

Efek Antosianin dalam Ekstrak Ubi Jalar Ungu Terhadap Kadar MDA dan NO Sputum pada Perokok Asimtomatik

Ni Luh Putu Eka Arisanti, Helmia Hasan

Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga - RSUD dr. Soetomo, Surabaya

Abstrak

Latar belakang: Rokok mengandung 4000 zat kimia yang dapat menyebabkan stres oksidatif. Di paru-paru, stres oksidatif dapat menyebabkan peroksidasi lipid, yang menghasilkan MDA yang menyebabkan kerusakan DNA, mutasi gen, dan hilangnya perbaikan. Rokok juga dapat mengurangi aktivitas Nitric Oxide (NO) endogen. Penurunan NO fisiologis dapat menyebabkan disfungsi endotel, vasokonstriksi paru, bronkospasme, hipersekresi mukosa, penurunan klirens mukosiliar, dan renovasi saluran napas. Kerusakan ini bisa dicegah dengan antioksidan. Kandungan antosianin pada ubi ungu (ubi ungu) merupakan antioksidan kuat yang dapat mencegah stres oksidatif. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian antosianin terhadap kadar MDA dan NO sputum pada perokok asimtomatik.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan randomized controlled trial pre-post test control group design, yang dilaksanakan di Poliklinik Rawat Jalan RSUD dr. RS Soetomo.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar MDA pada kelompok perlakuan mengalami penurunan yang bermakna ($P=0,0001$) antara sebelum (336,90 ng/ml) dan sesudah perlakuan (165,30 ng/ml) dibandingkan dengan kelompok kontrol yang menunjukkan pengaruh sebaliknya. Pada kelompok kontrol terjadi peningkatan kadar MDA baik sebelum (416,00 ng/ml) maupun setelah diberikan plasebo (476,00 ng/ml). Kadar NO pada kelompok perlakuan meningkat tetapi tidak bermakna secara statistik antara sebelum (40,80 ng/ml) dan pasca perlakuan (78,30 ng/ml). Peningkatan kadar NO juga terjadi pada kelompok kontrol tetapi tidak bermakna secara statistik antara sebelum (66,67 ng/ml) dan setelah pemberian plasebo (72,00 ng/ml), dengan peningkatan lebih tinggi pada kelompok perlakuan (6,66 ng/ml) bandingkan dengan kelompok kontrol (0,53 ng/ml).

Kesimpulan: Kadar MDA sputum menurun secara signifikan setelah pemberian ekstrak antosianin ubi ungu pada perokok asimtomatik. Tidak ada peningkatan kadar NO sputum yang bermakna setelah pemberian ekstrak antosianin ubi jalar ungu pada perokok asimtomatik. (*J Respir Indo 2018; 38(2): 64-74*)

Kata kunci: perokok, ekstrak antosianin ubi ungu, MDA, NO

The Effects of Anthocyanins in Purple Sweet Potato Extract to the Level MDA and NO Sputum Asymptomatic Smokers

Abstract

Backgrounds: Cigarette consist of 4000 chemical substances which can induce oxidative stress. In lungs, oxidative stress can cause lipid peroxidation, which produce MDA that leads to DNA damage, gene mutations, and loss of repair. Cigarette can also reduce the activity of endogenous Nitric Oxide (NO). Decrease of physiologic NO can cause dysfunction of the endothelium, pulmonary vasoconstriction, bronchospasm, mucous hypersecretion, reduction of mucociliary clearance, and airway remodeling. This damage can be prevented by antioxidant. The content of antosianin in purple cassava (purple sweet potato) is a potent antioxidant that can prevent oxidative stress. The aim of this study is to find out the effects of antosianin administration on MDA and NO sputum level in asymptomatic smoker.

Methods: This study is an experimental study with randomized controlled trial pre-post test controlled group design, that performed on outpatient clinic of dr. Soetomo hospital.

Results: The result of this study shows that MDA level in treatment group were significantly decrease $P=0.0001$ between pre (336,90 ng/ml) and post treatment (165,30 ng/ml) compare with control group that shows the opposite effect. In the control group, there was an increase of MDA level both before (416,00 ng/ml) and after placebo was given (476,00 ng/ml). The NO level in treatment group increase but it is not statistically significant between pre (40,80 ng/ml) and post treatment (78,30 ng/ml). The increase of NO level also occurred in control group but it is not statistically significant between before (66,67 ng/ml) and after placebo was given (72,00 ng/ml), with the increment was higher in treatment group (6,66 ng/ml) compare with control group (0.53 ng/ml).

Conclusions: The MDA sputum level were significantly decrease after the administration of antosianin extract from purple sweet potato in asymptomatic smoker. There were no significant increment of sputum NO level after the given of antosianin extract from purple sweet potato in asymptomatic smoker. (*J Respir Indo 2018; 38(2): 64-74*)

Keywords: smoker, antosianin extract of purple sweet potato, MDA, NO

Korespondensi: Ni Luh Putu Eka Arisanti

Email: dr.eka.arisanti@gmail.com

PENDAHULUAN

Merokok menjadi kebiasaan yang sangat umum di masyarakat Indonesia. Rokok dapat menyebabkan penyakit paru obstruktif kronis (PPOK), kanker paru, gangguan pembuluh darah, serta eksaserbasi asma.¹ Pada tahun 2007, Indonesia menduduki peringkat kelima konsumen rokok terbesar setelah China, Amerika Serikat, Rusia, dan Jepang dengan jumlah perokok aktif 50.680.600. Pada tahun 2008, Indonesia naik menjadi peringkat ketiga. Pada tahun 2013 jumlah ini cenderung mengalami peningkatan menjadi 58.750.592 perokok aktif dengan 97% adalah laki-laki.^{1,2} Selain perokok aktif, orang yang terpajan asap rokok lingkungan juga memiliki risiko untuk menderita penyakit paru. Sekitar 85% rumah tangga di Indonesia terpajan asap rokok lingkungan, sebagian besar adalah perempuan dan anak-anak.³

Rokok terdiri dari 4000 bahan kimia yang menyebabkan terjadinya stres oksidatif.¹ Pada paru stres oksidatif dapat menimbulkan peroksidasi lipid yang ditandai dengan meningkatnya kadar Malondialdehid (MDA) di dalam darah.⁴ MDA merupakan oksidan yang potent dapat menyebabkan kerusakan DNA, mutasi gen, dan *loss of repair*.⁴ Pada paru, MDA dapat menyebabkan instabilitas genetik, hilangnya mekanisme apoptosis, memicu timbulnya kanker paru. Rokok juga dapat menurunkan aktivitas *Nitric Oxide* (NO) endogen.⁵ Penurunan NO fisiologis dapat menyebabkan disfungsi endotel, vasokonstriksi pulmonal, bronkospasme, hipersekresi mukus, penurunan bersihan mukosiliar, serta *airway remodeling*.⁵ Kerusakan akibat faktor oksidatif terus menerus berperan dalam patogenesis berbagai penyakit paru. Kerusakan ini dapat dicegah dengan pemberian antioksidan.⁶

Umbi-umbian seperti ketela dan singkong merupakan makanan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat di Indonesia. Selain harga yang murah dan ketersediaan luas, kandungan antosianin pada umbi-umbian telah diteliti memiliki aktivitas antioksidan.⁷ Antosianin dapat menetralkan radikal bebas melalui *radical scavenging activity*, dapat

meningkatkan produksi antioksidan endogen seperti SOD dan memiliki efek menguntungkan lainnya seperti hepatoprotektif, anti trombotik, anti inflamasi, anti mikroba, anti virus dan anti tumor.⁸ Ipomea batatas (ubi jalar ungu) memiliki kandungan antosianin paling tinggi diantara familinya sekitar 110 mg/100gr hingga 210 mg/100 gr berat bersih.⁹

Terdapat beberapa penelitian yang mendukung kegunaan antosianin sebagai antioksidan. Pemberian antosianin kulit terung ungu terbukti dapat menurunkan kadar MDA pada tikus dengan stres oksidatif.¹⁰ Pemberian antosianin dari *black currant* dapat meningkatkan aktivasi *endotelial nitric oxide synthase* (eNOS) pada sel endotel manusia in vitro.¹¹ Pemberian kompleks buah berry yang mengandung antosianin dapat menurunkan stress oksidatif dan meningkatkan pertahanan oksidatif pada perokok aktif.¹²

Saat ini belum ada penelitian mengenai efek antosianin terhadap kadar MDA dan NO sputum pada perokok. Berdasarkan data-data tersebut maka akan dilakukan penelitian pemberian ekstrak ubi jalar ungu yang mengandung antosianin sebagai suplemen pada perokok asimtomatik. Kandungan antosianin dalam ekstrak ubi jalar ungu merupakan antioksidan potent diharapkan dapat mengurangi efek buruk stress oksidatif akibat pajanan asap rokok, sehingga dapat menurunkan prevalens penyakit paru akibat rokok di masa yang akan datang baik pada perokok aktif maupun akibat pajanan asap rokok lingkungan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian antosianin dalam ekstrak ubi jalar ungu terhadap kadar MDA dan NO sputum perokok asimtomatik.

METODE

Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan desain penelitian *randomized controlled trial pre and post test control group design*. Pemberian antosianin dilakukan secara *double blind*. Sampel akan dibagi menjadi 2 kelompok yaitu perokok yang diberikan jus ubi ungu 2x 15 ml per hari dan placebo 2x 15 ml/hari selama 14 hari. Penelitian dilakukan di poli paru RSUD dr. Soetomo Surabaya pada 1 Juli

sampai 1 November 2016. Pemeriksaan MDA dan NO sputum induksi dilakukan di laboratorium patologi klinik RSUD dr. Soetomo Surabaya.

Sampel penelitian diambil dengan metode *purposif random sampling* hingga memenuhi jumlah besar sampel. Untuk pembagian kelompok dilakukan secara acak sederhana (*simple random sampling*). Kriteria inklusi adalah laki-laki, usia 20-50 tahun, merokok 10-19 batang rokok per hari, asimtomatik, memiliki kadar MDA tinggi pada sputum dibandingkan nilai normal ($15,6 \pm 0.43$ ng/ml), memiliki kadar NO rendah pada sputum dibandingkan nilai normal (577 ± 115 ng/ml) dan bersedia menandatangani *informed consent*.

Sedangkan yang termasuk kriteria eksklusi adalah subjek yang memiliki riwayat penyakit sistemik (hipertensi, diabetes melitus, penyakit jantung, ginjal, penyakit hati kronik); memiliki riwayat atopi, asma, dan atau PPOK; mengalami penyakit infeksi saluran napas dalam 6 minggu sebelum pemeriksaan; sedang menggunakan obat-obatan yang berpengaruh terhadap kadar NO seperti alkohol, narkotika, antioksidan (vitamin C,A,E, betakaroten, ekstrak buah berry), dan nitrat (contoh ISDN, nitrogliserin) dalam 1 bulan terakhir; serta alergi terhadap komponen ubi jalar ungu. Subjek yang tidak menjalani protokol penelitian sebagaimana mestinya dan tidak dapat mengeluarkan dahak setelah diinduksi sputum selama 30 menit akan di *drop out* dari penelitian ini.

Subjek kemudian dikelompokkan menjadi dua kelompok secara acak sederhana. Setiap subjek diberikan dua botol jus (ekstrak antosianin ubi ungu atau placebo), dijelaskan mengenai tata cara penyimpanan dan penggunaan jus, serta makanan atau obat-obatan yang tidak boleh dikonsumsi selama penelitian. Jus diminum dua kali sehari pada pukul 07.00 pagi dan pukul 19.00 petang selama 14 hari. Setelah minum jus subjek dan pengawas minum obat (PMO) membubuhkan tanda tangan pada kartu minum obat yang disediakan oleh peneliti. Induksi sputum, pemeriksaan NO, dan MDA sputum dilakukan dua kali yaitu sebelum mengonsumsi jus

(baik ekstrak antosianin ubi ungu maupun placebo) dan 14 hari setelah mengonsumsi jus tersebut.

Jus ubi ungu dan placebo dibuat di laboratorium agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana dengan cara pembuatan sebagai berikut: umbi segar dibersihkan dengan air bersih kemudian dikupas kulit luarnya, dan dicuci dengan air bersih. Umbi diiris menggunakan mesin pengiris (*slicer*) dengan ketebalan sekitar 2-3 mm. Irisan umbi direbus dengan air minum (perbandingan 1 kg umbi + 2 liter air minum). Perebusan dilakukan 45 menit sejak air mendidih. Ekstrak dan ampas dipisahkan melalui penyaringan menggunakan saringan stainless dengan 4 lapis kain kasa. Ekstrak direbus menggunakan panci stainless sampai volume akhir menjadi $\frac{1}{4}$ dari volume awal. Ekstrak dimasukkan ke dalam dispenser stainless, didiamkan kurang lebih selama 2 jam, lalu siap dimasukkan ke dalam botol dengan volume 275 ml. Kemasan diberi label, dan siap untuk dikonsumsi.

Placebo dibuat dengan menambahkan 1 ml pewarna makanan warna ungu terong (merk rajawali) dan 20 gram sukrosa ke dalam 1 liter air. Aduk sampai bahan terlarut sempurna selanjutnya rebus larutan hingga mendidih selama 15 menit. Kemudian matikan kompor dan diamkan. Setelah suhu larutan menjadi 70 derajat celsius, larutan siap dimasukkan ke dalam botol. Placebo dibuat dengan bentuk dan kemasan menyerupai jus ubi jalar ungu.

Induksi sputum dilakukan dengan nebulisasi larutan salin fisiologis 3% 7 ml selama 15-20 menit, dengan menggunakan nebulizer ultrasonik sonix 2000 dengan frekuensi 1.85 MHz dan kecepatan 0.25-0.75 ml/menit. Bila terdapat keluhan sesak napas akibat bronkokonstriksi, induksi sputum dihentikan kemudian penderita diberi inhalasi salbutamol 2.5 mg dan induksi sputum dapat dilanjutkan jika bronkokonstriksi teratasi. Sputum ditampung dalam pot steril dan dikirim ke laboratorium Patologi Klinik RSUD dr. Soetomo Surabaya dengan suhu -40° C (pendinginan dengan 4 kg *dry ice*) dengan waktu maksimal 1x 24 jam setelah induksi.

Kadar MDA sputum diukur dengan menggunakan metode ELISA menggunakan reagen merk *elabscience* (satuan ng/m). Kadar NO sputum diukur berdasarkan pemeriksaan sputum induksi dengan metode ELISA menggunakan reagen merk *elabscience* (satuan ng/m). Analisis kadar MDA dan NO antar kelompok menggunakan uji T independen (*independent T test*). Analisis kadar MDA dan NO sputum sebelum dan setelah pemberian ekstrak antosianin pada masing-masing kelompok menggunakan uji T berpasangan (*paired T test*).

HASIL

Subjek pada penelitian ini adalah laki-laki, berusia 20-50 tahun, merokok 10-19 batang rokok per hari, asimtomatik, serta memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Subjek dibagi menjadi 2 kelompok, Subjek yang diberikan ekstrak antosianin ubi ungu 2 x 15 ml per hari sebagai kelompok perlakuan dan subjek yang diberikan placebo 2 x 15 ml/hari sebagai kelompok kontrol. Rata-rata usia pada kelompok kontrol adalah 35,15 tahun, sedangkan pada kelompok perlakuan adalah 33,07 tahun ($P=0,633$).

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

Karakteristik	Kelompok		P
	Kontrol (Placebo)	Perlakuan (Sirub Ubi Ungu)	
Usia (rata-rata ± SD)	35,13 ± 10,986	33,47 ± 7,596	
20–30 tahun	6 (40,0%)	7 (46,7%)	0,633
31–40 tahun	3 (20,0%)	5 (33,3%)	
41–50 tahun	6 (40,0%)	3 (20,0%)	
BMI (rata-rata ± SD)	22,22 ± 5,063	22,44 ± 4,494	
<18,5 (kurang)	5 (33,3%)	3 (20,0%)	0,803
18,5–24,9 (normal)	5 (33,3%)	7 (46,7%)	
25–29,9 (berlebih)	4 (26,7%)	5 (33,3%)	
Jumlah Rokok (rata-rata ± SD)	13,20 ± 3,052	13,07 ± 2,915	
10–12 batang/hari	6 (40,0%)	6 (40,0%)	0,983
13–16 batang/hari	6 (40,0%)	7 (46,7%)	
17–19 batang/hari	3 (20,0%)	2 (13,3%)	
Lama Merokok (rata-rata ± SD)	22,73 ± 7,497	17,13 ± 9,418	
<10 tahun	1 (6,2%)	2 (12,5%)	0,082
10–19 tahun	3 (12,5%)	8 (50%)	
20–29 tahun	7 (43,8%)	4 (25%)	
≥30 tahun	5 (31,2%)	2 (12,5%)	
Indeks Brinkman (rata-rata ± SD)	262,93 ± 96,276	236,27 ± 150,369	
0–199 (ringan)	3 (20,0%)	9 (60,0%)	0,568
200–599 (sedang)	12 (80,0%)	6 (40,0%)	
≥600 (tinggi)	0 (0%)	0 (0%)	
Jenis rokok			
Filter	13(86,7%)	12(80,0%)	0,624
Kretek	2 (13,3%)	3 (20,0%)	
FEV ₁ (rata-rata ± SD)	2,79 ± 0,406	3,03 ± 0,511	
<1 liter	0 (0%)	0 (0%)	0,166
≥1–2 liter	11 (73,3%)	7 (46,7%)	
≥2–3 liter	0 (0%)	0 (0%)	
>3 liter	4 (26,7%)	8 (53,3%)	
%Prediksi FEV ₁ (rata-rata ± SD)	90,27 ± 6,307	93,87 ± 8,096	
<80% (tidak normal)	0 (0%)	0 (0%)	0,185
≥80% (normal)	15 (100%)	15 (100%)	
FVC (rata-rata ± SD)	3,14 ± 0,348	3,35 ± 0,399	
<2 liter	0 (0%)	0 (0%)	0,097
≥2–3 liter	5 (33,3%)	3 (20,0%)	
≥3–4 liter	9 (60,0%)	11 (73,3%)	
>4 liter	1 (6,7%)	1 (6,7%)	
%Prediksi FVC (rata-rata ± SD)	82,93 ± 4,527	84,47 ± 5,567	
≥80% (normal)	15 (100%)	15 (100%)	0,914
FEV ₁ /FVC	96,47 ± 14,672	99,13 ± 14,589	
≥70% (normal)	15 (100%)	15 (100%)	0,662
FEF _{25-75%}	3,94 ± 0,914	4,28 ± 0,903	
<2 liter	0 (0%)	0 (0%)	0,312
≥2–3 liter	1 (6,7%)	1 (6,7%)	
≥3–4 liter	9 (60,0%)	7 (46,7%)	
>4 liter	5 (33,3%)	7 (46,7%)	
%Prediksi FEF _{25-75%}	99,76 ± 24,525	101,93 ± 22,266	
≥65% (normal)	15 (100%)	15 (100%)	0,455

Rata-rata BMI pada kelompok kontrol adalah 22,22 sedangkan pada kelompok perlakuan adalah 22,44 ($P=0,803$). Rata-rata jumlah konsumsi rokok/hari pada kelompok kontrol adalah 13,2 batang/hari sedangkan pada kelompok perlakuan adalah 13,07 batang/hari ($P=0,983$). Rata-rata lama merokok pada kelompok kontrol adalah 22,73 tahun sedangkan kelompok perlakuan adalah 17,13 tahun ($P=0,082$). Rata-rata Indeks Brinkman pada kelompok kontrol adalah 262,93 sedangkan pada kelompok perlakuan adalah 236 ($P=0,568$). Pada kelompok kontrol terdapat 13 orang (86,7%) yang merokok jenis filter dan 2 orang (13,3%) yang merokok jenis kretek, sementara pada kelompok perlakuan terdapat 12 orang (80%) yang merokok jenis filter dan 3 orang (20%) yang merokok jenis kretek ($P=0,624$).

Rata-rata FEV₁ pada kelompok kontrol adalah 2,79 liter sedangkan pada kelompok perlakuan adalah 3,03 liter ($p 0,166$). Rata-rata %prediksi FEV₁ pada kelompok kontrol adalah 90,27% sedangkan pada kelompok perlakuan adalah 93,87% ($p 0,185$). Rata-rata FVC pada kelompok kontrol adalah 3,14 liter sedangkan pada kelompok perlakuan adalah 3,35 liter ($P=0,097$). Rata-rata % prediksi FVC pada kelompok kontrol adalah 82,93% sedangkan pada kelompok perlakuan adalah 84,47% ($P=0,914$). Rata-rata FEV₁/FVC pada kelompok kontrol adalah 96,47% sedangkan pada kelompok perlakuan adalah 99,13% ($P=0,678$). Rata-rata FEF_{25-75%} pada kelompok kontrol adalah 3,94 liter sedangkan pada kelompok perlakuan adalah 4,28 liter nilai $P=0,312$ ($\geq 0,05$). Rata-rata %prediksi FEF_{25-75%} pada kelompok kontrol adalah 99,06% sedangkan pada kelompok perlakuan adalah 99,07% ($P=0,455$).

Tabel 2. Perbandingan kadar NO antara sebelum dan setelah perlakuan

Kelompok	Kadar NO (ng/ml)		P
	Sebelum	Sesudah	
Kontrol (Placebo)	66,67 (19,21-432,17)	72,00 (23,74-530,84)	0,683
Perlakuan (Jus ubi ungu)	40,80 (22,41-409,66)	78,30 (26,67-521,83)	0,256

Pada kelompok kontrol median kadar NO sebelum pemberian placebo adalah 66,67 ng/mL, sedangkan setelah pemberian placebo adalah 72,00

ng/ml ($P=0,683$). Pada kelompok perlakuan median kadar NO adalah 40,80 ng/ml, sedangkan setelah perlakuan adalah 78,30 ng/ml ($P=0,256$). Jika dibandingkan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, median peningkatan kadar NO didapatkan lebih besar pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol, walaupun hasil ini tidak bermakna secara statistik. Pada kelompok kontrol median perubahan kadar NO adalah 0,53 ng/ml, sedangkan pada kelompok perlakuan 6,66 ng/ml ($P=0,633$).

Tabel 3. Perbandingan perubahan kadar NO antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Variabel	Kontrol (Placebo)	Perlakuan (Jus Ubi Ungu)	P
Perubahan Kadar NO (ng/ml)	0,53 (-320,71-511,63)	6,66 (-296,07-343,73)	0,633

Pada kelompok kontrol median kadar MDA sebelum pemberian placebo adalah 416,00 ng/mL, sedangkan setelah pemberian placebo adalah 476,00 ng/mL ($P=0,532$). Pada kelompok perlakuan median kadar MDA adalah 476,00 ng/ml, sedangkan setelah perlakuan 165,30 ng/ml ($P=0,001$).

Tabel 4. Perbandingan kadar MDA sebelum dan setelah perlakuan

Kelompok	Kadar MDA (ng/ml)		P
	Sebelum	Sesudah	
Kontrol (Placebo)	416,00 (119,80-1541,00)	476,00 (100,90-1264,00)	0,532
Perlakuan (Jus ubi ungu)	336,90 (94,10-1194,00)	165,30 (29,20-765,30)	0,001

Pada kelompok kontrol median perubahan kadar MDA adalah 0,9 ng/ml, sedangkan pada kelompok perlakuan -117,40 ng/ml.

Tabel 5. Perbandingan perubahan kadar MDA antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Variabel	Kontrol (Placebo)	Perlakuan (Jus Ubi Ungu)	Nilai p
Perubahan Kadar MDA (ng/mL)	0,90 (-1087,80-827,60)	-117,40 (-457,10 - -37,30)	0,001

Terdapat perbedaan yang bermakna antara perubahan kadar MDA kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan $P=0,001$ ($< 0,05$).

Pada analisis korelasi hubungan antara karakteristik subjek penelitian dengan perubahan kadar MDA dan NO terdapat hubungan bermakna antara BMI dengan perubahan kadar MDA pada kelompok kontrol. Untuk variabel lain tidak

didapatkan hubungan yang bermakna secara statistik.

Tabel 6. Hubungan perubahan kadar NO dan MDA terhadap karakteristik subjek penelitian

Variabel		Kelompok			
		Kontrol (Placebo)		Perlakuan (Jus Ubi Ungu)	
		Korelasi	P	Korelasi	P
Usia	Perubahan Kadar NO	0,485	0,067	-0,462	0,083
	Perubahan Kadar MDA	0,437	0,103	0,132	0,638
BMI	Perubahan Kadar NO	0,201	0,473	0,158	0,574
	Perubahan Kadar MDA	-0,556	0,032*	-0,370	0,175
Jumlah Rokok	Perubahan Kadar NO	-0,007	0,979	-0,067	0,812
	Perubahan Kadar MDA	0,323	0,241	-0,207	0,459
Lama Merokok	Perubahan Kadar NO	0,168	0,549	-0,390	0,150
	Perubahan Kadar MDA	0,373	0,171	0,201	0,474
Jenis Rokok	Perubahan Kadar NO	-	0,382	-	0,382
	Perubahan Kadar MDA	-	0,382	-	0,382
Indeks Brinkman	Perubahan Kadar NO	-0,065	0,818	-0,202	0,470
	Perubahan Kadar MDA	0,043	0,878	-0,095	0,737
FEV ₁	Perubahan Kadar NO	-0,499	0,058	0,214	0,443
	Perubahan Kadar MDA	-0,286	0,301	-0,029	0,919
FVC	Perubahan Kadar NO	-0,282	0,308	0,390	0,151
	Perubahan Kadar MDA	-0,497	0,060	-0,202	0,470
FEV ₁ /FVC	Perubahan Kadar NO	-0,220	0,431	-0,133	0,635
	Perubahan Kadar MDA	0,073	0,795	0,069	0,808
FEF _{25-75%}	Perubahan Kadar NO	-0,221	0,428	-0,213	0,447
	Perubahan Kadar MDA	0,157	0,576	0,000	1,000

Ket: *Signifikan pada 0,05

Analisis hubungan antara BMI dengan perubahan kadar MDA pada kelompok kontrol, hasil uji *Rank Spearman* menyimpulkan bahwa ada hubungan korelasi negatif (-0,556) yang bermakna antara perubahan kadar MDA dengan BMI memiliki nilai $P=0,032$ ($<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa semakin rendah BMI maka semakin tinggi perubahan kadar MDA, begitu pula sebaliknya.

Sementara pada kelompok perlakuan hasil uji *Rank Spearman* antara perubahan kadar MDA dengan BMI menyimpulkan bahwa tidak ada hubungan yang bermakna antara perubahan kadar MDA dengan BMI memiliki nilai $P=0,175$ ($\geq 0,05$), dan nilai korelasi negatif (-0,370).

PEMBAHASAN

Rokok merupakan penghasil radikal bebas terbesar karena kandungan senyawa yang terdapat di dalam asapnya. Rokok dapat menyebabkan stress oksidatif yaitu ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan. Stress oksidatif dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid. MDA adalah senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid di dalam tubuh. MDA dilaporkan sangat toksik terhadap membran sel, karena dianggap sebagai inisiator suatu reaksi, karsinogenik, maupun berperan dalam mutagenesis.⁴ Stress oksidatif akibat rokok dapat menurunkan produksi NO fisiologis paru melalui beberapa mekanisme. Turunnya kadar NO lokal di paru dapat menyebabkan disfungsi endotel dan vasokonstriksi pulmonal, berakibat terjadinya hipertensi pulmonal. Penurunan NO fisiologis pada saluran napas juga mengakibatkan terjadinya bronkospasme, hipersekresi mukus, dan penurunan bersihan mukosilier.¹³

Dari analisis data statistik untuk sebaran usia, BMI, jumlah batang rokok yang dikonsumsi per hari, lama merokok, Indeks Brinkman, jenis rokok, dan faal paru tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol ($P>0,05$). Dengan demikian sampel kedua kelompok tersebut adalah homogen.

Pada kelompok kontrol, median kadar NO sebelum pemberian placebo adalah 66,67 ng/ml, sedangkan setelah pemberian placebo adalah 72,00 ng/ml ($P=0,683$). Pada kelompok perlakuan, median kadar NO adalah 40,80 ng/ml, sedangkan setelah perlakuan adalah 78,3 ng/ml ($P=0,256$). Maka dapat disimpulkan bahwa tidak didapatkan peningkatan bermakna kadar NO sputum sebelum dan setelah perlakuan baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.

Hasil pada penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Primayanti dkk yang mendapatkan bahwa pemberian sirup ubi ungu pada perokok sedang di Denpasar dapat meningkatkan kadar NO plasma secara bermakna sehingga dapat mencegah terjadinya penyakit jantung dan penyakit degeneratif.¹⁴ Edirisinghe dkk juga mendapatkan pemberian antosianin dari *black currant* dapat meningkatkan aktivasi *endotelial nitric oxide synthase* (eNOS) pada sel endotel manusia in vitro.¹¹

Pada penelitian Primayanti dkk, pengukuran kadar NO dilakukan dengan sampel darah dan pemberian ekstrak antosianin selama 14 hari sudah memberikan efek penurunan kadar NO dalam darah. Sedangkan hingga saat ini belum ada penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak antosianin pada kadar NO paru, sehingga belum diketahui apakah pemberian selama jangka waktu 14 hari akan memberikan efek atau tidak. Penelitian Hogman dkk pada subjek perokok, mendapatkan bahwa perokok yang telah berhenti merokok selama 2 minggu tidak mengalami peningkatan NO saluran napas yang bermakna. Perbaikan nilai FeNO terlihat bermakna ketika diukur setelah minggu keempat subjek berhenti merokok. Berdasarkan hasil tersebut, kemungkinan pemberian ekstrak antosianin ubi jalar ungu selama 14 hari pada penelitian ini belum cukup untuk meningkatkan kadar NO saluran napas secara bermakna. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui lama pemberian efektif ekstrak antosianin agar meningkatkan nilai NO yang bermakna pada saluran napas perokok.¹⁵

Pada beberapa kepustakaan didapatkan penurunan nilai FeNO pada perokok dibandingkan subjek sehat bukan perokok. Ada beberapa mekanisme yang dapat menjelaskan mengapa level NO menurun pada perokok. Sekitar 1-5 menit setelah menghisap asap rokok, terjadi peningkatan kadar NO di saluran napas dan alveoli akibat NO eksogen yang berasal dari asap rokok. NO eksogen secara cepat bereaksi dengan H₂O dan O₂⁻ saluran napas membentuk nitrit (NO₂⁻), nitrat (NO₃⁻), dan peroksinitrit. Radikal bebas yang terbentuk dari asap rokok terdiri dari level NO yang tinggi (74,5-1008

ppm), secara langsung menurunkan kadar NOS melalui mekanisme *feedback* negatif. Merokok dapat menurunkan ekspresi protein dan transkripsi mRNA iNOS. Pada perokok, jumlah kofaktor yang diperlukan untuk memproduksi NO tidak mencukupi serta terjadi peningkatan penghancuran NO oleh radikal bebas. Penjelasan lainnya adalah peningkatan level CO pada saluran napas perokok dapat menurunkan NO karena konsentrasi CO yang tinggi pada perokok dapat menghambat enzim NOS.¹⁶

Studi anatomi paru menghasilkan beberapa penjelasan mengenai penurunan level NO pada perokok. Studi autopsi pada perokok yang asimtomatik menunjukkan adanya bronkiolitis, pengelupasan epitel bronkiolus, dan hipertropi muskular yang diikuti fibrosis dari dinding bronkial. Penurunan jumlah sel epitel saluran napas yang memproduksi NO menjelaskan terjadinya penurunan level NO karena sel epitel merupakan penghasil NO terbesar di saluran napas.¹⁷ Nilai NO endogen yang rendah dapat diukur 90 menit setelah terpajan asap rokok, dimana efek NO eksogen dari asap rokok telah hilang.¹⁸

Antosianin dalam ekstrak ubi jalar ungu dapat meningkatkan level NO endogen melalui netralisasi radikal bebas yang dihasilkan oleh asap rokok sehingga tidak terjadi proses mekanisme *feedback* negatif terhadap NOS, penurunan jumlah kofaktor yang diperlukan untuk memproduksi NO, serta peningkatan penghancuran NO oleh radikal bebas.¹⁹

Pada hasil penelitian ini juga didapatkan sedikit peningkatan nilai NO setelah pemberian placebo pada kontrol. Jika dibandingkan, peningkatan kadar NO pada kelompok perlakuan lebih besar dibandingkan kelompok kontrol walaupun peningkatan kadar NO pada kedua kelompok tidak bermakna secara statistik.

Peningkatan kadar NO pada kelompok kontrol kemungkinan disebabkan adanya faktor-faktor lain yang dapat meningkatkan kadar NO sputum pada perokok. Pada penelitian Chamber dkk didapatkan peningkatan level NO setelah merokok.¹⁵ Berbeda dengan hasil penelitian Kharitonov dkk dan

Malivoschi dkk yang mendapatkan bahwa pada perokok didapatkan penurunan kadar FeNO.^{18,20}

Dari penelitian Chamber dkk didapatkan milieu saluran napas serta metabolisme NO yang berbeda pada setiap orang mempengaruhi kadar NO pada saluran napas. Pada penelitian tersebut diduga peningkatan kadar NO pada perokok disebabkan oleh NO yang terkandung pada asap rokok terperangkap pada *epithelial lining fluid* (ELF) saluran napas dan mekanisme *trapping* ini sensitif terhadap status redoks dari ELF. Konsentrasi NO dalam saluran napas juga dapat meningkat akibat ketidakmampuan antioksidan endogen dalam menetralkan radikal nitrogen. Kadar antioksidan endogen dipengaruhi oleh faktor genetik (Nrf2) dan lingkungan seperti asupan antioksidan, status nutrisi, *life style* serta penyakit kronik. Status protein Nrf2 yang rendah, yaitu protein yang mengatur produksi antioksidan endogen (seperti glutathione, MnSOD) dapat mengakibatkan penurunan kapasitas antioksidan endogen dalam menetralkan radikal bebas. Nilai kadar NO di saluran napas juga tergantung pada kecepatan pembersihan radikal nitrogen oleh tubuh. Beberapa perokok dapat mengalami peningkatan kadar NO karena pembersihan yang lambat pada saluran napas.¹⁵

Selain beberapa kemungkinan di atas, terdapat pula pengaruh afinitas NO terhadap haeme pada kadar NO saluran napas. Penurunan ketersediaan haeme pada perokok tertentu dapat meningkatkan konsentrasi NO sputum. Heme berperan dalam pembersihan NO dalam saluran napas. Pada subjek sehat, radikal nitrogen yang terbentuk saat menghisap asap rokok akan dieliminasi oleh tubuh dengan cepat melalui ikatan dengan haeme yang ada dalam hemoglobin, kemudian dibawa ke sirkulasi dan akhirnya diekskresi melalui saluran napas, saluran cerna, dan ginjal. CO yang tinggi pada saluran napas perokok juga dapat berkompetisi dengan NO dalam berikatan dengan heme, sehingga pada perokok dengan status heme yang kurang akan didapatkan kadar NO saluran napas yang tinggi.¹⁵ Salah satu atau beberapa faktor di atas mungkin berperan sebagai penyebab peningkatan NO saluran napas

pada kelompok kontrol, namun tidak diperiksa pada penelitian ini.

Pada kepustakaan, beberapa zat ditemukan dapat mempengaruhi nilai pengukuran NO. Yates dkk mendapatkan peningkatan NO yang signifikan pada pasien asma setelah mengonsumsi etanol, namun hal ini tidak terjadi pada kelompok non asma. Paparan kronik terhadap etanol dapat meningkatkan ekspresi dan aktivitas NO endotel dan juga peningkatan pelepasan NO. Konsumsi mariyuana dan kokain dapat menurunkan produksi NO. Antioksidan lain seperti vitamin C, E, A; terapi yang mengandung nitrat (misalnya ISDN); diet tinggi nitrat seperti wortel, kacang hijau, bayam, bit; produk daging olahan seperti bakso, sosis, daging asap; serta alkohol dapat meningkatkan kadar NO udara pernapasan pada perokok.³¹ Beberapa keadaan juga dapat mempengaruhi nilai NO udara pernapasan. Kadar NO akan meningkat pada keadaan atopi, asma, rinitis alergi, konsumsi nitrat baik dari makanan maupun obat-obatan. Terapi kortikosteroid, antagonis leukotrin, dan anti IgE dapat menurunkan kadar NO udara pernapasan. Latihan fisik, methylxantine, dan cromones belum jelas pengaruhnya terhadap kadar NO.²⁰ Usia, Jenis kelamin, atopi, dan status merokok dapat mempengaruhi nilai normal.²¹

Pada penelitian ini, faktor-faktor yang dapat mempengaruhi nilai NO seperti tersebut di atas sudah diupayakan dikontrol dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Pada beberapa kepustakaan bahkan disebutkan bahwa pemeriksaan spirometri dapat menurunkan kadar FeNO sehingga pada penelitian ini induksi sputum untuk pemeriksaan NO dilakukan sebelum pemeriksaan spirometri.²¹

Pada kelompok kontrol, median perubahan kadar NO adalah 0,53 ng/ml, sedangkan pada kelompok perlakuan 6,66 ng/ml ($P=0,633$). Dapat disimpulkan bahwa subjek yang diberikan jus ubi ungu maupun yang tidak diberikan memiliki perubahan kadar NO sputum yang sama, yaitu sama-sama mengalami peningkatan walaupun hasil ini tidak signifikan secara statistik. Dari hal tersebut dapat diasumsikan adanya faktor lain selain

konsumsi antosianin yang berperan mengatur metabolisme NO di dalam tubuh seperti penjelasan diatas.

Pada kelompok kontrol median kadar MDA sebelum pemberian placebo adalah 416,00 ng/ml, sedangkan setelah pemberian placebo adalah 476,00 ng/ml ($P=0,532$). Maka dapat disimpulkan bahwa perokok yang tidak diberikan jus ubi ungu, setelah diberikan placebo selama 14 hari memiliki kadar MDA yang kurang lebih sama.

Pada kelompok perlakuan median kadar MDA adalah 336,90 ng/ml, sedangkan kadar setelah perlakuan adalah 165,30 ng/ml ($P=0,001$). Dapat disimpulkan pada pasien perokok yang diberikan jus ubi ungu memiliki kadar MDA yang menurun secara signifikan.

Ekstrak antosianin ubi jalar ungu banyak mengandung senyawa antosianin yang berfungsi sebagai antioksidan, berperan menghambat dan mencegah propagasi radikal bebas yang disebabkan oleh pajanan asap rokok dengan cara *scavenging*, mengikat singlet oksigen, radikal hidroksil, hidrogen peroksida, peroksinitrit radikal, dan berperan pula sebagai *chelating agent*, mengikat radikal bebas DPPH serta menghambat peroksida lipid pada ketiga tahap diatas. Antosianin menyebabkan *chain breaking* pada radikal bebas. Atom hidrogen pada antosianin akan berikatan dengan atom tidak berpasangan pada radikal bebas sehingga dihasilkan komponen netral atau radikal yang kurang reaktif.^{22,23} Antosianin juga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan endogen melalui aktivasi gen Nrf2.²⁴

Walaupun antosianin dapat menetralkan radikal bebas, usaha yang paling baik untuk menghindari efek buruk asap rokok adalah dengan berhenti merokok. Kerusakan yang ditimbulkan oleh rokok tidak terbatas akibat ROS saja namun masih banyak kandungan senyawa karsinogenik lain seperti PAH, benzena, dan Pb yang dapat memicu timbulnya kanker, dimana zat-zat tersebut tidak dapat dinetralkan oleh antioksidan.

Pada kelompok kontrol median perubahan kadar MDA adalah 0,9 ng/ml, sedangkan pada kelompok perlakuan -117,40 ng/ml ($P=0,001$). Dapat

disimpulkan pada pasien yang diberikan jus ubi ungu terjadi penurunan kadar MDA secara bermakna dibandingkan dengan subjek yang tidak diberikan jus ubi ungu. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Primayanti dkk, Jawi dkk, dan Yadnya dkk bahwa pemberian ekstrak antosianin yang terkandung pada ubi jalar ungu secara signifikan dapat menurunkan kadar MDA dalam darah.^{14,26,27}

Pada analisis korelasi hubungan antara karakteristik subjek penelitian dengan perubahan kadar MDA dan NO didapatkan adanya hubungan bermakna antara BMI dengan perubahan kadar MDA pada kelompok kontrol. Untuk variabel lain tidak didapatkan hubungan yang bermakna secara statistik. Analisis hubungan antara BMI dengan perubahan kadar MDA pada kelompok kontrol menyimpulkan bahwa ada hubungan korelasi negatif (-0.556) yang bermakna antara perubahan kadar MDA dengan BMI dengan nilai $P=0,032$ ($<0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa semakin rendah BMI maka semakin tinggi perubahan kadar MDA dan begitu pula sebaliknya.

Sementara pada kelompok perlakuan hasil uji *Rank Spearman* antara perubahan kadar MDA dengan BMI menyimpulkan bahwa tidak ada hubungan yang bermakna antara perubahan kadar MDA dengan BMI dengan nilai $P=0,175$ ($\geq 0,05$) dan nilai korelasi negatif (-0,370). Dalam hal ini didapatkan perbedaan hasil antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Nilai rata-rata BMI pada kelompok kontrol adalah 22,2. Kelompok BMI terbanyak adalah kelompok kurang dan normal. Hubungan bermakna antara BMI dan MDA sejalan dengan temuan Higashi dkk bahwa konsentrasi MDA darah akan meningkat bermakna pada BMI rendah, obesitas dan obesitas ekstrim. Banyaknya subjek dengan BB kurang pada penelitian ini menyebabkan saat dianalisis didapatkan hubungan bermakna antara BMI dengan kadar MDA. Berbeda dengan kelompok perlakuan, rerata BMI adalah 22,44. Kelompok terbanyak adalah kelompok BMI normal sehingga saat dilakukan analisis didapatkan tidak didapatkan hubungan yang

bermakna antara BMI dengan kadar MDA pada kelompok perlakuan.²⁸

Selain antioksidan terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi kadar MDA dalam tubuh seperti genetik, usia, jumlah rokok yang dikonsumsi per hari, lama merokok, serta penyakit kronik lainnya. Pada penelitian ini faktor tersebut tidak berpengaruh terhadap hasil karena karakteristik sampel yang homogen dan telah dilakukan eksklusi terhadap faktor-faktor perancu.

Selama penelitian berlangsung tidak didapatkan efek samping dari penggunaan jus ubi jalar ungu. Dari kelompok placebo, 1 subjek mengeluhkan mengalami suara “serik” sejak mengkonsumsi placebo. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kandungan sukrosa yang tinggi pada placebo. Efek samping yang terjadi hilang sendiri dalam beberapa hari tanpa pengobatan.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Pada penelitian ini tidak dilakukan foto toraks pada subjek untuk menyingkirkan kelainan paru pada subjek asimtomatis. Pengecatan sputum BTA dan pemeriksaan lain untuk mendiagnosis kemungkinan adanya penyakit infeksi paru juga tidak dilakukan. Pemeriksaan faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi kadar MDA dan NO seperti pemeriksaan gula darah, fungsi ginjal, fungsi hati, enzim jantung, profil lipid darah, kadar Hb, penyakit autoimun atau keganasan tidak dilakukan.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terjadi perubahan kadar MDA yang bermakna sebelum dan setelah pemberian ekstrak antosianin ubi jalar ungu pada kelompok perlakuan, serta tidak terjadi perubahan kadar NO yang bermakna sebelum dan setelah perlakuan baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

1. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. Berhenti Merokok. Dalam Berhenti Merokok, Pedoman dan tatalaksana di Indonesia. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2011. p.7.

2. Badan penelitian dan pengembangan Kesehatan departemen kesehatan republik indonesia. Laporan hasil riset kesehatan dasar (Riskesdas) Nasional 2013. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2013. p.375.
3. Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI. Perilaku Merokok Masyarakat Indonesia Berdasarkan Riskesdas 2007 dan 2013. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2014. p.3.
4. Kim DH, Suh YS, Mun OC. Tissue level of Malondialdehyde after Passive Smoke Exposure of Rats for a 24 Week Period. *Nicotine and Tobacco research*. 2004;1039-42
5. Nuttal SL, Routledge HC, Manney S. Circulating and Exhaled Markers of Nitric Oxide and Antioxidant Activity after Smoking. *Circulation*. 2002;106:e145.
6. Borac C. Oxidation Reaction Theory of Aging. 2009 (accesed 2015 November 22) Available from: www.Oxidation_reaction_Theory_of_Aging.htm.
7. Nijvel RJ, Nood EV, Hoorn DECV, et al. Flavonoid: a review of probable mechanism of action and potential application. *Am J clin nutr*. 2001; 4:418-25.
8. Prior R. Fruit and Vegetables in the Prevention of Cellular Oxidative Damage. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2003;78:570S-78S.
9. Suprpta D.N, Antara M, Arya N, et al. Studi on the improvement of quality and diversification food in bali. Bali: Udayana University; 2003. h. 27-36.
10. Abu-Bakar, O. Treatment with the Skin of Purple eggplant inhibited the Increase of MDA in the blood of mice with Maximal activity. *Bali medical Journal*. 2010;4:45-8.
11. Edirisinghe I, Banaszewski K, Cappozzo J, McCarthy B, Burton FBM. Effect of blackcurrent antosianins on the activation of endothelial nitric oxide shynthase (eNOS) in vitro in human endothelial cells. *J Agrig Food Chem*. 2013;61:1006.

12. Wikana J. Pemberian Kompleks Buah Berry Menurunkan Stress Oksidatif dan Meningkatkan Pertahanan Oksidatif pada Perokok Aktif. Kumpulan Thesis Program Pascasarjana. Universitas Udayana. Bali. 2011.
13. Brukdorfer R. The Basic About nitric Oxide. *Mol aspec Med.* 2005 ; 1(2) : 3-3.
14. Dwi-Primayanti IDAI, Aman IGM, Agus-Bagiada N. Ipomea Batatas Syrup Decrease Malondialdehyde and Increased Nitrous Oxide Plasma Levels Among Moderate Smoker Workers at Denpasar. *BMJ.* 2012; 3:125-30.
15. Chambers DC, Tunnicliffe WS, Ayres JG. Acute Inhalation of Cigarette Increases Lower Respiratory Track Nitric Oxide Concentrations. *Thorax.* 1998 ;53(8): 677
16. Baretto RTM. Nitric oxide as a marker of smooking abstinence. Institute of medical science, university of toronto. Canada. 2010; pp 87-88
17. Persson MG, Zetterstorm O, Agrenius V, Ihre E, Gstafsson LE. Single Breath Nitric Oxide Measurement in Asmatic Patiens and Smokers. *Lancet.* 1994 ; 343(8890) : 146-7.
18. Kharitonov SA, Robbins RA, Yates D, Keatings V, Barnes PJ. Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide. *Am J respir Crit care med.* 1995 ; 152 (2) : 609-12.
19. Kano M, Takayanagi T, Harada K, Makino K, Ishikawa F. Antioxidative Activity of Anthocyanin from Purple Sweet Potato, Ipomea batatas Cultivar Ayamurasaki. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2005 ; 69 (5) : 979-988.
20. Malivoschi A, Janson C, Holmkvist T, Norback D, Merilainen P, Hogman M. Effect of smoking on exhaled nitric oxide and flow independent nitric oxide exchanged parameters. *Eur Respir J* . 2006 ; 28 (2) : 339-45.
21. Brindicci C, Ito K, Resta O, Pride NB, Barnes PJ, Kharitonov SA. Exhaled nitric oxide from lung pheriphery is increased in COPD. *Eur respir J.* 2005 ; 26 (1) : 52-9.
22. Montilla EC, Hillebrand S, Butschbach D, Baldermann S, Watanabe N, Winterhalter P. Preparative Isolation of Anthocyanins from Japanese Purple Sweet Potato (Ipomea batatas) Vareities by High - Speed Countercurrent Chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 2010 ; 58 : 9899-9904.
23. Oki T, Osame M, Kobayashi M, et al. Simple Rapid Spectrophotometric Method for Selecting Purple- Fhleshed Sweet Potato Cultivars With a High Radical Scavenging Activity. *Breed Sci.* 2003 ; 53 : 101-107.
24. Jawi IM, Yasa IWPS, Subawa AAN, Suprpta DN. Comparison of Potential Antihypertensive and Antioxidant Between Aqueous Extract of Purple Sweet Potato Tuber and Captopril in Hypertensive Patient. *Journal of Biology, Agriculture, and Healthcare.* 2015 ; 5(14) :128-31.
25. Mohod K, Ninghot A, Ansari AK, Garg N. Circulating Lipid Peroxide and Antioxidant Status in Cigarette Smokers : An Oxidative Damage Phenomena. *IJHSR.* 2014 ; 4(5) : 61-2.
26. Jawi IM, Suprpta DN, Subawa AAN. Ubi Jalar Ungu Menurunkan Kadar MDA dalam Darah tikus dan Hati Mencit Setelah Aktivitas Fisik Maksimal. *Journal Veteriner.* 2008 ; Vol. 9(2) : 65-72.
27. Yadnya TGB, Sudana IB, Mahardika IB, Mastika IM. The effect of Fermented Purple Sweet Potato (Ipomea batatas L) in the Ration on the Antioxidant Profile andMmeat Cholesterol of Bali Duck. Faculty of Animal Husbandry. Udayana University. 2009.
28. Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, et al. Low body mass indeks is a risk factor for impaired endothelium-dependent vasodilation in humans. *JACC.* 2003;42(2): 256-63.