

Pengaruh Pemberian *Thymoquinone* Terhadap Gambaran Histopatologi Jantung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* Yang Diinduksi Asap Rokok

Aliezza Esthi Kusuma¹, Susianti², Dwita Oktaria³

¹Mahasiswa, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Merokok merupakan salah satu faktor yang dapat menimbulkan penyakit kardiovaskular diantaranya penyakit jantung iskemik. Kerusakan pada jantung yang diakibatkan oleh merokok dapat diatasi dengan senyawa antioksidan. *Thymoquinone* merupakan salah satu antioksidan yang dapat digunakan untuk mengurangi kerusakan pada jantung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah *thymoquinone* memiliki pengaruh terhadap gambaran histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi asap rokok. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental jenis *post test only control group design* menggunakan 24 ekor tikus putih galur *Sprague dawley* yang dibagi ke dalam 4 kelompok. Kelompok kontrol (K) diberi diet normal, kelompok rokok (R) dipapar asap rokok 2 batang/hari, kelompok zaitun (Z) dipapar asap rokok dan minyak zaitun 0,5 ml, kelompok perlakuan (T) yang dipapar asap rokok dan diberikan *thymoquinone* dosis 5 mg/KgBB dalam waktu 14 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *thymoquinone* dosis 5 mg/KgBB dapat menurunkan derajat kerusakan miokardium dengan rerata skor 0,8. Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat pengaruh pemberian *thymoquinone* terhadap gambaran histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi asap rokok.

Kata kunci: asap rokok, histopatologi jantung, *thymoquinone*

The Effect Of *Thymoquinone* On Cardiac Histopathological Appearance Of *Sprague dawley* Strain White Rat (*Rattus norvegicus*) Induced By Cigarette

Abstract

Smoking is one of the factors that can cause cardiovascular disease including ischemic heart disease. The heart damage caused by smoking can be overcome with antioxidant compounds. *Thymoquinone* is one of the antioxidants that can be used to reduce damage of the heart. This study aims to determine whether *thymoquinone* has an influence on the cardiac histopathology of *Sprague dawley* rats induced by cigarette smoke (*Rattus norvegicus*). This research is an experimental research type *post test only control group design* using 24 *Sprague Dawley* strain white rats divided into 4 groups. Control group (K) was given a normal diet, cigarette group (R) exposed to cigarette smoke 2 cigarettes / day, olive group (Z) exposed to cigarette smoke and 0.5 ml olive oil, treatment group (T) exposed to cigarette smoke and given *thymoquinone* dose of 5 mg / KgBB within 14 days. The results showed that the *thymoquinone* dose of 5 mg / KgBB could reduce the degree of myocardial damage with a mean score of 0.8. The conclusion of this study is that there is an effect of the administration of *thymoquinone* on cardiac histopathology images of *Sprague dawley* rats induced by cigarette smoke.

Keywords: cigarette, heart histopathology, *thymoquinone*

Korespondensi: Aliezza Esthi Kusuma, alamat Jl. Cendana No 6, HP 082175646188, e-mail aliezzaesthi20@gmail.com

Pendahuluan

World Health Organization (WHO) menyatakan bahwa 30 % kasus kematian di dunia disebabkan oleh karena penyakit kardiovaskuler, yaitu sebanyak 17,5 juta penduduk di dunia pada tahun 2005. Dari jumlah kematian tersebut, serangan jantung menyumbang sebanyak 7,6 juta angka dan stroke sebanyak 5,7 juta. Sedangkan menurut data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada tahun 2013, penyakit jantung koroner dan

gagal jantung merupakan penyakit yang paling sering ditemui pada pasien dewasa.^{1,2}

Timbulnya berbagai macam penyakit kardiovaskuler dapat dibedakan menjadi dua faktor, yaitu faktor risiko yang tidak dapat diubah dan faktor risiko yang dapat diubah. Usia, jenis kelamin dan genetik merupakan faktor risiko terjadinya penyakit kardiovaskuler yang dapat diubah. Sedangkan untuk faktor risiko yang dapat diubah adalah faktor risiko yang berkaitan dengan gaya hidup seperti konsumsi makanan tinggi

kolesterol, tinggi gula, tinggi garam, stres, konsumsi alkohol serta perilaku merokok.¹

Merokok merupakan salah satu kegiatan dan faktor risiko terbesar dalam menyebabkan terjadinya penimbunan lipid pada endotel pembuluh darah sehingga dapat membentuk sumbatan dan mengganggu aliran peredaran darah normal. Hal ini dikarenakan pada rokok terkandung 3000-4000 senyawa yang sebagian besar bersifat toksik di dalam tubuh.^{1,3}

Secara umum, bahan kimia yang terdapat di dalam rokok dibagi menjadi 2 komponen, yaitu komponen gas (92%) dan komponen padat (8%). Komponen gas asap rokok diantaranya adalah karbonmonoksida, karbondioksida, hidrogen sianida, oksida, nitrogen dan senyawa hidrokarbon. Sementara kandungan kimia rokok dalam bentuk padat diantaranya tar, nikotin, benzantracene, benzopiren, cadmium, indol, karbazol dan kresol. Namun terdapat tiga kandungan rokok yang paling berbahaya yaitu nikotin, tar dan karbonmonoksida.⁴

Saat rokok dibakar, nikotin akan masuk ke dalam sistem pernapasan dan dengan segera diserap oleh paru-paru dan didistribusikan melalui aliran darah ke otak. Di otak nikotin akan segera berikatan dengan *nicotinic acetylcholine receptors* atau *nAChRs* yang akan menyebabkan otak menghasilkan berbagai *neurotransmitter* seperti asetilkolin, serotonin, epinefrin, dopamin dan norepinefrin yang mana mediator kimiawi ini akan mengaktivasi sistem saraf pusat dan sistem saraf simpatis sehingga akan menyebabkan vasokonstriksi dari pembuluh darah yang kemudian akan meningkatkan dan memperberat kerja jantung.^{3,5}

Tar merupakan komponen padat rokok yang terdiri atas berbagai macam bahan kimia yang bersifat karsinogenik dan mengandung banyak radikal bebas. Dalam keadaan dingin tar akan berubah menjadi suatu molekul berbentuk padat dan mengendap pada saluran napas dan paru-paru sehingga tar meningkatkan terjadinya risiko kanker.⁶

Komponen yang terakhir dan merupakan komponen yang paling berbahaya adalah karbonmonoksida. Karbonmonoksida dianggap sebagai komponen asap rokok yang paling berbahaya dikarenakan efek negatifnya pada sistem kardiovaskuler. Karbonmonoksida juga diketahui memiliki afinitas yang lebih

tinggi untuk berikatan dengan hemoglobin bila dibandingkan dengan oksigen. Banyaknya jumlah karbonmonoksida yang dihirup disertai dengan tingginya afinitas karbonmonoksida dengan oksigen tersebut akan menyebabkan lebih banyak terbentuknya karboksihemoglobin bila dibandingkan dengan oksihemoglobin dan akan menyebabkan rendahnya distribusi oksigen ke jaringan di dalam tubuh terutama organ-organ yang memiliki kebutuhan oksigen yang cukup tinggi salah satunya jantung. Rendahnya aliran oksigen pada jantung akan menyebabkan kondisi iskemi dan bila kondisi iskemi ini terus berlanjut maka akhirnya akan terjadi kerusakan pada otot jantung yang pada gambaran histopatologi menunjukkan gambaran nekrosis.⁴

Komponen gas dan komponen padat rokok juga dikenal dengan istilah *reactive oxygen species* (ROS) atau radikal bebas yang apabila jumlahnya berlebihan akan menimbulkan suatu keadaan yang dikenal dengan istilah stres oksidatif. Terjadinya keadaan stres oksidatif ini disebabkan karena sifat ROS yang sangat reaktif di dalam tubuh sehingga mampu memicu terjadinya perubahan pada berbagai molekul seperti DNA, protein dan lipid.⁷

Antioksidan adalah salah satu senyawa yang dapat menangkal atau mencegah terjadinya stres oksidatif. Antioksidan bersifat mudah dioksidasi oleh karena itu mencegah kerusakan molekul lain karena radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan sehingga kerusakan terhindari.⁸

Thymoquinone adalah salah satu kandungan aktif di dalam minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) yang telah diketahui memiliki efek antiinflamasi, antineoplastik, neuro dan hepatoprotektor. *Thymoquinone* sebagai kandungan senyawa utama dalam biji *Nigella sativa* atau di kenal sebagai jintan hitam merupakan antioksidan yang mampu mengurangi kerusakan dari sel-sel miokardium jantung. *Thymoquinone* akan meningkatkan produksi antioksidan endogen di dalam tubuh seperti *glutathion peroxidase*, *superoxide desmutase* dan *catalase*.^{9,10}

Peningkatan dari kadar antioksidan di dalam tubuh akan memiliki efek positif yaitu menekan pembentukan *reactive species oxygen* atau ROS sehingga akan menurunkan risiko ikatan antara radikal bebas dengan

membran lipid. Ketika jumlah radikal bebas yang berikatan dengan membran lipid berkurang secara otomatis mampu menurunkan terjadinya peroksidase lipid dan berakhir dengan menurunkan stres oksidatif.¹¹

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *thymoquinone* terhadap gambaran histopatologi miokardium yang diinduksi asap rokok.

Metode

Penelitian ini dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk proses pemeliharaan dan perlakuan, pembuatan preparat dan pengamatannya dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan selama dua bulan yaitu pada bulan November sampai dengan Desember 2018.

Bahan utama yang digunakan pada penelitian adalah *thymoquinone* yang diperoleh dari Sigma-Aldrich Singapura. Hewan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* umur 10-16 minggu yang diperoleh dari Palembang Tikus Center (PTC).

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, spuit, sonde lambung, *smoking box*, alat bedah minor, kandang tikus dan mikroskop cahaya.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan *true experimental post test only control group design*. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus putih yang dibagi ke dalam 3 kelompok kontrol dan 1 kelompok perlakuan. Kelompok K hanya diberi makan dan minum biasa tanpa perlakuan. Kelompok R diberi paparan asap rokok 2 batang/hari. Kelompok Z diberi paparan asap rokok 2 batang/hari dan 0,5 ml minyak zaitun. Kelompok T diberi paparan asap rokok 2 batang/hari diikuti dengan pemberian *thymoquinone* 5 mg/KgBB/hari. Pemberian perlakuan dilakukan selama 14 hari.

Pada hari ke 15, setelah pemberian perlakuan selama 14 hari tikus diterminasi. Setiap tikus pada tiap kelompok dianestesi terlebih dahulu dengan menggunakan *kloroform* dan kemudian diambil organ jantung untuk dibuat sediaan mikroskopis dengan metode paraffin dan pewarnaan

Hematoxylin-Eosin. Pembacaan preparat menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dan diinterpretasikan dalam bentuk skoring yang diamati dalam 5 lapang pandang. Derajat kerusakan yang di amati adalah miokardium dengan skor 0 bila tidak ada infiltrasi sel radang dan nekrosis, skor 1 bila terdapat infiltrasi sel radang dan skor 2 bila terdapat infiltrasi sel radang dan nekrosis.

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop diuji menggunakan program *Statistical Product and Service Solution (SPSS)*. Hasil penelitian dianalisis secara statistic dengan uji normalitas data *Saphiro-Wilk* kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas *Levene*. Karena syarat uji parametrik terpenuhi maka dilakukan Uji *One Way Anova*. Hipotesis dianggap bermakna jika $p < 0,05$ dan dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc LSD*.

Hasil

Dari hasil penelitian didapatkan rerata skor derajat histopatologi miokardium yang dapat dilihat pada Tabel 1. Setelah diperoleh rerata dari masing masing kelompok, selanjutnya dilakukan uji normalitas *Saphiro-Wilk* didapatkan $p > 0,05$. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Levene* untuk mengetahui homogenitas data dan didapatkan $p > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa syarat uji parametric telah terpenuhi sehingga dilakukan uji *One Way Anova* dan didapatkan $p = 0,000$ yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk melihat adanya perbedaan bermakna antar kelompok. Hasil uji *Post Hoc LSD* dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan uji *Post Hoc LSD* di tabel 2 didapatkan nilai $p < 0,05$ yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok menurut derajat kerusakan miokardium. Sedangkan pada uji *Post Hoc LSD* dengan $p > 0,05$ pada kelompok Z dan T menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok tersebut.

Tabel 1. Data Hasil Pengamatan Gambaran Histopatologi Miokardium

K	Sampel	Lapang Pandang					Total	Rata-rata
		1	2	3	4	5		
K	1	0	0	0	0	0	0	0,1
	2	0	0	1	0	0	0.2	
	3	0	0	0	0	0	0	
	4	2	0	0	0	0	0.4	
	5	0	0	0	0	0	0	
	6	0	0	0	0	0	0	
R	1	2	0	1	0	2	1	1,4
	2	0	2	2	2	2	1.6	
	3	2	2	0	2	2	1.6	
	4	2	2	0	2	2	1.6	
	5	2	0	1	2	0	1	
	6	2	2	2	0	2	1.6	
T	1	2	0	0	0	1	0.6	0,8
	2	2	0	0	0	0	0.4	
	3	1	2	0	0	2	1	
	4	2	1	0	1	0	0.8	
	5	2	1	0	2	0	1	
	6	2	0	0	2	1	1	
Z	1	2	0	2	0	0	0.8	0,77
	2	0	0	1	0	2	0.6	
	3	2	0	0	2	1	1	
	4	1	0	1	0	1	0.6	
	5	2	0	0	1	2	1	
	6	0	1	0	2	0	0.6	

Tabel 2. Hasil Analisis *Post Hoc* LSD

Kelompok	K1	K2	K3	P
K1		0,000	0,000	0,000
K2	0,000	-	0,000	0,000
K3	0,000	0,000	-	0,811
P	0,000	0,000	0,811	-

Keterangan: *bermakna yaitu nilai $p < 0,05$

Pembahasan

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis terhadap gambaran histopatologi jantung tikus putih didapatkan bahwa pada kelompok K yang hanya diberikan makan dan minum biasa memiliki rerata kerusakan yang paling rendah yaitu sebesar 0,1. Adanya kerusakan minimal yang ditemukan pada beberapa lapang pandang dapat disebabkan oleh karena kondisi stres yang dialami tikus akibat perubahan lingkungan yang terjadi selama proses penelitian karena kondisi stres diketahui dapat memicu peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS).^{12,13}

Pada kelompok R yang dipapar asap rokok 2 batang/hari selama 14 hari memiliki rerata kerusakan sebesar 1,4 dan menunjukkan derajat kerusakan yang paling parah bila dibandingkan dengan kelompok lain yang ditunjukkan dengan adanya gambaran infiltrasi sel radang dan nekrosis pada hampir setiap lapang pandang masing-masing sampel. Hal ini sejalan dengan penelitian (Palyoga *et al.*, 2012) yang membuktikan bahwa pemberian 2 batang asap rokok/hari selama 14 hari mampu memicu terjadinya infiltrasi sel radang dan nekrosis pada miokardium.

Asap rokok menyebabkan kerusakan pada miokardium melalui berbagai mekanisme diantaranya yaitu stres oksidatif, peroksidasi lipid dan disfungsi endotel. Merokok dapat mengeluarkan berbagai sitokin proinflamasi diantaranya *Interleukin-6* dan *tumor necrosis factor-alfa* (TNF- α) yang akan memicu terjadinya migrasi dari sel-sel radang. Selain menghasilkan mediator inflamasi, merokok juga dapat memicu tubuh untuk menghasilkan molekul adhesi berupa *vasculer cellular adhesion molecule-1* (VCAM-1), *inter cellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) serta *e-selectin* yang kemudian akan memudahkan ikatan antara radikal bebas dengan endotel pembuluh darah sehingga menyebabkan kerusakan pada permukaan endotel. Radikal bebas juga dapat mengakibatkan terjadinya modifikasi LDL yang akan difagosit oleh makrofag menjadi sel busa dan menumpuk pada permukaan endotel sehingga memicu kondisi aterosklerosis.^{4,15}

Radikal bebas yang berada di dalam tubuh bersifat sangat reaktif terutama terhadap molekul DNA, protein serta lipid. Hal ini disebabkan karena radikal bebas merupakan suatu elektron tidak berpasangan yang akan menarik elektron pada molekul lain sehingga menyebabkan rusaknya struktur pada molekul tersebut. Radikal bebas asap rokok juga memiliki afinitas yang lebih tinggi untuk berikatan dengan hemoglobin sehingga hal tersebut akan menyebabkan penurunan pasokan oksigen ke jantung dan akan memicu terjadinya keadaan nekrosis sel yang ditandai dengan perubahan pada inti berupa piknosis, karioreksis dan kariolisis.^{7,14}

Pada kelompok T yang dipapar asap rokok 2 batang/hari diikuti dengan pemberian *thymoquinone* dosis 5 mg/KgBB/ hari selama 14 hari memiliki rerata kerusakan yang lebih

rendah yaitu sebesar 0,8 dan memiliki gambaran histopatologi dengan kerusakan yang lebih ringan bila dibandingkan dengan kelompok R. Hal ini menunjukkan bahwa *thymoquinone* dosis 5 mg/KgBB dapat menghambat infiltrasi sel radang dan nekrosis yang terjadi pada miokardium. Hal ini sejalan dengan penelitian (Alam *et al.*, 2018) yang membuktikan bahwa pemberian *thymoquinone* pada kerusakan miokardium dapat meningkatkan enzim antioksidan seperti *catalase* (CAT), *superoxide desmutase* (SOD), *glutathion peroxidase* (GPx), *glutathion reductase* (GR) dan *glutathion-S-transferase* (GST) yang akan berikatan dengan ROS sehingga akan mengubah ROS menjadi bentuk yang lebih stabil dan mencegah terjadinya stres oksidatif.

Thymoquinone juga telah terbukti dapat meningkatkan kadar HDL dan menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL, *malonylaldehyde* (MDA), *myeloperoxidase* (MPO), *nitric oxide* (NO) dan *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS) yang akan berdampak positif terhadap penurunan peroksidasi lipid dan disfungsi endotel. Sebagai agen anti-inflamator *thymoquinone* juga bermanfaat dalam menghambat dihasilkannya enzim siklooksigenase, lipooksigenase serta sitokin pro inflamasi *IL-1 β* , *IL-2*, *IL-6* dan *TNF- α* sehingga dapat meminimalisir infiltrasi sel radang serta nekrosis pada miokardium.¹⁷

Pada kelompok Z yang dipapar asap rokok 2 batang/hari diikuti pemberian 0,5 ml minyak zaitun selama 14 hari memiliki rerata kerusakan yaitu sebesar 0,77. Berdasarkan hasil rerata serta gambaran histopatologi yang terjadi lebih ringan bila dibandingkan dengan kelompok T. Hal ini bertentangan dengan penelitian (Meiliana, 2017) yang membuktikan bahwa minyak zaitun dosis 1 cc/KgBB tidak cukup berperan dalam memperbaiki struktur pada kerusakan paru-paru. Efek yang lebih rendah pada kelompok Z dapat dipengaruhi oleh konsumsi dari antioksidan yang berlebihan. Kelebihan antioksidan justru bersifat sebagai sebagai prooksidan yang mampu mengganggu keseimbangan proses oksidasi dan antioksidan. Ketika pada dosis rendah pemberian senyawa antioksidan alami diketahui mampu bertindak sebagai antioksidan dan agen antiinflamasi namun sebaliknya pada dosis tinggi dapat bertindak

sebagai agen proinflamasi dengan mengeluarkan mediator inflamasi seperti IL-8 dan TNF- α .¹⁸

Simpulan

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian *thymoquinone* terhadap gambaran histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi asap rokok.

Daftar Pustaka

1. Handayani DP, Tarmali A, Widyawati SA. Hubungan antara kebiasaan merokok dengan kejadian penyakit jantung koroner pada pasien yang berkunjung ke poli penyakit dalam di RSUD Ungaran Kabupaten Semarang. 2013; 38:1-8.
2. Riskesdas. Prevalensi penyakit jantung koroner, gagal jantung dan stroke pada umur ≥ 15 tahun menurut karakteristik. Kemenkes RI; 2013. [Diakses: 25 Desember2017]. Tersedia dari:<http://www.depkes.go.id/resources/download/general/Hasil%20Riskesdas%202013.pdf>
3. Fitria, Triandhini RINKR, Mangimbulude JC, Karwur FF. Merokok dan oksidasi DNA. Sains Medika. 2013; 5(2):113-20.
4. Rahmawati RN. Pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis (*garcinia mangostana*) terhadap gambaran jumlah eritrosit, leukosit, hemoglobin (hb) dan gambaran histologik jantung mencit (*mus musculus*) yang terpapar asap rokok. Jurnal Biologi. 2016; 5(8):69-78.
5. Liem A. Pengaruh nikotin terhadap aktivitas dan fungsi otak serta hubungannya dengan gangguan psikologis pada pecandu rokok. Buletin Psikologi. 2010; 18(2):37-50.
6. Kusuma ARP. Pengaruh merokok terhadap kesehatan gigi dan rongga mulut. Semarang: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung. 2017.
7. Susantiningsih T. Obesitas dan stres oksidatif. Jurnal Kedokteran Unila. 2015; 5(9) : 1-7.
8. Werdhasari A. Peran antioksidan bagi kesehatan. Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Balitbangkes Kemenkes RI. 2014; 3(2):59-68.
9. Staniek K, Gille L. Is thymoquinone an

- antioxidant?. BMC Pharmacology. 2010; 10(Suppl 1): A9.
10. Randhawa MA, Alghamdi MS, Maulik SK. The effect of thymoquinone, an active component of *nigella sativa*, on isoproterenol induced myocardial injury. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 2013; 26(6):1215-19.
 11. Ebru U, Burak U, Yusuf S, Reyhan B, Arif K, Faruk TH. Cardioprotective effects of *nigella sativa* oil on cyclosporine a-induced cardiotoxicity in rats. Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology. 2008; 103(6):574-80.
 12. Bouayed J, Bohn T. Exogenous antioxidants-double-edged swords in cellular redox state health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2010; 3(4):228-37.
 13. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S *et al.* Oxidative stress, prooxidants and antioxidants: the interplay. BioMed Research International. 2014.
 14. Palyoga H, Aulanni'am, Wuragil DK. Pengaruh pemberian ekstrak biji anggur (*vitis vinifera*) terhadap ekspresi tumor nekrosis faktor alfa (TNF- α) dan gambaran histopatologi jantung pada hewan model tikus putih (*rattus norvegicus*) yang diberi paparan asap rokok. Malang: Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. 2012; 4(3).
 15. Papathanasiou G, Mamali A, Papafloratos S, Zerva E. Effects of smoking on cardiovascular function. The Role of Nicotine and Carbon Monoxide. 2014; 8(2):274-90.
 16. Alam MF, Khan G, Safhi MM, Alshahrani S, Siddiqui R, Moni SS *et al.* Thymoquinone ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity in swiss albino mice by modulating oxidative damage and cellular inflammation. Cardiology Research and Practice. 2018.
 17. Islam TM, Sultana N, Riaz TA, Ferdous J, Guha B, Mohagon S *et al.* Thymoquinone is knocking at the door of clinical trial. International Archives of Medicine. 2016; 9(122).
 18. Meiliana. Extra virgin olive oil menurunkan kadar MDA (malondialdehyde) ada tikus (*rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang dipapar asap rokok. Intisari Sains Medis. 2017; 8(2):97-101.