

## Pengaruh Pemberian Cuka Apel 'A' terhadap Kadar MDA Hepar Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik

### *(The Effect of 'A' Apple Vinegar on the Liver MDA of Male Wistar Rat Induced by Toxic Dose of Paracetamol)*

Niki Rahmawati, Sugiyanta, Elly Nurus Sakinah  
Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
Jln Kalimantan 37, Jember 68121  
e-mail: sugiyanta97.fk@unej.ac.id

#### **Abstract**

*High dose of paracetamol is metabolized by cytochrome P-450 become free radical N-acetyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI) but liver Glutathione (GSH) is not adequate to change it become nonreactive metabolite so that NAPQI bind to unsaturated fatty acid of cell membrane, causing lipid peroxidation and increase liver Malondialdehyde (MDA). 'A' apple vinegar contains anthocyanin with an antioxidant effect by electron donor to NAPQI and acetic acid to improve liver GSH level. The aim of research was to investigate the effect of 'A' apple vinegar on the rat liver MDA induced by toxic dose of paracetamol. Research groups consist of normal control (CMC Na 1% 1 ml for 14 days), negative control (CMC Na 1% 1ml for 14 days + paracetamol 291.6 mg/200gBW on the day 12nd,13rd,14th), and treatment group ('A' apple vinegar 0.4 ml/150gBW for 14 days + paracetamol 291.6 mg/200gBW on the day 12nd,13rd,14th). Liver MDA was measured on the day 15th with competitive ELISA. The average of normal control group was 21.58 ng/ml, negative control group was 70,71 ng/ml, treatment group was 37,67 ng/ml. One way ANOVA and Post hoc LSD test showed significantly differences between all groups ( $p < 0,05$ ). It can be concluded that 'A' apple vinegar had an effect on the liver MDA induced by toxic dose of paracetamol.*

**Keywords:** Paracetamol, NAPQI, MDA, 'A' apple vinegar, antioxidant

#### **Abstrak**

Parasetamol dalam dosis yang sangat besar akan dimetabolisme oleh sitokrom P-450 menjadi radikal bebas *N-acetyl-p-benzoquinoneimine* (NAPQI), namun *Glutathione* (GSH) hepar tidak cukup untuk mengubahnya menjadi non reaktif sehingga NAPQI berikatan dengan asam lemak tidak jenuh membran sel, mengakibatkan peroksidasi lipid dan menaikkan kadar *malondialdehyde* (MDA) hepar. Cuka apel 'A' mengandung antosianin yang mempunyai efek sebagai antioksidan dengan donor elektron pada NAPQI, dan mengandung asam asetat untuk memperbaiki kadar GSH hepar. Tujuan penelitian untuk mengetahui apakah ada pengaruh pemberian cuka apel 'A' terhadap kadar MDA hepar tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik. Kelompok penelitian terdiri atas kontrol normal (Na CMC 1% 1 ml 14 hari), kontrol negatif (Na CMC 1% 1 ml 14 hari + parasetamol 291,6 mg/200gBB hari ke-12,13,14), dan perlakuan (cuka apel 'A' 0,4ml/150gBB 14 hari + 291,6 mg/200gBB hari ke-12,13,14). Pengukuran kadar MDA hepar pada hari ke-15 dengan metode kompetitif ELISA, didapatkan hasil rata-rata kelompok kontrol normal 21,58 ng/ml, kontrol negatif 70,71 ng/ml, perlakuan 37,67 ng/ml. Pada uji *one way ANOVA* dan *Post hoc LSD* didapatkan perbedaan signifikan antar semua kelompok ( $p < 0,05$ ). Dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian cuka apel 'A' terhadap kadar MDA hepar tikus wistar yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

**Kata kunci:** Parasetamol, NAPQI, MDA, cuka apel 'A', antioksidan

## Pendahuluan

Parasetamol merupakan obat golongan NSAIDs (*Non-Steroidal Anti Inflammatory Drugs*) derivat para amino fenol yang digunakan sebagai analgesik ringan sampai sedang dan antipiretik namun efek anti inflamasinya lemah [1]. Menurut data RISKESDAS (Riset Kesehatan Dasar) tahun 2010, menyatakan bahwa sekitar 2000 kasus gagal hepar akut setiap tahun, 50% diantaranya disebabkan oleh toksisitas obat dengan porsi 39% karena parasetamol [2]. Parasetamol dimetabolisme oleh hepar melalui dua fase. Fase pertama adalah sebagian kecil parasetamol dioksidasi oleh sitokrom P-450 menjadi produk radikal bebas NAPQI *N-acetyl-p-benzoquinoneimine* (NAPQI). Atom karbon pada struktur cincin benzena milik NAPQI mempunyai sifat elektrofil (kekurangan elektron) sehingga mempunyai muatan lebih positif. Sifat tersebut harus dikongugasi dengan senyawa nukleofil (kelebihan elektron), yaitu *Glutathione* (GSH) hepar. Pada GSH terdapat atom S di gugus disulfida yang berperan sebagai nukleofil dengan membagikan elektronnya ke NAPQI sehingga membentuk senyawa dengan ikatan ireversibel [3]. Senyawa tersebut adalah sistein dan merkapturik yang bersifat non toksik, nantinya diekskresikan dalam urin [4]. Fase kedua adalah sebagian besar parasetamol dikongugasi dengan asam glukoronat dan asam sulfat serta nantinya juga diekskresikan melalui urin [5].

Dosis tunggal 10-15 gram (200-250mg/kgBB) parasetamol menyebabkan gejala hepatotoksitas [1]. Mekanisme yang mendasarinya adalah pada metabolisme fase kedua mengalami kejenuhan akibat parasetamol dosis toksik sehingga beralih ke fase pertama, akibatnya terbentuk NAPQI berlebihan. GSH tidak cukup mengubahnya sehingga NAPQI berikatan dengan hepatosit membentuk NAPQI-*protein adduct* yang menyebabkan stres oksidatif dan nekrosis hepatoseluler [4]. Gejala pada hari pertama akibat toksisitas parasetamol belum mencerminkan bahaya yang mengancam. Anoreksia, mual, dan muntah serta sakit perut terjadi dalam 24 jam pertama. Gangguan hepar dapat terjadi pada hari kedua dengan gejala peningkatan aktivitas serum transaminase, laktat dehidrogenase, kadar bilirubin serum serta pemanjangan masa protrombin [1].

Hepar merupakan organ terbesar tubuh yang terletak di bagian teratas dalam rongga abdomen sebelah kanan di bawah diafragma.

Fungsi hepar adalah metabolisme karbohidrat, lemak, protein, dan obat [6]. Obat sebagai salah satu xenobiotik, yaitu senyawa asing bagi tubuh sehingga harus dimetabolisme dengan tujuan mengubahnya dari non polar menjadi polar dengan maksud larut dalam sirkulasi dan bisa diekskresikan melalui ginjal atau empedu [1,7].

Radikal bebas adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya, reaktivitas tinggi, cenderung untuk mencari pasangan dengan menarik elektron senyawa lain. Target paling rentan dari radikal bebas adalah asam lemak tidak jenuh membran sel. Apabila radikal bebas seperti NAPQI beraksi dengan asam lemak tersebut dalam sel hepar, akibatnya dinding sel menjadi rapuh, kerusakan struktur sel, gangguan fungsi, dan memicu munculnya berbagai penyakit [8]. Kerusakan hepar akibat obat atau DILI (*Drug-Induced Liver Injury*) dibagi menjadi DILI intrinsik yang bersifat bisa diprediksi, *dose-dependent*, dan DILI idiosinkratis yang bersifat tidak bisa diprediksi, *non-dose-dependent* [9]. Lebih dari 900 obat penyebab kerusakan hepar dengan persentase terbesar adalah parasetamol sebesar 37%. Penggunaan jangka panjang dan overdosis parasetamol menyebabkan nekrosis hepatosit sentrilobular. Hasil metabolisme parasetamol yaitu NAPQI akan menyebabkan peroksidasi lipid ditandai dengan kenaikan kadar MDA hepar, menurunnya kadar glutathion hepar, sampai terjadinya nekrosis sel hepar [10].

*Malondialdehyde* (MDA) adalah senyawa dialdehid hasil akhir peroksidasi lipid. MDA merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh ganda pada membran sel oleh radikal bebas dan digunakan sebagai indikator stres oksidatif. Tinggi rendahnya kadar MDA sangat bergantung pada status antioksidan dalam tubuh sehingga apabila status antioksidan tinggi maka diikuti oleh rendahnya kadar MDA [8]. MDA dapat diukur dengan metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substance* (TBARS) menggunakan spektrofotometri atau spektrofluorometri, selain itu juga bisa dengan metode ELISA kompetitif menggunakan kit MDA ELISA siap pakai [11,12]. Keunggulan pemeriksaan MDA adalah sangat cocok sebagai biomarker stres oksidatif karena pembentukan MDA meningkat sesuai dengan stres oksidatif, stabil dalam sampel yang diisolasi, tidak dipengaruhi oleh variasi diurnal dan lemak dalam diet, produk spesifik peroksidasi lipid, terdapat dalam jumlah yang dapat dideteksi pada semua jaringan dan cairan biologis [13].

Cuka apel merupakan cairan masam hasil proses fermentasi alkohol dan fermentasi asetat dari kandungan gula pada buah apel [14]. Fermentasi alkohol melibatkan khamir yaitu *Saccharomyces cerevisiae* untuk mengubah gula menjadi alkohol dalam suasana anaerob. Fermentasi asetat melibatkan bakteri asam asetat yaitu *Acetobacter* atau *Aspergillus acetii* untuk mengubah alkohol menjadi asam asetat (asam cuka) dalam suasana aerob [14,15]. Kandungan cuka apel tidak jauh berbeda dengan buah apel segar. Buah apel segar jenis Anna mempunyai total asam sebesar 0,39%, total fenol 4,22 mg/g, dan aktivitas antioksidan 5,01% [16].

Cuka apel 'A' yang beredar di masyarakat adalah 'T'. Fermentasi dari apel berfungsi menyempurnakan kandungan nutrisi. Dosis Tahesta dalam sekali minum adalah dua sendok makan dalam 200 ml air pada penderita yang tidak mempunyai maag. Sedangkan bagi penderita maag, dimulai dari satu sendok teh dan jika tidak ada keluhan dapat ditingkatkan sampai dua sendok makan [17]. Pada penelitian cuka apel Tahesta sebagai antioksidan dalam menurunkan kadar gula darah tikus wistar, disebutkan cuka apel mengandung total asam 4,53%, fenol 132,55 mg/L, dan aktivitas antioksidan 58,93% [18]. Polifenol merupakan hasil metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman. Polifenol sudah dibuktikan sebagai antioksidan kuat yang dapat menangkalkan radikal bebas dengan mekanisme yaitu mendonorkan elektron atau atom hidrogen. Penelitian lebih lanjut menyatakan bahwa polifenol sebagai salah satu antioksidan alami mempunyai pengaruh sebagai penghancur rantai peroksidasi lipid dengan mendonasikan elektron kepada radikal bebas, menetralkannya sehingga menjadi lebih stabil dan tidak reaktif [19]. Cuka apel 'T' dalam 300 ml juga mengandung vitamin C sebesar 13,706 mg, total karoten 0,599 µg, dan antosianin 14,399 ppm [17]. Ketiga kandungan tersebut berfungsi juga sebagai antioksidan [20,21,22]. Antosianin dan asam asetat berperan sebagai antioksidan alami dengan cara antosianin berfungsi sebagai donor elektron kepada radikal bebas dan menurunkan peroksidasi lipid sedangkan asam asetat dengan memperbaiki kadar enzim hepar yaitu GSH hepar [23].

Berdasarkan hal tersebut, cuka apel 'A' diharapkan dapat mencegah peningkatan kadar MDA hepar akibat parasetamol dosis toksik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui terdapatnya pengaruh pemberian cuka apel 'A'

terhadap kadar MDA hepar yang diinduksi parasetamol dosis toksik. Hasil penelitian diharapkan bisa sebagai bahan informasi penelitian lebih lanjut mengenai potensi antioksidan cuka apel 'A' untuk hepatoprotektor pada konsumsi parasetamol dan sebagai salah satu diet dalam pemenuhan kebutuhan antioksidan tubuh.

## Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental design*) dengan rancangan *post test only control group design*. Penelitian dilakukan pada bulan Oktober sampai November 2015 di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember dan sudah mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Kelompok penelitian terdiri atas (Kn) kontrol normal (Na CMC 1% 1 ml 14 hari), (K(-)) kontrol negatif (Na CMC 1% 1 ml 14 hari + parasetamol 291,6mg/200gBB hari ke-12,13,14), dan (P) perlakuan (cuka apel 'A' 0,4ml/150gBB 14 hari + 291,6mg/200gBB hari ke-12,13,14). Jumlah sampel pada penelitian ini adalah 27 ekor tikus jantan wistar.

Populasi tikus jantan wistar didapat dari peternakan di Malang sedangkan sampel dipilih dengan *simple random sampling* dan dibagi 3 kelompok sehingga masing-masing kelompok terdiri atas 9 ekor. Sampel diadaptasi selama 7 hari dengan pemberian makanan standar dan akuades. Kemudian diberikan perlakuan selama 14 hari sesuai kelompok perlakuan. Pada hari ke-15 semua sampel diterminasi dengan cara tikus dimasukkan ke dalam toples berisi kapas yang sudah dibasahi oleh eter. Setelah tikus teranestesi dilakukan pembedahan dan pengambilan organ hepar sedangkan sisa sampel yang tidak terpakai dikremasi.

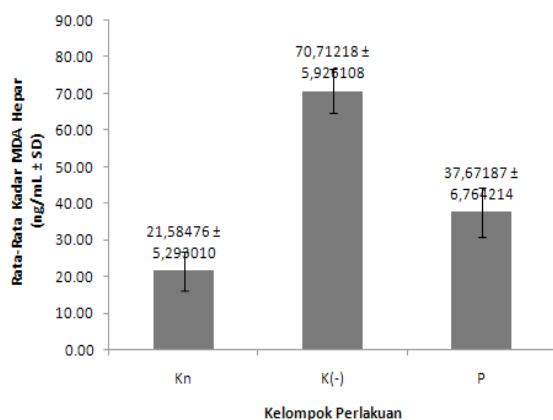
Serbuk Na CMC didapatkan dari Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember. Na CMC 1% dibuat dengan menggunakan serbuk Na CMC yang dilarutkan dalam akuades hangat. 1% didapatkan dari 1 gram serbuk Na CMC dalam akuades hangat 100 ml. Cuka apel 'A' yang digunakan adalah 'T' yang didapat dari salah satu apotek di Jember dengan dosis 0,4ml/150gBB/hari diberikan pada kelompok P selama 14 hari. Dosis tersebut diperoleh dari penelitian Zubaidah (2011) tentang antioksidan dalam menurunkan gula darah tikus wistar. Dosis cuka apel 'A'

menyesuaikan dengan berat badan tikus yang ditimbang setiap minggunya. Parasetamol dosis toksik didapat dari  $\frac{3}{4}$  LD50 parasetamol tikus wistar. LD50 parasetamol tikus wistar adalah 1944mg/kgBB sehingga  $\frac{3}{4}$  LD50nya adalah 291,6mg/200gBB tikus. Sediaan kaplet parasetamol 500 mg dilarutkan dalam 4ml Na CMC 1% dan dosis dalam bentuk ml parasetamol larut dalam Na CMC 1% juga menyesuaikan dengan berat badan tikus.

Pengukuran kadar MDA hepar dengan metode ELISA kompetitif menggunakan kit MDA ELISA merek *Elabscience*. Hepar yang sudah diambil ditimbang sebanyak 0,5 gram, dipotong kecil-kecil, dicuci dengan PBS dingin pH 7,4 sampai bersih dari darah, kemudian dimasukkan ke eppendorf dengan ditambah cairan PBS sama banyak. Kemudian divorteks agar terbentuk homogenat, disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit untuk mendapat supernatan. Supernatan inilah yang digunakan sebagai sampel dalam pengukuran menggunakan kit MDA ELISA dan dibaca absorbansinya menggunakan ELISA *plate reader* dengan panjang gelombang 450 nm. Absorbansi dimasukkan ke dalam rumus kurva standar dan kadar MDA dinyatakan dalam satuan ng/ml. Analisis data yang digunakan adalah *One Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan kadar MDA hepar antar kelompok ( $p < 0,05$ ) dan dilanjutkan dengan uji *Post hoc* yaitu LSD untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ).

### Hasil Penelitian

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar MDA hepar kelompok Kn sebesar 21,58 ng/ml, K(-) 70,71 ng/ml, dan P 37,67 ng/ml.



**Gambar 1.** Histogram hasil rata-rata kadar MDA hepar ± standar deviasi

Hasil analisis data menunjukkan distribusi data normal, varians data homogen sehingga diuji dengan *One Way ANOVA* dan hasilnya terdapat perbedaan signifikan antar kelompok, begitu juga dengan *Post hoc* LSD ( $p < 0,05$ )

### Pembahasan

Parasetamol dosis toksik dimetabolisme di hepar oleh sitokrom P-450 menjadi radikal bebas NAPQI yang jumlahnya berlebihan sehingga cenderung berikatan dengan komponen sel yaitu asam lemak tidak jenuh membran sel dan terjadi peroksidasi lipid sehingga menimbulkan kenaikan kadar MDA [4,8].

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar MDA hepar pada kelompok Kn sebesar 21,58 ng/ml. Induksi parasetamol dosis toksik sebesar 291,6 mg/200gBB tikus pada hari ke-12,13,14 memperlihatkan adanya peningkatan rata-rata kadar MDA hepar pada kelompok K(-) menjadi 70,71 ng/ml. Nilai signifikansi antara kelompok Kn dan kelompok K(-) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $p < 0,001$ ). Dari uraian di atas, induksi parasetamol dosis toksik dapat menyebabkan peningkatan kadar MDA hepar secara signifikan karena radikal bebas yaitu NAPQI akibat parasetamol dosis toksik. Parasetamol dimetabolisme oleh hepar melalui jalur sitokrom P-450 menjadi NAPQI. Radikal bebas NAPQI ini apabila dosis terapi masih bisa dikonjugasi oleh GSH menjadi produk yang tidak reaktif. Namun akibat parasetamol dosis toksik yang diberikan selama 3 hari terbentuk NAPQI yang berlebih karena kemampuan GSH yang tidak mencukupi untuk mengubahnya menjadi produk tidak reaktif. Sehingga NAPQI ini mengakibatkan pembentukan radikal reaktif. Radikal tersebut bereaksi dengan asam lemak tidak jenuh ganda pada membran sel hepar sehingga menghasilkan peroksidasi lipid yang selanjutnya akan mengubah struktur dan fungsi membran sel berupa meningkatnya permeabilitas membran hingga kerusakan sel. Reaksi peroksidasi lipid membran sel hepar akan meningkatkan produksi senyawa MDA (Malondialdehid) dalam sel hepar [4].

Kelompok P dosis 0,4 ml/150gBB apabila dibandingkan dengan kelompok K(-) memiliki perbedaan yang signifikan (nilai  $p < 0,001$ ). Pemberian cuka apel 'T' dengan dosis 0,4 ml/150gBB memperlihatkan adanya pengaruh berupa penurunan kadar MDA hepar yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok

K(-). Tikus yang diberikan cuka apel Tahesta dengan dosis 0,4 ml/150gBB memiliki rata-rata kadar MDA hepar sebesar 37,67 ng/ml. Data tersebut menunjukkan bahwa cuka apel Tahesta dengan dosis di atas mampu mencegah peningkatan kadar MDA hepar tikus wistar yang diinduksi parasetamol dosis toksik secara signifikan. Hal ini disebabkan cuka apel Tahesta mengandung apel 'A'. Cuka buah apel mempunyai komponen antioksidan berupa antosianin dan asam asetat sebagai antioksidan [18]. Antosianin yang mampu memberikan donor atom hidrogen atau elektron pada radikal bebas NAPQI menjadi radikal stabil dan tidak reaktif sehingga proses peroksidasi lipid dapat dikurangi dan produksi MDA menjadi rendah. Komponen antosianin tersebut dapat dimanfaatkan sebagai hepatoprotektor untuk mencegah peningkatan kadar MDA hepar yang diakibatkan oleh radikal bebas NAPQI dari parasetamol yang dapat menyebabkan kerusakan sel-sel hepar [19]. Komponen yang kedua adalah asam asetat murni dari hasil fermentasi cuka apel dapat memperbaiki ezim hepar dengan menaikkan kadar GSH sehingga membantu mengubah NAPQI yang sudah menumpuk akibat parasetamol dosis toksik menjadi produk non reaktif. Selain kedua komponen utama di atas, vitamin C dan karoten juga berperan sebagai antioksidan yang mampu menurunkan kadar MDA hepar [23]. Dosis 0,4 ml/150gBB tikus ini juga dapat dibuktikan dari penelitian cuka apel Tahesta sebagai antioksidan yang mampu menurunkan kadar gula darah [18].

Kelompok P dosis 0,4 ml/150gBB apabila dibandingkan dengan kelompok Kn berbeda signifikan ( $p < 0,001$ ). Rata-rata kadar MDA hepar kelompok Kn dan kelompok P secara berturut-turut yaitu 21,58 ng/ml dan 37,67 ng/ml. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian cuka apel Tahesta dosis 0,4 ml/150gBB mencegah peningkatan kadar MDA hepar namun belum sampai batas normal jika dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Hal tersebut dikarenakan pada kelompok P menggunakan dosis pada penelitian terdahulu berupa antioksidan tetapi dengan induktor oksidan yang berbeda. Dari data-data di atas, diketahui bahwa cuka apel Anna memiliki pengaruh menurunkan kadar MDA hepar tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

## Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian, terdapat pengaruh pemberian cuka apel 'A' terhadap kadar MDA hepar tikus wistar yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

Saran ke depan perlu penelitian lebih lanjut mengenai dosis efektif cuka apel 'A' untuk mencegah kenaikan kadar MDA hepar akibat induksi parasetamol dosis toksik, cuka apel 'A' dalam bentuk sediaan selain cair misalnya kapsul sehingga memudahkan perhitungan dosis dalam bentuk mg/kgBB, dan pemanfaatan cuka apel 'A' terhadap organ ginjal dengan induksi  $CCl_4$ .

## Daftar Pustaka

- [1] Gunawan SG. Farmakologi dan Terapi. Ed 5. Jakarta: Balai Penerbit FK UI; 2011.
- [2] Riset Kesehatan Dasar. Indonesia: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2010.
- [3] Fessenden RJ, Fessenden JS. Kimia Organik. Jakarta: Erlangga; 2006.
- [4] Bunchorntavakul C, Reddy KR. Acetaminophen-Related Hepatotoxicity. J Clin Liver Dis. 2013; 17: 587-607.
- [5] Firth JD, Baker EH. Medical Masterclass Scientific Background to Medicine 2. London: Royal College of Physicians; 2008.
- [6] Guyton Hall. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Ed 11. Jakarta: EGC; 2007.
- [7] Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. Biokimia Harper. Ed 27. Jakarta: EGC; 2009.
- [8] Winarsi H. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Yogyakarta: Kanisius; 2007.
- [9] Fisher K, Vuppalandhi R, Saxena R. Drug-Induced Liver Injury. Arch Pathol Lab Med. 2015; 139: 876-887.
- [10] Pandit A, Sachdeva T, Bafna P. Drug-Induced Hepatotoxicity: A Review. J of Applied Pharmaceutical Science. 2005; 02(05): 233-243.
- [11] Jetawattana S. Malondialdehyde (MDA), a Lipid Oxidation Product. The University of Iowa: Department of Radiation Oncology Free Radical and Radiation Biology; 2005.
- [12] Thompson M. Immunoanalysis-Part 2: Basic Principles of ELISA. Analytical Methods Committee. 2010; 45.
- [13] Swastika APA. Kadar Malondialdehid (MDA) Pada Abortus Inkomplit Lebih Tinggi Dibandingkan Dengan Kehamilan Normal.

- Denpasar: Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Udayana; 2013.
- [14] Pranowo D. Alternatif Penerapan Produksi Bersih di Industri Pengolahan Cuka Apel. Bogor: Institusi Pertanian Bogor; 2005.
- [15] Pranowo D. Kajian Kinerja Membran Ultrafiltrasi Untuk Penjernihan Cuka Apel. Bogor: Institusi Pertanian Bogor; 2006.
- [16] Aprilia D, Susanto WH. Pembuatan Sari Apel (*Malus sylvestris Mill*) dengan Ekstraksi Metode Osmosis (Kajian Varietas Apel dan Lama Osmosis). J Pangan dan Agroindustri. 2014; 1(2): 86-96.
- [17] Cuka Apel Tahesta [Internet]. [cited 8 September 2015]. Available from: <http://www.tahesta.com/cuka-apel/>
- [18] Zubaidah E. Pengaruh Pemberian Cuka Apel dan Cuka Salak terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar yang Diberi Diet Tinggi Gula. J Teknologi Pertanian. 2011; 2(13): 163-169.
- [19] Tsao R. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. J Nutrient. 2010; 2: 1231-1246.
- [20] Asyun. An Overview of Ascorbic Acid Biochemistry. J Fac Pharm Ankara. 2009; 38(3): 233-255.
- [21] Fiedor J, Burda K. Potential Role of Carotenoids as Antioxidants in Human Health and Disease. J Nutrients. 2014; 6: 466-488.
- [22] Radovanovic B, Radovanovic A. Free Radical Scavenging Activity and Anthocyanin Profile of Cabernet Sauvignon Wines from Balkan Region. J Molecules. 2010; 15: 4213-4226.
- [23] Mohammad, Yeap, Lim, Yusof, Beh, Tan, et al. Antioxidant Effects of Pineapple Vinegar in Reversing of Paracetamol Induced Liver Damage in Mice. Chinese Medicine. 2015; 10(3): 1-10.