pemaparan asap rokok dan pemberian ekstrak semangka dilakukan selama 30 hari. Asap rokok akan diberikan pada pagi hari selama 1 jam dengan membakar 1 batang rokok yang mengandung nikotin 1 mg dan 14 mg tar. Pemaparan asap rokok dilakukan didalam *smoking chamber* yaitu kandang kaca tertutup berukuran 50x40x40 cm yang mempunyai lubang sebagai sirkulasi udara dan didasar kandang dibuat lubang untuk meletakkan rokok yang telah dibakar. Pemberian ekstrak semangka merah dilakukan pada sore hari menggunakan sonde lambung. Pada hari ke 31 mencit dieuthanasia dan diambil testisnya.

Pembuatan Sediaan Histopatologi

Sediaan testis difiksasi dalam larutan formalin 10% pada suhu kamar selama 2x24 jam. Selanjutnya sediaan didehidrasi menggunakan alkohol konsentrasi bertingkat dan kemudian dijernihkan dengan menggunakan xylol I, II, dan III. Sediaan yang telah jernih dimasukkan ke dalam alat pencetak dan diletakkan secara vertikal dan horizontal hingga potongan melintang merekat pada dasar parafin. Blok parafin dipotong setebal 4 μ m dan tiap potongan dibentangkan sesaat di atas air hangat dengan suhu 40°C. Sediaan diletakkan pada gelas objek dan diletakkan dalam *slide wamer* bersuhu 37°C selama 1x24 jam. Selanjutnya dilakukan pewarnaan

Hematoksin Eosin. Setelah dilakukan pewarnaan, preparat dikeringkan dan kemudian ditetesi zat perekat entelan lalu ditutup dengan menggunakan kaca penutup.

Analisis Data

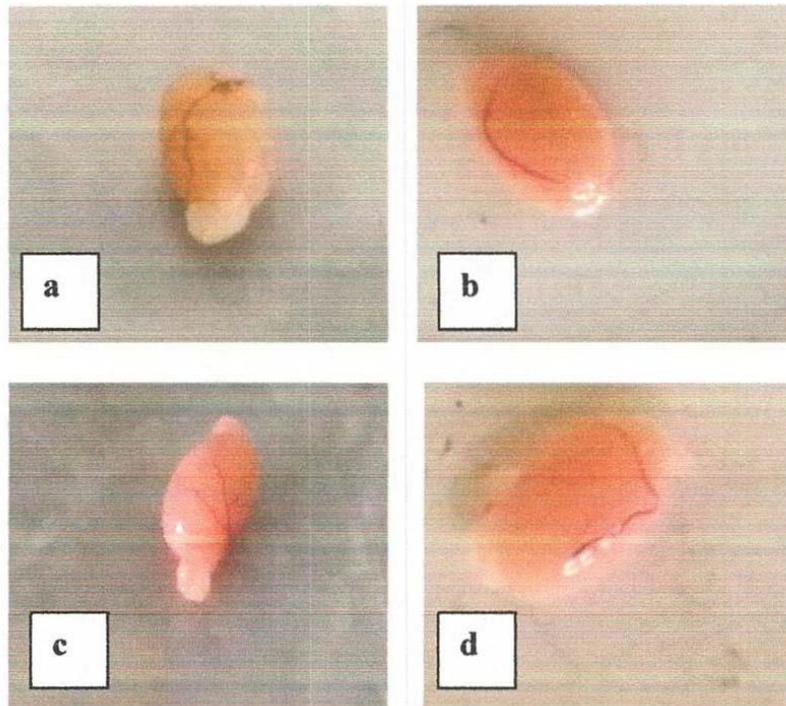
Data yang didapat secara scoring dianalisis menggunakan uji analisis varian satu arah *one way ANOVA* dengan *confidence interval* 95% ($\alpha = 0,05$). Jika didapati adanya pengaruh yang nyata maka akan dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf nyata 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan Tabel 1. kelompok kontrol negatif (KN) memiliki bentuk dan warna yang sama dengan kelompok kontrol positif (KP), kelompok perlakuan 1 (K1) dan kelompok perlakuan 2 (K2). Berat testis terlihat menurun pada kelompok paparan asap rokok (KP) tetapi antara kelompok perlakuan 1 (K1) dan kelompok perlakuan (K2) memiliki berat yang lainnya relatif sama dengan kelompok KP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan asap rokok telah mengakibatkan penurunan berat testis tetapi ekstrak semangka tidak berpengaruh terhadap berat testis setelah terpapar asap rokok. Kandungan *Polynuclear Aromatic Hydrogen PAH* dari rokok menyebabkan terjadinya atropi pada testis mencit (Hargono, 2013). Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa paparan asap rokok dan pemberian ekstrak semangka merah tidak menunjukkan pengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap berat testis mencit.

Tabel 1. Perubahan patologi anatomi testis mencit masing-masing kelompok

Kelompok	Perubahan Patologi Anatomi		
	Bentuk	Warna	Rata-rata berat (gr) ± SD
KN	Oval	Merah Kekuningan	0,14 ± 0,03
KP	Oval	Merah Kekuningan	0,11 ± 0,02
K1	Oval	Merah Kekuningan	0,11 ± 0,02
K2	Oval	Merah Kekuningan	0,11 ± 0,01



Gambar 1. Morfologi anatomi testis mencit (a) kelompok kontrol negatif (KN) diberikan aquades sebanyak 0,5 ml (b) kelompok kontrol positif (KP) diberikan paparan asap rokok dan aquades 0,5 ml (c) kelompok perlakuan 1 (K1) diberikan paparan asap rokok dan ekstrak semangka 22 mg (d) kelompok perlakuan 2 (K2) diberikan paparan asap rokok dan ekstrak semangka 44 mg

Gambaran Histopatologi Testis

Pengamatan histopatologi testis akibat paparan asap rokok dan pemberian ekstrak semangka merah dilakukan pengamatan

terhadap diameter tubulus seminiferus, jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer, sel spermatid. Hasil pengamatan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata \pm SD diameter tubulus seminiferus, jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer, sel spermatid masing-masing kelompok.

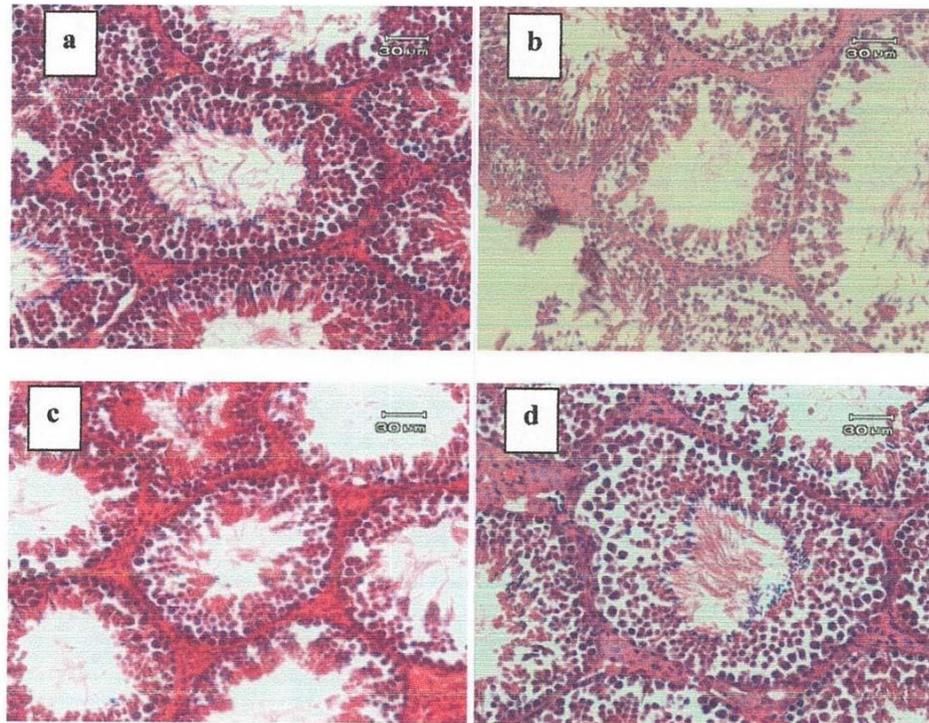
Kelompok	Diameter Tubulus Seminiferus \pm SD	Spermatogonia \pm SD	Spermatosit Primer \pm SD	Spermatid \pm SD
KN	213,33 \pm 1,70 ^c	44,17 \pm 0,19 ^d	33,96 \pm 0,63 ^d	78,66 \pm 0,64 ^d
KP	164,04 \pm 7,41 ^a	34,29 \pm 1,14 ^a	26,96 \pm 0,26 ^a	58,21 \pm 0,40 ^a
K1	203,00 \pm 2,25 ^b	40,29 \pm 0,39 ^b	28,75 \pm 1,19 ^b	64,70 \pm 0,52 ^b
K2	203,67 \pm 1,98 ^b	42,37 \pm 0,55 ^c	30,83 \pm 0,47 ^c	71,78 \pm 0,50 ^c

^{a,b,c,d} superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa paparan asap rokok dan pemberian ekstrak semangka merah terhadap diameter tubulus seminiferus, sel spermatogonia, sel spermatosit primer, sel spermatid berpengaruh nyata ($P < 0,05$). Pada pengukuran diameter tubulus seminiferous terlihat perbedaan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak 22 mg dan 44 mg tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Pada penghitungan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatid terlihat perbedaan pada semua kelompok. Pada kelompok K2 terlihat jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan spermatid mendekati jumlah kelompok kontrol negatif (KN).

Gambaran histopatologi testis dapat dilihat pada Gambar 2. Pada perbesaran 40 kali pada kelompok KN terlihat tubulus

seminiferus dengan susunan sel spermatogenik yang normal sesuai dengan tingkat perkembangannya mulai dari spermatogonia sampai spermatozoa (Gambar 2a). Pada kelompok paparan asap rokok (KP) (Gambar 2b) terlihat tubulus seminiferus dengan susunan sel spermatogenik yang longgar dan kepadatan lumen tubulus seminiferus jelas berbeda dengan yang terlihat pada kelompok KN. Pada kelompok paparan asap rokok dan pemberian ekstrak semangka merah dosis 22 mg (K1) (Gambar 2c) terlihat tubulus seminiferus dengan sel spermatogenik yang lebih padat dibandingkan kelompok KP. Pada kelompok paparan asap rokok dan pemberian ekstrak semangka merah dosis 44 mg (K2) (Gambar 2d) terlihat tubulus seminiferus dengan susunan sel spermatogenik yang tampak sama dengan kelompok KN.



Gambar 2. Histopatologi testis mencit perbesaran 40 kali. (a) KN = Aquades 0,5 ml (kontrol); (b) KP = Paparan asap rokok dan aquades 0,5 ml; (c) K1 = Paparan asap rokok dan ekstrak semangka 22 mg; (d) K2 = Paparan asap rokok dan ekstrak semangka 44 mg.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan membuktikan bahwa paparan asap rokok mempengaruhi proses spermatogenesis dalam tubulus seminiferus. Testis dari kelompok mencit yang diberi paparan asap rokok (KN) memiliki berat yang lebih ringan, ukuran diameter yang lebih kecil dan terlihat gambaran histopatologi tubulus seminiferus dengan susunan sel spermatogenik yang longgar dan tidak teratur. Hal ini disebabkan oleh kandungan bahan kimia yang terdapat pada rokok seperti nikotin, tar dan karbondioksida sehingga berpotensi untuk menimbulkan peningkatan radikal bebas.

Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk mencapai kestabilannya dan akan terus bertambah jumlahnya. Apabila tidak dihentikan maka akan merusak membran mitokondria sel leydig. Sel mitokondria merupakan

penghasil ATP yang diperlukan untuk pembentukan hormon testosteron pada proses spermatogenesis (Dewi, 2011). Hormon testosteron diperlukan untuk memulai proses meiosis sel spermatosit primer. Bila spermatosit mengalami kerusakan maka akan difagosit oleh sel sertoli. Apabila jumlah spermatosit primer menurun maka jumlah spermatid juga akan menurun. Terhambatnya pembentukan hormon testosteron menyebabkan proses spermatogenesis berlangsung tidak normal. Radikal bebas juga merusak DNA spermatozoa dan meningkatkan apoptosis spermatozoa (Batubara dkk., 2013).

Efek radikal bebas dapat diatasi dengan pemberian antioksidan. Buah semangka merah mengandung vitamin A, vitamin C dan likopen yang berasal dari golongan karotenoid dan bekerja sebagai antioksidan. Likopen didistribusikan

terutama pada jaringan lemak, dan organ seperti kelenjar adrenal, hati dan testis (Novita dkk., 2010).

Efek dari buah semangka dapat dilihat pada kelompok mencit yang diberi perlakuan asap rokok dan pemberian ekstrak semangka dosis 22 mg (K1) dan kelompok asap rokok dan pemberian ekstrak semangka merah dosis 44 mg (K2). Setelah pemberian ekstrak semangka merah terlihat gambaran histopatologi tubulus seminiferus dengan susunan sel spermatogenik yang lebih padat dan diameter tubulus seminiferus yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok mencit yang dipaparkan asap rokok. Dosis ekstrak semangka merah yang lebih efektif ditunjukkan pada kelompok K2 dengan pemberian ekstrak semangka merah sebanyak 44 mg. Padatnya sel spermatogenik berhubungan dengan kandungan likopen pada semangka merah yang bekerja sebagai antioksidan sehingga meminimalkan kerusakan pada testis mencit akibat radikal bebas yang terkandung dalam asap rokok.

Likopen sebagai antioksidan mampu meredam spesies oksigen reaktif (ROS) sehingga mengurangi stress oksidatif (Novita dkk., 2010). Likopen bereaksi dengan radikal bebas peroksi atau hidrosil yang terbentuk dari hiperoksida yang berasal dari lipid, protein dan DNA sehingga tidak lagi berbahaya untuk tubuh. Dengan demikian kandungan radikal bebas dapat dikurangi (Jitmau dkk., 2010)

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak semangka merah (*Citrullus vulgaris*) dosis 22 mg dan 44 mg terhadap mencit (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok dapat mencegah kerusakan sel testis mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- Amarudin. 2012. Pengaruh Merokok Terhadap Kualitas Sperma Pada Pria dengan Masalah Infertilitas Studi Kasus Kontrol di Jakarta Tahun 2011. **Tesis**. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia, Jakarta.
- Batubara, I.V.D., B. Wantouw, dan L. Tendean. 2013. Pengaruh paparan asap rokok kretek terhadap kualitas spermatozoa mencit jantan (*Mus Musculus*). **Jurnal e-Biomedik**. 1(1):2-3.
- Bijak, R.P.N.S.P. 2010. Pengaruh Jus Buah Semangka Merah (*Citrullus vulgaris*) Terhadap Kerusakan Sel Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Parasetamol. **Skripsi**. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Dewi, E.R.S. 2011. Pengaruh pemberian ekstrak buah mengkudu terhadap histopatologi testis tikus putih setelah menghirup asap rokok. **J.Bioma**. 1(2):2-3.
- Hargono, F.R., P.M. Lintong, dan C.F. Kairupan. 2013. Gambaran histopatologik testis mencit swiss (*Mus musculus*) yang diberi kedelai (*Glycine max*) dan paparan dengan asap rokok. **Jurnal e-Biomedik**. 1(2):2.
- Jitmau, A.M., F.S. Rondonuwu, dan H. Semangun. 2010. **Likopen: Pelindung Fungsi Indera Penglihatan, Peraba, dan Perasa**. Seminar Nasional Pendidikan Biologi Universitas Negeri Semarang, Semarang.
- Maulida, D. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran, n-Heksana, Aseton dan Etanol. **Skripsi**. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Novita, M., J. Mangimbulude, dan F.S. Rondonuwu. 2010. **Karakteristik Likopen Sebagai Antioksidan**. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga: 3-5.
- Nugraha, A.Y. 2014. Perbandingan Efektivitas Pemberian Kombinasi Vitamin C dan Zinc dengan Pemberian Secara Tunggal Terhadap Jumlah Sel Spermatogenik Testis Mencit Balb/c yang Diberi Paparan Asap Rokok. **Naskah Publikasi**. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Sari, P.D. 2014. Effect of cigarette smoke in quality and quantity spermatozoa. **J Majority**. 7(3): 1-2.
- Suciati, T. 2012. Pengaruh Likopen Terhadap Gambaran Tubulus Seminiferus dan Kualitas Sperma Mencit (*Mus Musculus L*) yang Terpapar Asap Rokok. **Skripsi**. Universitas Sriwijaya Fakultas Kedokteran Bagian Anatomi, Palembang.
- Sugeng, S.U., H. Tiono, dan V.N. Anandaputri. 2010. Pengaruh pasta tomat (*Solanum lycopersicum*) terhadap diameter tubulus seminiferus mencit (*Mus musculus*) galur DDY yang terpajan asap rokok berfilter. **JKM**. 10(1):13.
- Susanna, D., B. Hartono, dan H. Fauzan. 2003. Penentuan kadar nikotin dalam asap rokok. **Makara Kesehatan**. 7(2):3.
- Yugo, H.P. 2011. Efek Hepatoprotektor Jus Semangka Merah (*Citrullus vulgaris*) Terhadap Kerusakan Sel Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Akibat Paparan Parasetamol. **Skripsi**. Universitas Sebelas Maret, Surakarta