

PEMBERIAN KOMBINASI THYMOQUINONE DAN MADECASSOSIDE MENURUNKAN PERSENTASE APOPTOSIS KARDIOMIOSIT DAN LUAS AREA INFILTRASI SEL RADANG PADA JANTUNG MENCIT YANG DIINDUKSI ROTENONE

Zulfa Hanun Nadhifa¹, Shinta Kusumawati^{2*}, Aris Rosidah³

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang, Malang, Indonesia.

Email : zulfahanunnadhifa@gmail.com

²Departemen Neurologi Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang, Malang, Indonesia.

*Korespondensi : Email : shinta@unisma.ac.id

³Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang, Malang, Indonesia.

Email : aris.rosidah@unisma.ac.id

ABSTRAK

Pendahuluan : Penyakit kardiovaskular merupakan penyebab kematian utama di dunia, seringkali patofisiologinya disebabkan oleh stress oksidatif dan peradangan pada jantung. Rotenone merupakan senyawa toksik yang diketahui dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada jantung. Thymoquinone (TQ), dari *Nigella sativa*, dan Madecassoside (MA) dari *Centella asiatica*, memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi, namun efek kombinasi keduanya pada jantung belum sepenuhnya dipahami.

Metode : Penelitian menggunakan *true experimental post-test only design* yang dilakukan pada mencit swiss jantan. Mencit dibagi menjadi 8 kelompok : kontrol negatif (KN), 7 kelompok dengan pemberian Rotenone, Kontrol Positif (KP) dengan pemberian Rotenone (RT) tunggal (2,5mg/kg SC), RT + Thymoquinone (15 mg/kg oral), RT + Madecassoside (15 mg/kg oral), RT + 3 kelompok kombinasi TQ-MA (TQ 7.5, 10, 15 mg/kg + MA 15 mg/kg), dan RT + Pramipexole (1 mg/kg oral). Perlakuan diberikan selama 20 hari. Persentase apoptosis kardiomyosit dan luas area infiltrasi sel radang pada jantung dihitung dengan pewarnaan Hematoxylin-eosin dan menggunakan aplikasi ImageJ. Data dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis diikuti uji post hoc Mann Whitney.

Hasil : Hasil analisis persentase apoptosis kardiomyosit menunjukkan hasil yang signifikan $p=0,007$ ($p<0,05$), Rotenone secara signifikan meningkatkan apoptosis dibandingkan kelompok kontrol negatif. Penurunan signifikan ditemukan pada kelompok kombinasi dan Pramipexole dibandingkan kelompok Rotenone. Analisis area infiltrasi sel radang juga menunjukkan perbedaan hasil yang signifikan $p=0,010$ ($p<0,05$), dengan peningkatan area pada kelompok Rotenone dibandingkan kontrol negatif. Hasil juga menunjukkan penurunan signifikan kelompok kombinasi dan Pramipexole dibandingkan kelompok Rotenone.

Kesimpulan : Kombinasi Thymoquinone dan Madecassoside dapat menurunkan persentase apoptosis kardiomyosit dan luas area infiltrasi sel radang pada jantung mencit yang diinduksi Rotenone.

Kata Kunci : Kardiovaskular; Histopatologi; Madecassoside; Rotenone; Thymoquinone.



ABSTRACT

Introduction : Cardiovascular disease is the leading cause of death globally, often driven by oxidative stress and inflammation in cardiac. Rotenone is a toxic compound known to induce oxidative damage in cardiac tissue. Thymoquinone (TQ), from *Nigella sativa*, and Madecassoside (MA), from *Centella asiatica*, possess antioxidant and anti-inflammatory properties, but their combined effect on cardiac tissue is not well established.

Methods : A true experimental post-test only control design was conducted in male Swiss mice. Mice divided into 8 groups : negative control (NC), 7 groups with Rotenone administration, positive control (PC) with Rotenone-only (2.5 mg/kg SC), RT + Thymoquinone (15 mg/kg oral), RT + Madecassoside (15 mg/kg oral), RT + three combinations of TQ-MA (TQ 7.5, 10, 15 mg/kg + MA 15 mg/kg), and RT + Pramipexole (1 mg/kg oral). Treatments were administered for 20 days. Cardiac histology was assessed by measuring cardiomyocyte apoptosis percentage and inflammatory cell infiltration areas using hematoxylin-eosin staining and ImageJ. Data were analyzed using Kruskal-Wallis followed by post-hoc test Mann Whitney.

Result : The results of the analysis of the percentage of cardiomyocyte apoptosis showed significant results $p = 0.007$ ($p < 0.05$), Rotenone significantly increased apoptosis compared to the negative control group. A significant decrease was found in the combination group and Pramipexole compared to the Rotenone group. Analysis of the inflammatory cell infiltration area also showed significant results $p = 0.010$ ($p < 0.05$), with an increase in the area in the Rotenone group compared to the negative control. The results also showed a significant decrease in the combination group and Pramipexole compared to the Rotenone group.

Conclusion : The combination of Thymoquinone and Madecassoside can reduce the percentage of cardiomyocyte apoptosis and the area of inflammatory cell infiltration in the hearts of Rotenone-induced mice.

Keywords : Cardiovascular, Histopathology, Madecassoside, Rotenone, Thymoquinone.

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskular merupakan salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia. Menurut *World Health Organization* (WHO), penyakit ini menyebabkan sekitar 17,9 juta kematian di setiap tahun. *Institute for Health Metrics and Evaluation* (IHME) mencatat adanya 651.481 kematian akibat penyakit kardiovaskular pada tahun 2019 di Indonesia. Selain itu, Survei Kesehatan Indonesia (SKI) mencatat adanya 877.531 kasus gagal jantung pada tahun 2023. Gagal jantung dapat disebabkan beberapa faktor, salah satu faktor utamanya adalah stress oksidatif (Dubois-deruy et al., 2020). Stress oksidatif merupakan keadaan apabila jumlah *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang diproduksi lebih tinggi dibandingkan dengan kapasitas antioksidannya. Salah satu senyawa yang dapat ditemui di lingkungan dan terbukti dapat menyebabkan peningkatan jumlah ROS adalah Rotenone. Rotenone dapat ditemukan pada beberapa tanaman dan digunakan sebagai pestisida. Rotenone sendiri merupakan molekul lipofilik yang dapat

menghambat kompleks I rantai transpor elektron yang akan menyebabkan peningkatan ROS pada mitokondria. Pada jantung, Rotenone dapat menyebabkan gangguan autofagi, apoptosis sel, dan peradangan pada kardiomyosit (Sharma et al., 2022).

Pengobatan terkait penyakit kardiovaskular dapat dengan penggunaan obat modern, obat herbal, atau kombinasi keduanya. Penggunaan obat-obatan herbal saat ini semakin diminati oleh masyarakat, karena obat herbal dianggap memiliki efek samping yang lebih minimal dibandingkan efek samping dari obat-obatan sintesis (Yuwanda et al., 2025). Beberapa contoh senyawa tanaman herbal yang digunakan untuk penyakit kardiovaskular biasanya memiliki efek sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan beberapa efek lainnya yang menargetkan jalur patogenesis penyakit (Wal et al., 2024).

Thymoquinone (TQ) merupakan salah satu senyawa aktif dari minyak biji tanaman jinten hitam (*Nigella sativa*) yang memiliki banyak manfaat, salah satunya diketahui dapat memberikan efek perlindungan pada sistem kardiovaskular (Xiao et al., 2018). Pemberian TQ sebelum Isoproterenol (ISO) dapat menurunkan kadar sitokin pro-inflamasi (IL-1 β , IL-6, dan TNF- α) pada jantung mencit, meningkatkan aktivitas autofagi, meningkatkan *Malondialdehid* (MDA), meningkatkan kadar GSH dan aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) (Farag et al., 2021a). Selain TQ, terdapat senyawa lain yang juga memiliki efek antioksidan dan antiinflamasi pada jantung, yaitu Madecassoside. Madecassoside (MA) merupakan salah satu senyawa aktif utama pada tanaman pegagan (*Centella asiatica*). MA dapat mengurangi produksi ROS dengan menurunkan MDA dan meningkatkan SOD pada mencit post-ischemia reperfusion miokard. Selain itu, MA dapat menurunkan apoptosis sel miokard, dan menghambat NF- κ B pada kardiomyosit mencit (Bian et al., 2008). MA sebagai antiinflamasi dapat menurunkan kadar TNF- α pada mencit yang diinduksi lipopolisakarida (Cao et al., 2010).

Hingga saat ini masih belum ditemukan adanya penelitian yang secara khusus mengkaji kombinasi senyawa Thymoquinone dan Madecassoside pada jantung yang diinduksi Rotenone. Senyawa Rotenone memiliki efek kardiotoxik, sedangkan senyawa Thymoquinone dan Madecassoside memiliki efek kardioprotektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengisi kekosongan dalam penelitian sebelumnya terkait potensi gabungan Thymoquinone dan Madecassoside, khususnya pada pengaruh yang ditimbulkan oleh pemberian Rotenone. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan baru mengenai interaksi antara Thymoquinone dan Madecassoside, serta dampaknya dengan pemberian Rotenone dalam model biologis yang diujikan. Penelitian ini juga diharapkan menjadi dasar untuk dapat mengembangkan terapi kombinasi obat-obatan herbal dengan senyawa alami yang lebih efektif, aman, dan terjangkau.

METODE PENELITIAN

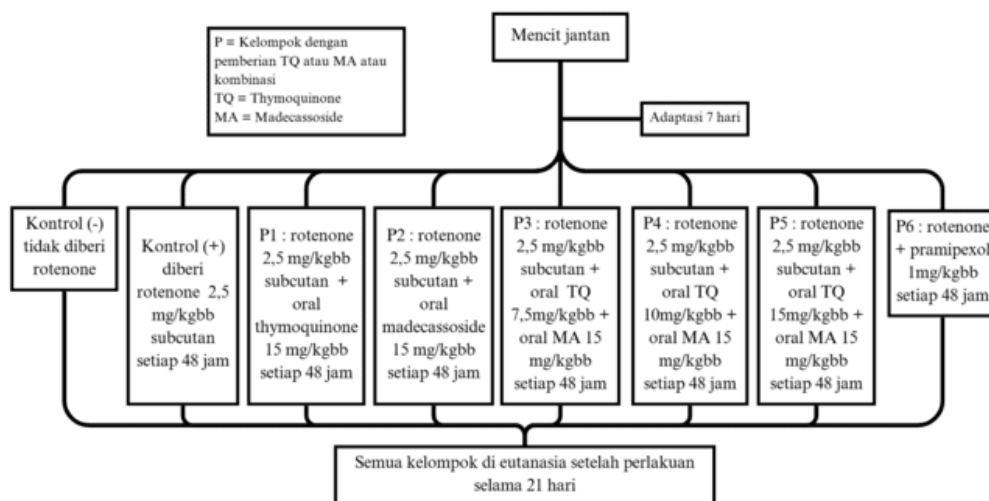


Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true eksperimental (post test only control design)* yang dilakukan secara *in vivo*. Perlakuan pada penelitian dilakukan pada bulan Juni 2024 hingga Agustus 2024 di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan dilanjutkan di Laboratorium Pusat Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang untuk pengamatan histologi. Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Brawijaya Malang dengan nomor surat No. 100/UN10.F08.11.31/PP/2024.

Sampel dan Pengelompokan Hewan Coba

Penelitian ini akan menggunakan metode *simple random sampling* mencit Swiss dan terdiri dari 8 kelompok besar sampel, perhitungan menggunakan rumus Federer. Jumlah sampel setiap kelompok sebesar 3 ekor, dengan total 24 ekor. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah mencit Swiss dewasa jantan 8-10 minggu dengan berat badan 25-30 gr. Kriteria eksklusi penelitian adalah mencit sakit sebelum perlakuan. *Drop Out* penelitian adalah mencit yang mati saat perlakuan. Pada penelitian ini terbagi 8 kelompok antara lain:



Gambar 1. Pengelompokan Hewan Coba

Keterangan: Gambar 1 menunjukkan pembagian hewan coba dalam 8 kelompok (KN, KP, P1, P2, P3, P4, P5, P6).

Perhitungan Persentase Apoptosis Kardiomyosit dan Luas Area Infiltrasi Sel Radang pada Jantung

Pengamatan histologi jantung dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE) dengan perbesaran 400x. Pengamatan terdiri dari perhitungan persentase apoptosis kardiomyosit dan luas area infiltrasi sel radang pada jantung mencit.

Pengamatan dilakukan pada 5 lapang pandang oleh dua pengamat secara blind test, kemudian penghitungan sel menggunakan aplikasi ImageJ. Jumlah sel yang mengalami apoptosis dinyatakan dalam bentuk persentase terhadap total sel yang diamati (200 sel) pada setiap lapang pandang. Sedangkan untuk perhitungan luas area infiltrasi sel radang menggunakan "Freehand selections" pada ImageJ untuk menandai area yang diduga infiltrasi sel radang.

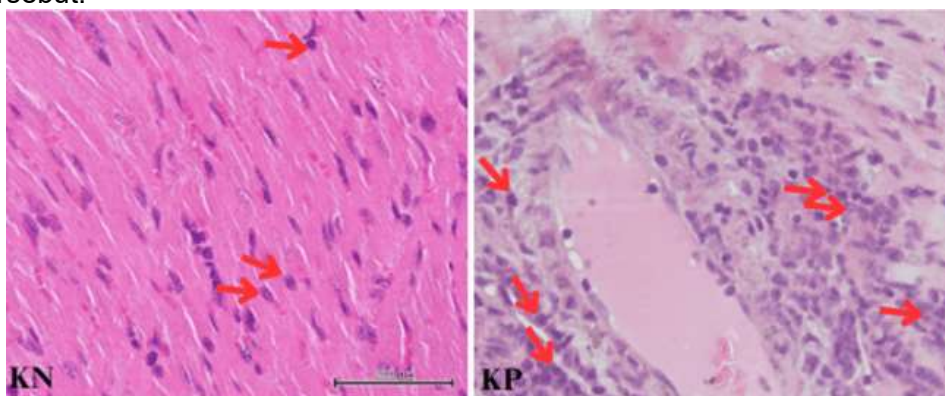
Analisis Data

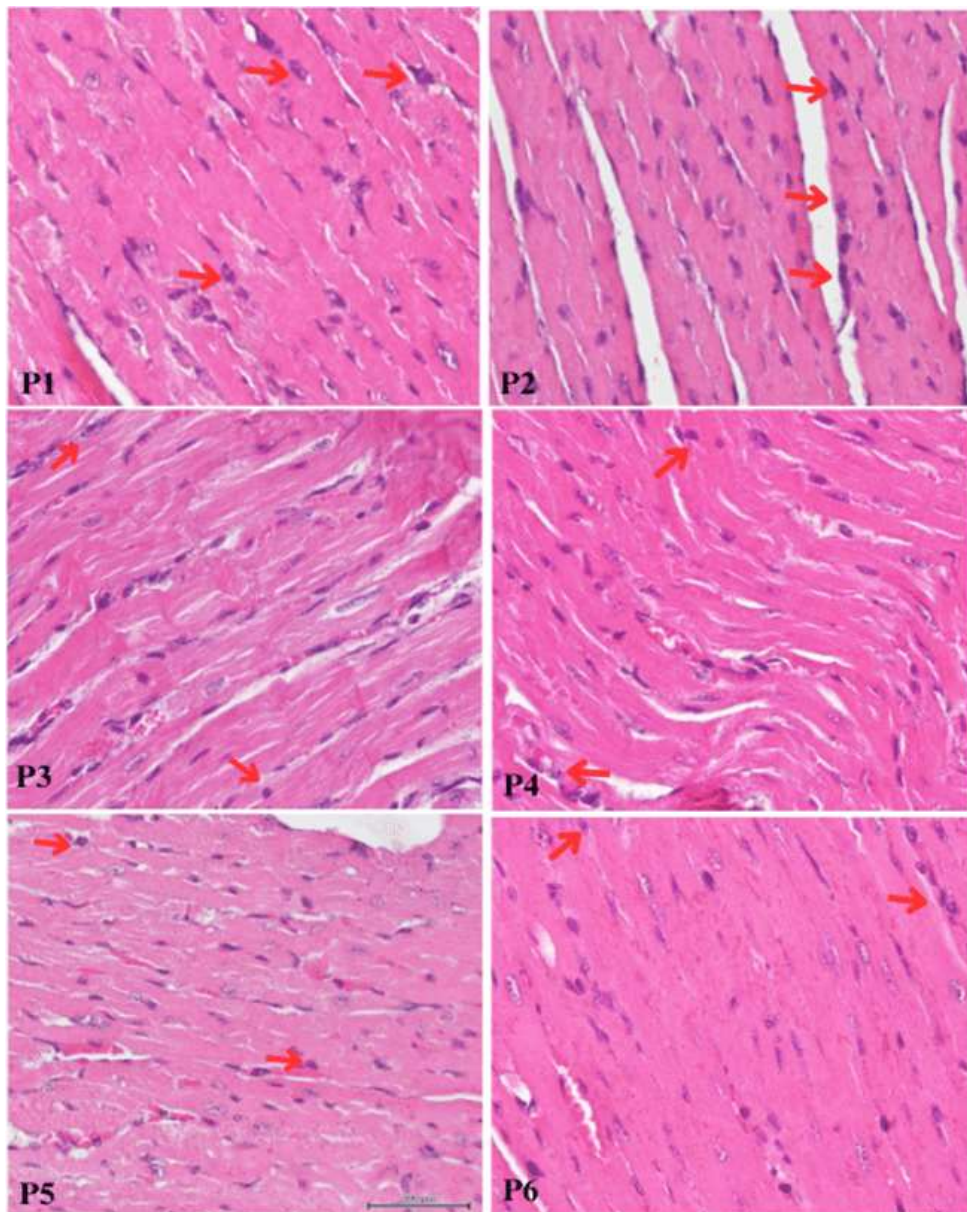
Data dinyatakan dalam bentuk mean dan standar deviasi. Data dianalisis menggunakan *Software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Data dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan *post hoc Mann Whitney*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Gambaran dan Analisa Histopatologi Apoptosis Kardiomiosit Jantung Mencit

Hasil gambaran histologi apoptosis kardiomiosit mencit dari 8 kelompok (KN, KP, P1, P2, P3, P4, P5, P6) ditunjukkan pada gambar 1. Kardiomiosit yang mengalami apoptosis ditandai dengan inti yang mengalami piknosis, *fragmented nuclei* (inti terpecah), dan adanya *apoptotic bodies* (Elmore, 2007). Pada hasil uji normalitas, data persentase apoptosis kardiomiosit menunjukkan adanya nilai $p < 0,05$, maka dikatakan data tidak normal, sehingga dilakukan uji statistik dengan Kruskal Wallis. Pada uji Kruskal Wallis didapatkan hasil $p = 0,007$ ($p < 0,05$), yang artinya terdapat perbedaan signifikan pada data tersebut.





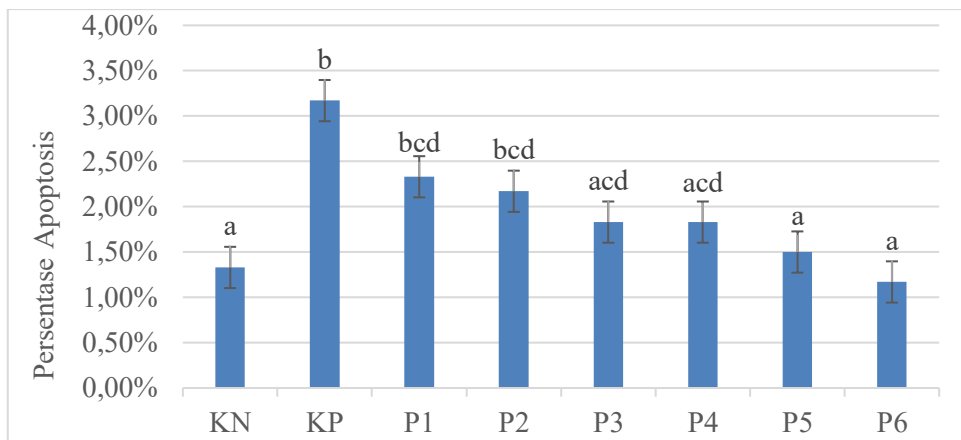
Gambar 2. Hasil Gambaran Histopatologi Jantung Mencit dengan Apoptosis Kardiomyosit (HE, 400x)

Keterangan: **Gambar 2** menunjukkan gambaran histopatologi jantung mencit dengan pewarnaan HE menggunakan perbesaran 400x. Terdapat 8 kelompok, yaitu Kontrol Negatif (KN), Kontrol Positif (KP), Perlakuan 1 (P1), Perlakuan 2 (P2), Perlakuan 3 (P3), Perlakuan 4 (P4), Perlakuan 5 (P5), Perlakuan 6 (P6). Pada gambar tersebut ditemukan adanya apoptosis kardiomyosit (panah berwarna merah).

Tabel 1. Reta-Rata Persentase Jumlah Apoptosis Kardiomiosit Mencit

Kelompok	n	Apoptosis Kardiomiosit (%)
		(Mean $\pm$ SD)
Kontrol Negatif (KN)	3	1,33 % $\pm$ 0,28 ^a
Kontrol Positif (KP)	3	3,17% $\pm$ 0,76 ^b
Perlakuan 1 (P1)	3	2,33% $\pm$ 0,28 ^{bcd}
Perlakuan 2 (P2)	3	2,17% $\pm$ 0,28 ^{bcd}
Perlakuan 3 (P3)	3	1,83% $\pm$ 0,28 ^{acd}
Perlakuan 4 (P4)	3	1,83% $\pm$ 0,28 ^{acd}
Perlakuan 5 (P5)	3	1,50% $\pm$ 0 ^a
Perlakuan 6 (P6)	3	1,17% $\pm$ 0,28 ^a

Keterangan: Tabel 1 menunjukkan hasil persentase kardiomiosit yang mengalami apoptosis pada jantung mencit pada 8 kelompok. Nilai yang ditunjukkan berupa jumlah sampel pada masing-masing kelompok (n) dan rata-rata $\pm$ standar deviasi (Mean $\pm$ SD). Hasil persentase diuji menggunakan uji Kruskal Wallis dan menunjukkan perbedaan yang signifikan $p=0,007$ ($p<0,05$). Dengan perbandingan signifikansi antar kelompok ditandai dengan simbol a, b, c, dan e.



Gambar 3. Grafik Rata-Rata Persentase Jumlah Apoptosis Kardiomiosit Mencit

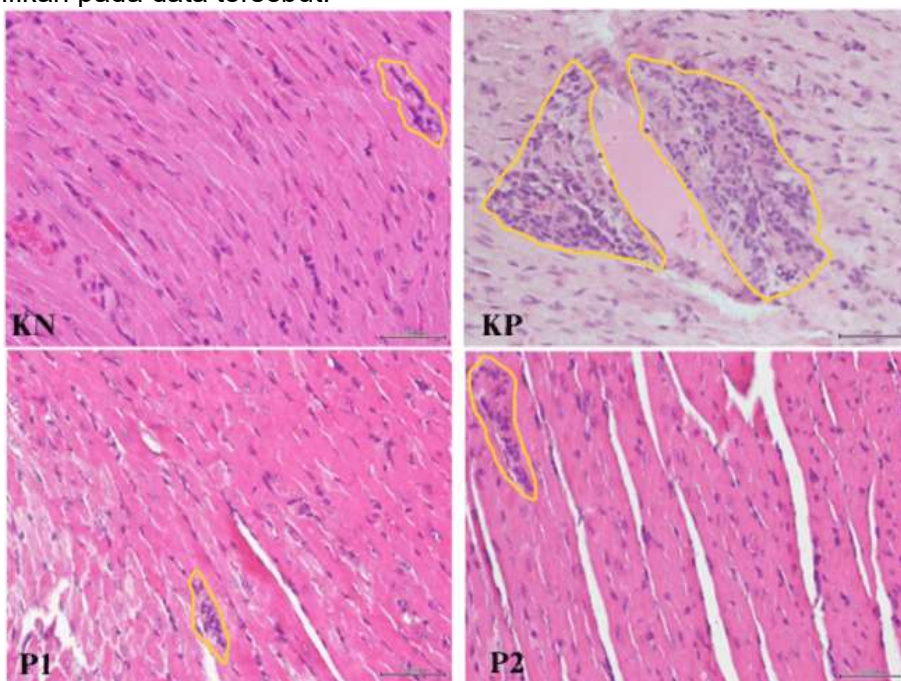
Keterangan: Gambar 3 menunjukkan grafik persentase kardiomiosit yang mengalami apoptosis pada 8 kelompok. Dengan garis standar deviasi dan perbandingan signifikansi antar kelompok ditandai dengan simbol a,b,c, dan d.

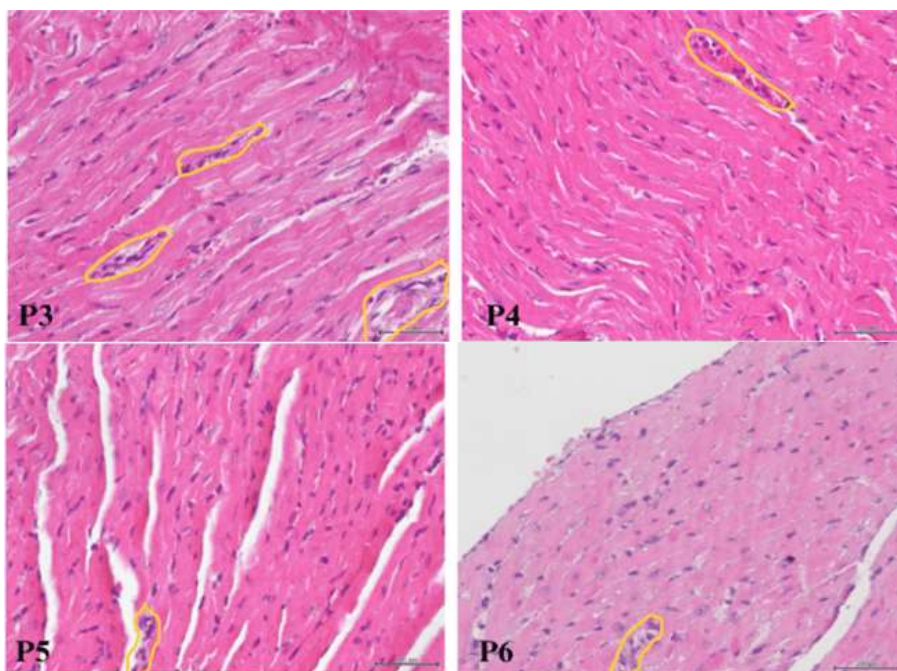
Berdasarkan hasil penelitian pada **Tabel 1** dan **Gambar 3** menunjukkan persentase jumlah apoptosis kardiomiosit tertinggi pada kelompok Kontrol Positif (KP). Berdasarkan hasil analisa data persentase apoptosis kardiomiosit terdapat perbedaan signifikan antara kelompok Rotenone dengan kontrol

negatif. Hasil analisa data persentase apoptosis kardiomyosit, kelompok dengan pemberian senyawa tunggal Thymoquinone dan senyawa tunggal Madecassoside tidak menunjukkan penurunan signifikan dengan kelompok Rotenone. Namun, terdapat perbedaan signifikan antara kelompok Rotenone dengan kelompok kombinasi dan kelompok Pramipexole. Dibandingkan pada kelompok dengan pemberian senyawa tunggal, kelompok kombinasi menunjukkan penurunan persentase apoptosis yang signifikan.

Hasil Gambaran dan Analisa Data Histopatologi Infiltrasi Sel Radang pada Jantung Mencit

Hasil gambaran histopatologi luas area infiltrasi sel radang pada jantung mencit dari 8 kelompok (KN, KP, P1, P2, P3, P4, P5, P6) ditunjukkan pada gambar 3. Area yang diamati dengan tanda dari infiltrasi sel radang berupa, kumpulan sel radang (sel bulat, bewarna lebih gelap dibandingkan kardiomyosit) dan tersusun tidak teratur. Pada hasil analisa uji normalitas, data area infiltrasi sel radang menunjukkan adanya nilai $p < 0,05$, maka dikatakan data tidak normal, sehingga dilakukan uji statistik dengan Kruskal Wallis. Pada uji Kruskal Wallis didapatkan hasil $p = 0,010$ ($p < 0,05$) yang artinya terdapat perbedaan signifikan pada data tersebut.





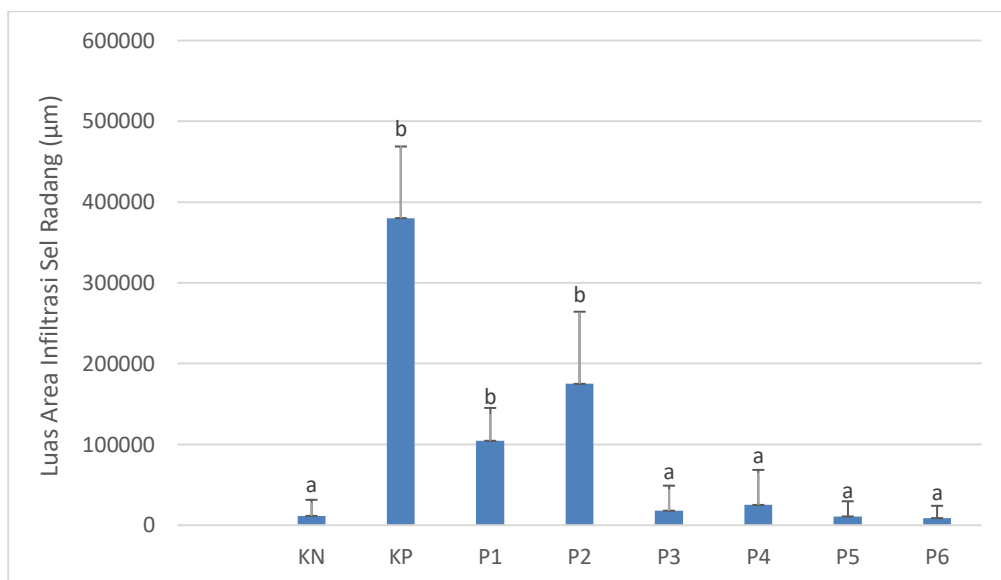
Gambar 4. Hasil Gambaran Histopatologi Jantung Mencit dengan Area Infiltrasi Sel Radang (HE, 400x)

Keterangan: Gambar 4 menunjukkan gambaran histopatologi jantung mencit dengan pewarnaan HE menggunakan perbesaran 400x. Terdapat 8 kelompok, yaitu Kontrol Negatif (KN), Kontrol Positif (KP), Perlakuan 1 (P1), Perlakuan 2 (P2), Perlakuan 3 (P3), Perlakuan 4 (P4), Perlakuan 5 (P5), Perlakuan 6 (P6). Pada gambar ditemukan adanya area infiltrasi sel radang (area dengan garis bewarna kuning).

Tabel 2. Rata-rata Luas Area Infiltrasi Sel Radang pada Jantung Mencit pada 8 Kelompok

Kelompok	n (sampel)	Luas Infiltrasi Sel Radang (μm^2)
		(Mean $\pm$ SD)
KN	3	11506 $\pm$ 19928 ^a
KP	3	380174 $\pm$ 88720 ^b
P1	3	104492 $\pm$ 40714 ^b
P2	3	175030 $\pm$ 89278 ^b
P3	3	17921 $\pm$ 31040 ^a
P4	3	25074 $\pm$ 43429 ^a
P5	3	10839 $\pm$ 18775 ^a
P6	3	8783 $\pm$ 15213 ^a

Keterangan: Tabel 2 menunjukkan rata-rata luas area infiltrasi sel radang pada jantung mencit pada 8 kelompok. Nilai yang ditunjukkan berupa jumlah sampel pada masing-masing kelompok (n) dan rata-rata $\pm$ standar deviasi (Mean $\pm$ SD). Data ini diuji menggunakan uji Kruskal Wallis dan menunjukkan perbedaan yang signifikan yaitu $p=0,010$ ($p<0,05$). Dengan perbandingan signifikansi antar kelompok ditandai dengan simbol a dan d.



Gambar 5. Grafik Rata-rata Luas Area Infiltrasi Sel Radang pada Jantung Mencit pada 8 Kelompok

Keterangan: Gambar 5 menunjukkan grafik rata-rata luas area infiltrasi sel radang pada jantung mencit dari 8 kelompok. Dengan garis standar deviasi (SD) dan perbandingan signifikansi antar kelompok ditandai dengan simbol a, dan d.

Berdasarkan hasil penelitian pada **Tabel 3** dan **Gambar 4** menunjukkan rata-rata luas area infiltrasi sel radang tertinggi pada kelompok Kontrol Positif (KP) yaitu $380.174 \mu\text{m}^2$, meningkat dibandingkan Kontrol negatif. Diketahui bahwa kelompok KN signifikan dengan KP, P1, dan P2. Kelompok KP signifikan dengan KN, P3, P5, dan P6, namun tidak signifikan dengan P4. Sedangkan untuk kelompok P1 dan P2 tidak signifikan dengan KP. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok Rotenone dapat meningkatkan luas area infiltrasi sel radang dan perlakuan dengan pemberian kombinasi Thymoquinone dan Madecassoside (P3,P4,P5), serta kelompok Pramipexole (P6) menunjukkan dapat menurunkan luas area infiltrasi sel radang dibandingkan kelompok KP (pemberian Rotenone).

PEMBAHASAN

Pengaruh Pemberian Rotenone Terhadap Apoptosis pada Kardiomyosit dan Peradangan pada Jantung Mencit

Pemberian Rotenone meningkatkan persentase apoptosis kardiomyosit dibandingkan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian Rotenone dapat menyebabkan stress oksidatif dengan menghambat kompleks I pada mitokondria, sehingga meningkatkan produksi superoksida dan menurunkan produksi ATP pada jantung mencit. Selanjutnya akan meningkatkan 4-HNE dan mengaktifkan jalur LKB1-AMPK-UK1 yang menyebabkan gangguan pada autofagi, sehingga mengalami penumpukan sel dan terjadi toksisitas. Pada hasil akhirnya akan menyebabkan apoptosis sel (Sharma et al., 2022). Selain itu, Rotenone juga menunjukkan dapat meningkatkan ekspresi Bax dan caspase3 yang dapat memicu proses apoptosis sel secara langsung (Chang et al., 2024).

Hasil analisa luas area infiltrasi sel radang pada jantung mencit juga menunjukkan bahwa kelompok Rotenone memiliki luas area tertinggi, serta menunjukkan hasil yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian Rotenone dapat meningkatkan luas area infiltrasi sel radang pada jantung mencit. Hal ini mendukung siklus antara stress oksidatif dengan peradangan. Tingginya ROS dapat menyebabkan kerusakan DNA, mengaktifkan NF- κ B dan enzim PARP-1. NF- κ B dan PARP-1 dapat menyebabkan peradangan dengan memicu ekspresi berbagai sitokin inflamasi, contohnya TNF- α dan TGF- β . TNF- α dapat menurunkan SOD dan glutathione yang merupakan antioksidan. Hal ini menyebabkan pembentukan ROS yang berlebih. Sehingga hubungan antara stress oksidatif dan peradangan menjadi siklus yang saling berikatan (Aimo et al., 2020).

Pengaruh Pemberian Thymoquinone Terhadap Apoptosis pada Kardiomyosit dan Peradangan pada Jantung Mencit

Berdasarkan hasil analisa data persentase apoptosis kardiomyosit dan luas area infiltrasi sel radang kelompok dengan pemberian Thymoquinone tunggal tidak menunjukkan penurunan signifikan dengan kelompok Rotenone. Hal ini diduga efek antioksidan dan antiapoptosis pemberian tunggal Thymoquinone belum cukup kuat untuk menurunkan persentase apoptosis kardiomyosit yang diinduksi Rotenone. Hal ini bisa disebabkan beberapa faktor, contohnya dosis pemberian TQ yang belum mencapai ambang efektivitas terapi yang optimal. Pada penelitian Farag et al (2021), pemberian TQ dapat menunjukkan efektivitas terapi pada jantung dengan dosis 20 dan 50 mg/kg/hari selama 21 hari. TQ menunjukkan efek antioksidan dengan menurunkan MDA, meningkatkan SOD dan GSH. Selain itu, TQ juga dapat menurunkan kadar sitokin pro-inflamasi, seperti IL-6 dan TNF- α pada jantung mencit yang

mengalami cedera miokard (Farang et al., 2021).

Pengaruh Pemberian Madecassoside Terhadap Apoptosis pada Kardiomyosit dan Peradangan pada Jantung Mencit

Berdasarkan hasil analisa data persentase apoptosis kardiomyosit dan luas area infiltrasi sel radang, kelompok dengan pemberian Madecassoside tunggal tidak menunjukkan penurunan signifikan dengan kelompok Rotenone. Hal ini diduga efek antioksidan dan antiapoptosis pemberian tunggal MA belum cukup kuat untuk menurunkan persentase apoptosis kardiomyosit yang diinduksi rotenone. Pada penelitian Cao et al. (2010) MA dapat menghambat aktivasi NF- κ B dan degradasi I κ B yang dapat menghambat terjadinya reaksi inflamasi. Selain itu, MA dapat menurunkan kadar TNF- α pada dosis 20 mg/kg (Cao et al., 2010). Selain itu pada penelitian Bian et al (2008) MA pada dosis 10 mg/kg dan 50 mg/kg dapat menurunkan MDA dan meningkatkan SOD, serta menurunkan sel dengan TUNEL positif (Bian et al., 2008).

Pengaruh Pemberian Kombinasi Thymoquinone dan Madecassoside Terhadap Apoptosis pada Kardiomyosit dan Peradangan pada Jantung Mencit

Pemberian kombinasi TQ dan MA menurunkan apoptosis kardiomyosit secara signifikan dibandingkan dengan kelompok Rotenone. Dibandingkan pada kelompok dengan pemberian senyawa tunggal, kelompok kombinasi menunjukkan penurunan persentase apoptosis yang lebih signifikan. Hasil ini diduga disebabkan efek sinergis antara TQ dan MA, yang keduanya diketahui memiliki aktivitas antioksidan, anti-apoptosis, dan anti-inflamasi yang berpengaruh terhadap apoptosis sel. Pada dosis yang tertinggi, yaitu TQ 15 mg/kg + MA 15 mg/kg menunjukkan hasil yang lebih signifikan dibandingkan dengan dosis yang lebih rendah. Thymoquinone dapat meningkatkan LC3 yang merupakan biomarker autofagi. TQ dapat menurunkan MDA yang merupakan biomarker stress oksidatif, meningkatkan aktivitas SOD dan kadar GSH sebagai antioksidan. Selain itu TQ dapat menurunkan caspase3 (Farang et al., 2021b; Xiao et al., 2018). Pemberian Madecassoside dapat menurunkan MDA dan meningkatkan SOD sebagai efek antioksidan. Selain itu, MA menunjukkan efek anti-apoptosis dengan penurunan sel dengan hasil TUNEL positif (Bian et al., 2008)

Kelompok kombinasi menunjukkan penurunan luas area infiltrasi sel radang yang signifikan dibandingkan dengan kelompok rotenone, kecuali kelompok dengan pemberian TQ10 + MA 15. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi TQ dan MA dapat menurunkan luas area infiltrasi sel radang pada jantung mencit yang diinduksi Rotenone lebih baik dibandingkan pemberian senyawa tunggal. Pada kelompok kombinasi dengan dosis tertinggi menunjukkan luas area infiltrasi sel inflamasi yang lebih rendah dibandingkan kelompok yang diberikan dosis lebih rendah. Namun, pada kelompok kombinasi

TQ 10mg/kg + MA 15 mg/kg luas area lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian TQ 7,5 mg/kg + MA 15 mg/kg. Kombinasi TQ dan MA juga terbukti sinergis dalam memperbaiki gangguan neurodegeneratif pada model tikus Parkinson yang diinduksi rotenone. Kombinasi TQ dan MA secara signifikan meningkatkan kadar dopamin di midbrain, menurunkan ekspresi α -synuclein, dan meningkatkan ekspresi mBDNF di korteks. Hal ini menunjukkan mekanisme protektif kombinasi TQ dan MA melalui aktivitas antioksidan, inflamasi dan neuroprotektif (Kusumawati et al., 2025).

Pengaruh Pemberian Pramipexole Terhadap Apoptosis pada Kardiomyosit dan Peradangan pada Jantung Mencit

Pemberian Pramipexole dapat menurunkan persentase apoptosis kardiomyosit yang diinduksi rotenone. Hal sejalan dengan penelitian Mo et al., (2016) yang menunjukkan bahwa pramipexole dapat meningkatkan proses autofagi. Sebagian besar dimediasi oleh aktivasi jalur AMPK, dengan peningkatan ekspresi LC3-II, Beclin-1, P62, dan LAMP-2 yang merupakan protein terkait autofagi dan degradasi autofagosom. Selain itu, pramipexole juga menurunkan produksi ROS yang ditandai dengan penurunan jumlah pada pewarnaan DCFH-DA (Mo et al., 2016). Stress oksidatif akibat peningkatan ROS dan respons inflamasi membentuk sebuah siklus yang saling berhubungan. Stress oksidatif dapat menyebabkan peradangan, begitu pula sebaliknya. Oleh karena itu, penurunan kadar ROS oleh pramipexole diduga berperan secara tidak langsung dalam menekan aktivasi respons inflamasi pada jantung.

KESIMPULAN

Pemberian rotenone terbukti dapat meningkatkan persentase apoptosis kardiomyosit dan peningkatan luas area infiltrasi sel radang pada jantung mencit. Hal ini diduga terjadi karena adanya peningkatan stress oksidatif dan reaksi peradangan yang disebabkan oleh rotenone. Perlakuan dengan pemberian senyawa tunggal Thymoquinone dan senyawa tunggal Madecassoside belum cukup kuat untuk menurunkan persentase apoptosis kardiomyosit dan luas infiltrasi area radang pada mencit yang diinduksi Rotenone. Hal ini diduga dosis atau durasi pemberian senyawa yang diberikan masih belum cukup efektif. Namun, perlakuan dengan pemberian kombinasi Thymoquinone dan Madecassoside dapat menurunkan persentase apoptosis dan luas area infiltrasi sel radang pada jantung mencit yang diinduksi Rotenone.

Saran

Berdasarkan data yang didapat, untuk meningkatkan dan mengembangkan penelitian ini lebih lanjut, maka disarankan :

1. Melakukan penelitian yang serupa, namun dengan menambahkan parameter biokimia seperti kadar SOD dan MDA, atau parameter stress oksidatif lainnya



dalam jaringan jantung untuk menguatkan hipotesis hubungan antara terjadinya stress oksidatif, apoptosis dan peradangan.

2. Melakukan penelitian serupa, namun dengan penambahan parameter biokimia seperti kadar TNF- α dan IL-6, atau parameter peradangan dalam jaringan jantung untuk menguatkan hipotesis hubungan antara terjadinya stress oksidatif, apoptosis dan peradangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang atas fasilitas yang telah diberikan. serta kepada dosen pembimbing yang telah memberikan arahan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aimo, A., Castiglione, V., Borrelli, C., Saccaro, L. F., Franzini, M., Masi, S., Emdin, M., & Giannoni, A. (2020). Oxidative stress and inflammation in the evolution of heart failure: From pathophysiology to therapeutic strategies. In *European Journal of Preventive Cardiology* (Vol. 27, Issue 5, pp. 494–510). SAGE Publications Inc. <https://doi.org/10.1177/2047487319870344>
- Bian, G.-X., Li, G.-G., Yang, Y., Liu, R.-T., Ren, J.-P., Wen, L.-Q., Guo, S.-M., & Lu, Q.-J. (2008). Madecassoside Reduces Ischemia-Reperfusion Injury on Regional Ischemia Induced Heart Infarction in Rat. In *Biol. Pharm. Bull* (Vol. 31, Issue 3).
- Cao, W., Li, X. Q., Zhang, X. N., Hou, Y., Zeng, A. G., Xie, Y. hua, & Wang, S. W. (2010). Madecassoside suppresses LPS-induced TNF- α production in cardiomyocytes through inhibition of ERK, p38, and NF- κ B activity. *International Immunopharmacology*, 10(7), 723–729. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.03.015>
- Chang, X., Li, Z., Tian, M., Deng, Z., Zhu, L., & Li, G. (2024). Rotenone activates the LKB1-AMPK-ULK1 signaling pathway to induce autophagy and apoptosis in rat thoracic aortic endothelial cells. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 25(1). <https://doi.org/10.1186/s40360-024-00755-5>
- Dubois-deruy, E., Peugnet, V., Turkieh, A., & Pinet, F. (2020). Oxidative stress in cardiovascular diseases. *Antioxidants*, 9(9), 1–15. <https://doi.org/10.3390/antiox9090864>
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. In *Toxicologic Pathology* (Vol. 35, Issue 4, pp. 495–516). <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
- Farag, M. M., Khalifa, A. A., Elhadidy, W. F., & Rashad, R. M. (2021a). Thymoquinone dose-dependently attenuates myocardial injury induced by isoproterenol in rats via integrated modulations of oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and fibrosis. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 394(8), 1787–1801. <https://doi.org/10.1007/s00210->

- Kusumawati, S., Endharti, A. T., Balafif, F., Kurniawan, S. N., Rosidah, A., Anaqah, R., Barqillah, I. A., & Khotimah, H. (2025). Thymoquinone and madecassoside improve motor function in a rotenone-induced mouse model of early Parkinson's disease: Role of dopamine, alpha-synuclein and mBDNF. *Narra J*, 5(2). <https://doi.org/10.52225/narra.v5i2.2439>
- Mo, Y., Tang, L., Ma, Y., & Wu, S. (2016). Pramipexole pretreatment attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury through upregulation of autophagy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 473(4), 1119–1124. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.04.026>
- Sharma, S., Patel, F., Ara, H., Bess, E., Shum, A., Bhattarai, S., Subedi, U., Bell, D. S., Bhuiyan, M. S., Sun, H., Batinic-Haberle, I., Panchatcharam, M., & Miriyala, S. (2022). Rotenone-Induced 4-HNE Aggresome Formation and Degradation in HL-1 Cardiomyocytes: Role of Autophagy Flux. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9). <https://doi.org/10.3390/ijms23094675>
- Wal, A., Verma, N., Balakrishnan, S. K., Gahlot, V., Dwivedi, S., Sahu, P. K., Tabish, M., & Wal, P. (2024). A Systematic Review of Herbal Interventions for the Management of Cardiovascular Diseases. *Current Cardiology Reviews*, 20(5). <https://doi.org/10.2174/011573403x286573240422104647>
- Xiao, J., Ke, Z. P., Shi, Y., Zeng, Q., & Cao, Z. (2018). The cardioprotective effect of thymoquinone on ischemia-reperfusion injury in isolated rat heart via regulation of apoptosis and autophagy. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(9), 7212–7217. <https://doi.org/10.1002/jcb.26878>
- Yuwanda, A., Budipratama Adina, A., Herli, A., Rachmat Zulkiefli, A., & Putri Hermawati, S. (2025). *Knowledge, Attitudes and Practices of Students Toward Herbal Medicine At Jakarta Global University* (Vol. 8, Issue 1).