

DISERTASI

**PENGARUH DAN MEKANISME PEMBERIAN EKSTRAK
ETANOL JINTAN HITAM DALAM MENGHAMBAT
TERJADINYA DISFUNGSI ENDOTEL PADA TIKUS YANG
TERPAPAR ASAP ROKOK**



MEITY ARDIANA

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

DISERTASI

**PENGARUH DAN MEKANISME PEMBERIAN EKSTRAK
ETANOL JINTAN HITAM DALAM MENGHAMBAT
TERJADINYA DISFUNGSI ENDOTEL PADA TIKUS YANG
TERPAPAR ASAP ROKOK**



MEITY ARDIANA

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

DISERTASI

**PENGARUH DAN MEKANISME PEMBERIAN EKSTRAK
ETANOL JINTAN HITAM DALAM MENGHAMBAT
TERJADINYA DISFUNGSI ENDOTEL PADA TIKUS YANG
TERPAPAR ASAP ROKOK**

MEITY ARDIANA

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

**PENGARUH DAN MEKANISME PEMBERIAN
EKSTRAK ETANOL JINTAN HITAM DALAM
MENGHAMBAT TERJADINYA DISFUNGSI ENDOTEL
PADA TIKUS YANG TERPAPAR ASAP ROKOK**

DISERTASI

**Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor
pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
telah dipertahankan di hadapan
Panitia Ujian Doktor Terbuka
Pada hari : Jumat
Tanggal : 19 Juni 2020
Pukul : 13.00 – 15.30 WIB**

Oleh:

**MEITY ARDIANA
011717017332**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH DAN MEKANISME PEMBERIAN EKSTRAK
ETANOL JINTAN HITAM DALAM MENGHAMBAT
TERJADINYA DISFUNGSI ENDOTEL PADA TIKUS YANG
TERPAPAR ASAP ROKOK**

TELAH DISETUJUI

PADA TANGGAL 25 JUNI 2020

Oleh

Promotor

Prof. Dr. Budi S. Pikir, dr., Sp.PD., Sp.JP(K)
NIP. 194908081977031002

Ko-promotor

Dr. Anwar Santoso, dr., Sp.JP(K)
NIP. 195207201984031001

**Disertasi ini telah disetujui untuk diuji dan dinilai
oleh panitia penguji Ujian Tahap 1 (Tertutup)
pada Tanggal 19 Juni 2020**

Panitia penguji:

- Ketua : 1. Prof. Dr. I Ketut Suidiana, Drs., M.Si
Anggota : 2. Prof. Dr. Budi S. Pikir, dr., Sp.PD., Sp.JP(K)
3. Dr. Anwar Santoso, dr., Sp.JP(K)
4. Prof. Dr. Djoko Soemantri, dr., Sp.JP(K)
5. Prof. Dr. Junaidi Khotib, S.Si., M. Kes., Apt., Ph.D
6. Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes
7. Mohammad Saifur Rohman, dr., Sp.JP(K), Ph.D

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Disertasi
Nomor : 215 / UN3.1.1/HK.04/2020
Tanggal : 19 Juni 2020

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmannirrahim,

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Alhamdulillah rabbil 'alamin, segala puji syukur ke hadirat Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karunia yang telah dilimpahkan sehingga amanah untuk menjalani seluruh proses pendidikan, penelitian dan penyusunan disertasi yang berjudul **Pengaruh Dan Mekanisme Pemberian Ekstrak Etanol Jintan Hitam Dalam Menghambat Terjadinya Disfungsi Endotel Pada Tikus Yang Terpapar Asap Rokok** dapat diselesaikan hingga tahap sekarang ini.

Disertasi ini dapat diselesaikan tidak lepas dari dorongan, bimbingan, arahan, saran dan koreksi dari Promotor, Ko-Promotor, Tim Penguji dan banyak pihak yang dengan atau tanpa disadari menjadi inspirasi dan pendukung proses pendidikan ini. Oleh karena itu dengan segala kerendahan hati, perkenankan kami menghaturkan terima kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

Prof. Dr. Budi S. Pikir, dr., Sp.PD., Sp.JP(K)., sebagai Promotor yang dengan penuh pengertian, perhatian dan kesabaran telah memberikan dukungan mental, meluangkan banyak waktu untuk berdiskusi dan memberikan masukan, memberi ruang kreatif yang cukup luas, dan banyak kemudahan kepada kami untuk menjalani seluruh proses pendidikan ini. Sekali lagi kami sampaikan hormat dan terima kasih yang tulus dan mendalam;

Dr. Anwar Santoso, dr., Sp.JP(K)., sebagai Ko-Promotor yang banyak memberikan masukan penting dan sangat mendasar sesuai bidang keahliannya yang sangat bermanfaat bagi peningkatan mutu disertasi ini. Ketelitian dan kedalaman proses berpikir beliau turut membentuk penelitian dan disertasi ini. Selain itu, ucapan terima kasih yang tulus dan mendalam juga kami sampaikan kepada beliau selaku Guru dan Senior kami;

Prof. Dr. Moh. Nasih, S.E., MT., Ak. selaku Rektor Universitas Airlangga, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada

penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS(K) selaku Direktur Utama RSUD Dr. Soetomo, dan **Harsono, dr.**, selaku mantan Direktur RSUD Dr. Soetomo, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

Prof. Dr. Joewono Soeroso, dr, MSc, SpPD-KR, FINASIM selaku Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah memberikan fasilitas dan dukungan bagi penulis selama menjalani dan menyelesaikan pendidikan di Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

Tim Penguji Kualifikasi, Usulan Penelitian dan penialaian disertasi yaitu **Prof. Dr. I Ketut Suidiana, Drs., M.Si., M.Sc., Sp.Par (K), Prof. Dr. Djoko Soemantri, dr., Sp.JP(K), Prof. Dr. Junaidi Khotib, S.Si., M. Kes., Apt., Ph.D, Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes, Mohammad Saifur Rohman, dr., Sp.JP(K), Ph.D** yang banyak memberikan masukan penting dan sangat mendasar sesuai bidang keahliannya yang sangat bermanfaat bagi peningkatan mutu disertasi ini;

Agus Subagyo, dr., Sp.JP selaku Ketua Departemen Ilmu Kardiologi dan Kedokteran Vaskular Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Seluruh senior, guru, sejawat, dan saudara kami di Departemen Ilmu Kardiologi dan Kedokteran Vaskular Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, kami mengucapkan terima kasih atas ilmu, doa dan dukungannya.

Saudara-saudara kami di Tim SBCC antara lain **Dr I Gde Rurus Suryawan, dr., Sp.JP, Andrianto, dr., Sp.JP, Widyawan Priyo Pratomo, dr., Sp.JP, Anudya Kartika Ratri, dr., SpJP dan Rio Herdyanto,dr., Sp.JP** atas kekompakannya dan kerjasamanya

Prof. Dr. I Ketut Suidiana, Drs., M.Si Ketua Lab Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Unit Mikroskop elektron dan **Bu Endah Sujani, Mbak Ayu, Pak Mukid** yang telah membantu dalam interpretasi hasil dan penyediaan fasilitas mikroskop beserta perangkatnya;

Semua **staf pengajar** pada Program Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmu dasar dan ilmu terapan yang sangat bermanfaat serta kritik, saran dan perbaikan pada proposal penelitian untuk penulisan disertasi penulis sampai akhirnya disertasi ini dapat terselesaikan;

Seluruh rekan Angkatan 2017 pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah bekerja sama dan saling memberikan motivasi untuk menyelesaikan pendidikan ini; terutama sahabat dan saudara kami **Nur Aisiyah Wijaya, dr., Sp.A(K), Zahra Hikmah, dr., Sp.A(K), Widyana Feriastuti dr., Sp.Rad** dan **Dr Anna Surgean Veterini, dr., Sp.An.KIC**

Sri Rejeki, Kuriadi Doni, Ana Dhamayanti, Fita Triastuti, Herlina Yuliningsih, Agustin Kusumaningtyas, Bambang Priyono serta **sobirin** yang banyak membantu administrasi di Departemen Ilmu Kardiologi dan Kedokteran Vaskular Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga;

Komang Nurada Mahardhana, dr., Sp.THT-KL, Karumkit RS Bhayangkara H.S. Samsorei Martojoso. Bapak **Ruddy Hartono Apt., Sp. FRS**, kepala Farmasi RS Bhayangkara H.S. Samsorei Martojoso. **Saudara- saudaraku perawat jantung RS Bhayangkara** di ruang HCU, tim katlab dan poli jantung, terima kasih atas persaudaraan dan kerjasamanya selama ini.

Staf pendidikan di Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga: **ibu Adhdriyani, SE, mbak Fitriya Diah Isnaini, A.Md, mbak Paramita Kurnia Sari, A.Md, dan Dr. Reny I'tishom, S.Pi., M.Si.** yang telah sangat membantu kelancaran administrasi selama pendidikan;

Persembahkan terima kasih yang tulus, rasa hormat dan sembah sujud ananda kepada orang tua yang telah melahirkan kami dan yang telah membesarkan kami dengan segala kurang lebihnya. Hanya doa dan rasa terima kasih untuk hutang budi yang tak mungkin dapat terbalas dengan apapun; **ayahanda Askur** dan **Almarhumah Ibunda Nurhayati**, semoga kelak ilmu yang kami pelajari dapat menjadi amal jariyah ayahanda dan ibunda. Saudara-saudara kami **Ir Doddy Ardiansyah, Addy Nurdiansyah** dan **Anita Nurdiana, ST** atas semangat dan dukungannya selama ini.

Kepada suami tercinta **KMB Iksantyo Bagus Pramono, SH, MH** yang banyak memberikan pelajaran hidup dan supportnya terhadap cita-cita kami. Anak-anak tersayang **Alda Nurrahmadhani** dan **Rieka Carina Putri** yang menjadi semangat kami untuk selalu berkarya. Semoga kelak kalian menjadi anak-anak yang sholehah, berprestasi dan berguna bagi bangsa.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, yang telah memberi motivasi, dukungan dan membantu hingga disertasi ini dapat terselesaikan.

Dengan segenap kerendahan hati, penulis menyadari bahwa dalam penulisan disertasi ini masih banyak kekurangan sehingga penulis mohon maaf

sebesar-besarnya atas segala kekurangan tersebut. Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi umat manusia pada umumnya dan ilmu kedokteran pada khususnya, semoga Allah SWT melimpahkan taufik dan hidayah-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian disertasi ini. Amin ya rabbal 'alamin.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Surabaya, Juni 2020

Penulis

RINGKASAN

Pengaruh dan Mekanisme Pemberian Ekstrak Etanol Jintan Hitam dalam Menghambat Terjadinya Disfungsi Endotel pada Tikus yang Terpapar Asap Rokok

Disfungsi endotel merupakan alat prognostik untuk memprediksi perkembangan aterosklerosis dan penyakit jantung koroner (Smiljic, 2017; Nedeljkovic *et al.*, 2003). Data *World Health Organization* dan *Survei Sample Registration System* menunjukkan bahwa PJK merupakan penyebab kematian nomor satu di dunia dan di Indonesia. Salah satu penyebab PJK adalah paparan asap rokok. Data global menunjukkan bahwa merokok dan termasuk perokok pasif merupakan tiga besar penyebab penyakit jantung di dunia dan berkontribusi terhadap 7,2 juta kematian di tahun 2015 (Benjamin *et al.*, 2019). Law dan Wald menunjukkan adanya hubungan antara jumlah rokok yang dihisap per hari dengan meningkatnya risiko relatif dari PJK (U.S. Departement of Health and Human Services, 2010). Merokok merupakan faktor risiko penyakit jantung koroner yang bisa dimodifikasi sehingga terjadinya PJK dapat dicegah (Benjamin *et al.*, 2019).

Kandungan asap rokok dapat menyebabkan disfungsi endotel yang mengarah ke PJK (Zhang *et al.*, 2006). Disfungsi endotel dapat disebabkan oleh adanya ketidakseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan dalam tubuh seperti enzim SOD. Ketidakseimbangan tersebut disebut dengan keadaan stress oksidatif. Stress oksidatif akan menyebabkan peroksidasi lipid yang bersifat merusak sel dan menghasilkan produk MDA. Disfungsi endotel juga ditandai dengan menurunnya enzim eNOS yang berdampak pada menurunnya aktivitas antioksidan, anti-inflamasi dan anti trombotik di pembuluh darah. Penurunan eNOS menyebabkan peningkatan ekspresi molekul adhesi seperti VCAM-1. Peningkatan VCAM-1 dapat memicu aktivasi dan adhesi makrofag pada endotel yang kemudian mengaktifkan proses inflamasi (Zhang *et al.*, 2006; Smiljic, 2017; Nedeljkovic *et al.*, 2003; Gaetano *et al.*, 2016).

Pilihan modalitas penatalaksanaan PJK sampai saat ini adalah terapi menggunakan obat-obatan dan intervensi revaskularisasi aliran darah koroner. Kerusakan otot jantung terlalu luas maupun penatalaksanaan yang terlambat maka tindakan tersebut tidak lagi efektif. Upaya pencegahan penyakit PJK sangat dibutuhkan, namun sampai saat ini masih kurang efektif sehingga dibutuhkan alternatif upaya pencegahan terbaru (Burchfield & Dimmeler, 2008).

Jintan hitam (*Nigella sativa*) dan komponen turunannya terutama *thymoquinone* memiliki potensi *radical scavenging* serta kapasitas penghambatan stres oksidatif dengan cara meningkatkan produksi enzim antioksidan (Al-Turkmani *et al.*, 2015). Jintan hitam juga telah diketahui memiliki berbagai kandungan yang berpotensi untuk menghambat patogenesis dari aterosklerosis melalui berbagai macam mekanisme seperti anti-inflamasi dan anti-trombotik. Jintan hitam juga dapat menghambat proses awal patogenesis aterosklerosis yaitu disfungsi endotel sehingga berpotensi digunakan sebagai pencegahan untuk penyakit aterosklerosis dan PJK (Sabzghabae *et al.*, 2012; Gargari *et al.*, 2009). Berdasarkan uraian tersebut maka dibutuhkan penelitian untuk membuktikan efek

jintan hitam dalam mencegah terjadinya disfungsi endotel akibat paparan asap rokok. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh dan mekanisme pemberian ekstrak etanol jintan hitam terhadap pencegahan terjadinya disfungsi endotel akibat paparan asap rokok yang diukur dengan parameter aktivitas SOD, kadar MDA, kadar eNOS, ekspresi VCAM-1, rasio M1/M2, kelainan struktur histologi, dan IMT aorta.

Penelitian ini menunjukkan bahwa paparan asap rokok 40 batang/hari selama 4 minggu (subkronik) dapat menurunkan aktivitas SOD, menurunkan kadar eNOS, meningkatkan IMT, meningkatkan ekspresi VCAM-1, meningkatkan rasio M1/M2 pada aorta tikus *Wistar* secara signifikan ($p < 0,05$). Paparan asap rokok juga menyebabkan kelainan struktural aorta berupa disorganisasi dan vakuolisasi sel otot polos pada tunika media. Paparan asap rokok tidak menyebabkan perbedaan yang signifikan pada kadar MDA aorta ($p > 0,05$).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol jintan hitam menyebabkan peningkatan aktivitas SOD aorta yang paling signifikan ($p < 0,05$) pada dosis 0,6 g/kgBB (median: 25,70) jika dibandingkan dengan K(+) (median: 10,62). Pemberian ekstrak etanol jintan hitam menyebabkan peningkatan kadar MDA aorta ($p < 0,05$) pada semua dosis (rerata : P1 ($56,08 \pm 20,94$); P2 ($54,23 \pm 12,32$); P3 ($53,68 \pm 16,95$) jika dibandingkan dengan K(+) (rerata : $29,14 \pm 10,27$). Pemberian ekstrak etanol jintan hitam menyebabkan peningkatan kadar eNOS aorta yang paling signifikan ($p < 0,05$) pada dosis 0,3 g/kgBB (median: 111,52) jika dibandingkan dengan K(+) (median: 53,51). Pemberian ekstrak etanol jintan hitam menyebabkan penurunan IMT aorta yang paling signifikan ($p < 0,05$) pada dosis 0,6 g/kgBB (rerata: $63,88 \pm 8,49$) jika dibandingkan dengan K(+) (rerata: $88,39 \pm 2,52$) serta memperbaiki struktur aorta yang ditunjukkan dengan organisasi sel otot polos yang teratur dan berkurangnya vakuolisasi pada tunika media. Pemberian ekstrak etanol jintan hitam menyebabkan penurunan ekspresi VCAM-1 aorta yang paling signifikan ($p < 0,05$) pada dosis 1,2 g/kgBB (median: 5,00) jika dibandingkan dengan K(+) (median: 10,00). Pemberian ekstrak etanol jintan hitam menyebabkan penurunan rasio M1/M2 aorta yang paling signifikan ($p < 0,05$) pada dosis 0,6 g/kgBB (median: 0,38) jika dibandingkan dengan K(+) (median: 3,75).

Hasil analisis jalur, asap rokok secara signifikan dapat meningkatkan IMT melalui penurunan kadar eNOS. Asap rokok juga dapat menurunkan aktivitas SOD dan meningkatkan rasio M1/M2. Hasil analisis jalur pemberian ekstrak etanol jintan hitam secara signifikan menurunkan IMT melalui penurunan VCAM-1.

Penelitian ini memiliki kesimpulan bahwa pemberian ekstrak etanol jintan hitam dapat mencegah penurunan aktivitas SOD pada dosis 0,6 g/kgBB/hari, tidak dapat mencegah peningkatan kadar MDA, mencegah penurunan kadar eNOS pada dosis 0,3 g/kgBB/hari, mencegah peningkatan rasio makrofag M1/M2 pada dosis 0,6 g/kgBB/hari, mencegah peningkatan ekspresi VCAM-1 pada dosis 1,2 g/kgBB/hari, mencegah kelainan struktural dan peningkatan IMT pada dosis 0,6 g/kgBB/hari. Pemberian ekstrak etanol jintan hitam juga menunjukkan adanya mekanisme baru dalam menghambat disfungsi endotel akibat paparan asap rokok yaitu dengan menurunkan IMT melalui penurunan VCAM-1.

SUMMARY***The Effects and Mechanisms of Black Cumin Ethanolic Extract Administration in Inhibiting Endothelial Dysfunction in Rats Exposed to Cigarette Smoke***

An endothelial dysfunction is a prognostic tool for predicting the development of atherosclerosis and coronary heart disease (CHD) (Smiljic, 2017; Nedeljkovic et al., 2003). Data from the World Health Organization (WHO) and the Sample Registration System (SRS) Survey show that CHD is the number one cause of death in the world and Indonesia. One of the causes of CHD is exposure to cigarette smoke. Global data shows that smoking and secondhand smokers are the top three causes of heart disease in the world and contribute to 7.2 million deaths in 2015 (Benjamin et al., 2019). Law and Wald show a relationship between the number of cigarettes smoked per day with the increased relative risk of CHD (U.S. Department of Health and Human Services, 2010). Smoking is a risk factor CHD that can be modified so that the occurrence of CHD can be prevented (Benjamin et al., 2019).

The contents of cigarette smoke can cause endothelial dysfunction that leads to CHD (Zhang et al., 2006). Endothelial dysfunction could be caused by an imbalance between pro-oxidants and antioxidants in the body, such as Superoxide Dismutase (SOD). This condition is called oxidative stress. Oxidative stress will cause lipid peroxidation that is damaging to cells and produces malondialdehyde (MDA). Endothelial dysfunction is also characterized by a decrease in the Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS), which results in decreased antioxidant, anti-inflammatory, and anti-thrombotic activity in blood vessels. The reduction in eNOS causes an increase in the expression of adhesion molecules such as Vascular Adhesion Molecule-1 (VCAM-1). Increased VCAM-1 can trigger activation and adhesion of macrophage in the endothelium which then activates the inflammatory processes (Zhang et al., 2006; Smiljic, 2017; Nedeljkovic et al., 2003; Gaetano et al., 2016).

The management of CHD are drugs and coronary revascularization. Those are not effective if the damage to the heart muscle is too extensive or the interventions were given late. Efforts to prevent CHD are urgently needed, but still ineffective until now. So the new alternative prevention is required (Burchfield & Dimmeler, 2008).

Black cumin (Nigella sativa) and its derivative components, especially thymoquinone, have the potential for radical scavenging and oxidative stress inhibition by increasing the production of antioxidant enzymes (Al-Turkmani et al., 2015). Black cumin has also been known to have various ingredients that have the potential to inhibit the pathogenesis of atherosclerosis through multiple mechanisms such as anti-inflammatory and anti-thrombotic Sabzghabae et al., 2012; Gargari et al., 2009). Based on those descriptions, research is needed to prove the effect of black cumin in preventing endothelial dysfunction due to exposure to cigarette smoke. The purpose of this study was to look at the effect and mechanism of ethanol extract of black cumin on the prevention of endothelial dysfunction due to exposure to cigarette smoke. This study measured SOD activity, MDA levels, eNOS levels, VCAM-1 expression, MI/M2 ratio, structural abnormalities, and IMT of the aorta.

This study showed that exposure to cigarette smoke (40 cigarettes/day) for four weeks (subchronic) could reduce SOD activity, reduce levels of eNOS, increase IMT, increase VCAM-1 expression, increase M1/M2 ratio in aortic Wistar rats significantly ($p < 0.05$). Exposure to cigarette smoke also causes structural aortic abnormalities in the form of disorganization and vacuolization of smooth muscle cells in the tunica media. Exposure to cigarette smoke did not cause a significant difference in aortic MDA levels ($p > 0.05$).

Statistical analysis showed that the administration of black cumin ethanolic extract caused the most significant increase in aortic SOD activity ($p < 0.05$) at a dose of 0.6 g/kg body weight (median: 25.70) when compared to K(+) (median: 10.62). The administration of black cumin ethanolic extract caused an increase in aortic MDA levels ($p < 0.05$) at all doses (mean: P1 (56.08 ± 20.94); P2 (54.23 ± 12.32); P3 (53.68 ± 16.95) when compared with K(+) (mean: 29.14 ± 10.27). The administration of ethanolic extract of black cumin caused the most significant increase in aortic eNOS levels ($p < 0.05$) at a dose of 0.3 g/kg body weight (median: 111.52) when compared with K(+) (median: 53.51). The administration of ethanolic extract of black cumin caused the most significant decrease in aortic IMT ($p < 0.05$) at a dose of 0.6 g / kg body weight (average: 63.88 ± 8.49) when compared with K(+) (mean: 88.39 ± 2.52). Black cumin also improved the structure of the aorta as indicated by the regular organization of smooth muscle cells and reduced vacuolization in the tunica media. Administration of black cumin ethanolic extract caused the most significant decrease in aortic VCAM-1 expression ($p < 0.05$) at a dose of 1.2 g/kg body weight (median: 5.00) when compared to K(+) (median: 10,00). Administration of black cumin ethanolic extract caused the most significant decrease in the aortic M1/M2 ratio ($p < 0.05$) at a dose of 0.6 g/kg body weight (median: 0.38) when compared to K(+) (median: 3.75).

The results of cigarette smoke's analysis pathways showed significantly increase IMT by decreasing eNOS levels. Cigarette smoke can also reduce SOD activity and increase the M1/M2 ratio. Pathway analysis showed that the ethanolic extract of black cumin reduces IMT through a decrease in VCAM-1 expression.

This study concludes that administration of ethanolic extract of black cumin could prevent a decrease in SOD activity at a dose of 0.6 g/kg body weight/day, could not prevent an increase in MDA levels, prevent a decrease in eNOS levels at a dose of 0.3g/kg body weight/ day, prevent an increase in the M1/M2 ratio at a dose of 0.6 g/kg body weight/day, prevent an increase in VCAM-1 expression at a dose of 1.2 g/kg body weight/day, prevent structural abnormalities and an increase in IMT at a dose of 0.6 g/kg body weight/day. This study also found a new mechanism of black cumin in inhibiting endothelial dysfunction due to exposure to cigarette smoke by reduces IMT through a decrease in VCAM-1 expression.