

Pengimbuhan Serbuk Sari Lebah Meningkatkan Kadar *Follicle Stimulating Hormone* dan Sedikit Mengganggu Hati Tikus yang Dipapar Asap Rokok

(ADDITION OF BEE POLLEN IMPROVES FOLLICLE STIMULATING HORMONE LEVELS AND SLIGHT DISRUPTING THE LIVER RATS EXPOSED TO CIGARETTE SMOKE)

**Kamaliya Alawiyah Yahya¹,
Desak Nyoman Dewi Indira Laksmi², Ni Luh Eka Setiasih³,**

¹Mahasiswa Sarjana Pendidikan Dokter Hewan,

²Laboratorium Reproduksi dan Kemajiran Veteriner,

³Laboratorium Histologi Veteriner

Fakultas Kedokteran Hewan, Univeritas Udayana,

Jl. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia 80234

Telp: (0361) 223791; *Email: dewiindira@unud.ac.id

ABSTRACT

This research was aimed to find out the effect of giving bee pollen on liver histology and *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) levels in female white mice (*Rattus norvegicus*) exposed to cigarette smoke. This research used 24 head of white rats as a samples which were grouped randomly into four groups, namely the negative control group, mice without exposure to cigarette smoke, the positive control group, the mice were exposed to cigarette smoke without given bee pollen, the first treatment group, the mice were exposed to cigarette smoke and given bee pollen of 9 mg/head once a day and the second treatment group, the mice, were exposed to cigarette smoke and given bee pollen of 9 mg/head orally twice a day, in the morning and in the evening. The treatments were carried out within a period of 14 days. The liver histology were observed by using a binocular light microscope in five fields of view with magnifications of 40, 100 and 400 times. The changes observed in the liver histology were recorded and analyzed descriptively. The FSH hormone levels were measured by using the Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) method. Liver histology showed congestion, degeneration and necrosis in the liver of all treatment groups except the control group which showed normal hepatocytes. The FSH hormone levels showed an increase, FSH levels in sequence from lowest to highest, which were found in all treatment and control groups. Based on the results of the histology and FSH levels, giving bee pollen did not have a significant effect on the liver histology, but giving bee pollen increase the FSH levels of female white rats (*R. norvegicus*) exposed to cigarette smoke.

Keywords: bee pollen; liver; FSH; cigarette smoke

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian serbuk sari lebah/*bee pollen* terhadap gambaran histologi hati dan kadar hormon FSH tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) yang dipapar asap rokok. Penelitian ini menggunakan 24 sampel yang dikelompokkan secara acak menjadi empat kelompok yakni kelompok kontrol negatif yaitu tikus tanpa diberikan paparan asap rokok, kelompok kontrol positif yaitu tikus yang diberikan paparan asap rokok tanpa *bee pollen*, kelompok perlakuan yang pertama yaitu tikus diberikan paparan asap rokok dan diberikan *bee pollen* sebanyak 9 mg/ekor satu kali sehari dan kelompok perlakuan yang kedua yaitu tikus diberikan paparan asap rokok dan diberikan *bee pollen* sebanyak 9 mg/ekor dua kali sehari yaitu pagi dan malam hari secara per oral. Perlakuan yang sama dilakukan dalam jangka waktu 14 hari. Pengamatan terhadap histologi hati dilakukan dengan melihat perubahan secara deskriptif

menggunakan mikroskop cahaya binokuler pada lima lapang pandang secara mikroskopik dengan pembesaran 40, 100 dan 400 kali. Pengukuran kadar hormon FSH menggunakan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Pada gambaran histologi hati menunjukkan adanya kongesti, degenerasi, dan nekrosis pada semua kelompok perlakuan kecuali, kelompok kontrol yang menunjukkan gambaran hepatosit normal. Hasil pengukuran kadar hormon FSH menunjukkan peningkatan, kadar FSH berturut-turut dari yang paling rendah sampai yang paling tinggi yaitu didapatkan pada semua kelompok perlakuan dan kontrol. Berdasarkan hasil gambaran histologi dan kadar FSH pemberian *bee pollen* tidak berpengaruh signifikan terhadap gambaran histologi hati, akan tetapi pemberian *bee pollen* meningkatkan kadar FSH tikus putih betina (*R. norvegicus*) yang dipapar asap rokok.

Kata-kata kunci: *bee pollen*; hati; FSH; asap rokok

PENDAHULUAN

Asap rokok telah menjadi permasalahan kesehatan global dan merupakan salah satu faktor risiko penyebab penyakit tidak menular seperti jantung, stroke dan kanker. Penyakit-penyakit tersebut, saat ini merupakan penyebab kematian utama di dunia, termasuk di Indonesia (Kemenkes RI, 2022). Penggunaan tembakau telah membunuh lebih dari 8 juta jiwa setiap tahunnya (WHO, 2020). Berdasarkan hasil data yang diungkap oleh World Health Organization menyatakan bahwa, Indonesia berada pada peringkat ketiga pengguna rokok terbesar di dunia setelah India dan China (WHO, 2008).

Asap rokok mengandung lebih dari 4000 macam bahan kimia yang umumnya bersifat toksik dan karsinogenik. Kandungan tersebut apabila masuk ke dalam tubuh dapat menjadi radikal bebas serta meningkatkan *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat merangsang terjadinya ketidakseimbangan jumlah radikal bebas dengan antioksidan atau dapat menimbulkan stres oksidatif (Ningrum *et al.*, 2021). Stres oksidatif di dalam tubuh yang berlebih dapat menyebabkan kerusakan sel sehingga mampu memicu terjadinya berbagai macam penyakit (Muhammad, 2009). Hal ini sejalan dengan fungsi hati sebagai penetralisir zat toksik di dalam tubuh. Sehingga, hati rentan terhadap kerusakan. Berdasarkan laporan hasil penelitian Battah *et al.* (2016) ditemukan perubahan struktur histologi hati pada tikus putih yang dipapar asap rokok.

Stres oksidatif juga terjadi pada sistem neuroendokrin pada hipotalamus, tepatnya pada preoptik yang memiliki peranan penting bersama nukleus arkuata untuk menstimulasi *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) yang mensekresikan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH).

Paparan asap rokok secara nyata menghambat perkembangan folikel baik pada fase preantral dan antral serta terjadi penurunan kelangsungan hidup folikel, terukur dari rendahnya kadar FSH (Sadeu dan Foster, 2011).

Pengaruh buruk radikal bebas dari asap rokok dapat ditangkal dengan pemberian antioksidan. Kandungan antioksidan tersebut dimiliki oleh salah satu produk turunan yang dihasilkan oleh lebah yakni serbuk sari lebah (*bee pollen*). Komponen biologis utama pada serbuk sari lebah yang berperan terhadap antioksidan adalah polifenol seperti, senyawa fenolik yaitu flavonoid (Setianingsih *et al.*, 2021). Senyawa antioksidan seperti isoflavon terbukti dapat meningkatkan performa reproduksi pada tikus putih (Laksmi *et al.*, 2021). Menurut laporan penelitian Yildiz *et al.* (2013) serbuk sari lebah terbukti mampu melindungi hepatosit dari stres oksidatif dan menyembuhkan kerusakan cedera sel hati. Antioksidan dalam serbuk sari lebah juga dapat mereduksi steatosit di sel hati (Oyarzún *et al.*, 2021). Selain itu dalam komposisinya serbuk sari lebah mengandung isoflavon yang struktur dan aktivitasnya mirip dengan estrogen dan dikenal sebagai fitoestrogen (Sirotkin dan Harrath, 2014). Antioksidan yang terkandung dalam serbuk sari lebah juga mampu meningkatkan folikulogenesis, hal ini sejalan dengan laporan penelitian Khalifa *et al.* (2021), bahwa pemberian *serbuk sari lebah* terbukti meningkatkan kadar hormon FSH.

Masih terbatasnya informasi mengenai pengaruh serbuk sari lebah terhadap gambaran histologi hati dan kadar hormon FSH pada tikus betina (*Rattus norvegicus*), penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian serbuk sari lebah terhadap gambaran histologi hati dan kadar hormon FSH pada tikus putih (*R. norvegicus*) betina yang dipapar asap rokok.

METODE PENELITIAN

Obejek Penelitian

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah tikus putih betina (*R. norvegicus*), sebanyak 24 ekor dengan kisaran umur 3-4 bulan dengan bobot badan rata-rata 200 g dalam keadaan sehat. Tikus putih betina dibiarkan beradaptasi dengan lingkungan baru untuk memperkecil efek stres pada hewan percobaan yang dapat memengaruhi metabolismenya. Adaptasi dilakukan selama tujuh hari di kandang hewan coba dan diberi pakan serta minum secara *ad libitum*.

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu rokok konvensional, serbuk sari lebah/*bee pollen*, metanol, giemsa, NaCl fisiologis, alkohol, ketamin serta pakan komersial berupa pakan komplet butiran untuk anak babi, ayam dan kelinci (Hi-Gro 551®, Charoen Pokphand, Pasuruan, Indonesia).

Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan, tempat minum, tempat pakan, timbangan, sonde, pipet ukur, sonde, *cotton bud*, *object glass*, mikroskop, api bunsen, kertas label, gelas, spuit 1 mL, kapas, tabung *vacuntainer* tutup merah, *micro tube*, alat bedah minor, dan FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan ELISA kit.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan percobaan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas empat perlakuan. Masing-masing perlakuan terdiri atas enam ekor tikus. Ada pun perlakuan untuk tikus adalah: tanpa dipapar dengan asap rokok dan tanpa diberikan serbuk sari lebah/*bee pollen*, tikus dipapar dengan asap rokok sebagai kontrol dan tanpa diberikan serbuk sari lebah/*bee pollen*, tikus dipapar dengan asap rokok dan diberikan serbuk sari lebah/*bee pollen* satu kali sehari dan tikus yang dipapar asap rokok dan diberikan serbuk sari lebah/*bee pollen* dua kali sehari pada pagi dan malam hari. Pada siang hari, hewan coba dipaparkan asap rokok. Metode pemberian asap rokok yang dilakukan pada hewan coba adalah dengan memasukkan tikus ke dalam kardus ukuran 36 x 23 x 25,5 cm, setiap kardus tersebut diisi oleh 6 tikus, lalu dipapari dengan asap rokok sebanyak satu batang rokok konvensional merk In Mild setiap harinya sampai

rokok tersebut habis, durasinya kurang lebih selama 30 menit. Asap rokok tersebut dihasilkan dari rokok yang dibakar dan dimasukkan melalui celah-celah udara buatan pada kardus. Perlakuan yang sama dilakukan dalam jangka waktu 14 hari.

Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini terdiri atas variabel bebas yaitu dosis serbuk sari lebah/*bee pollen* dan asap rokok, variabel terikat yaitu gambaran histologi hati tikus putih betina (*R. norvegicus*) dan kadar hormon *follicle stimulating hormone* (FSH). Variabel kendal yang diamati yaitu umur, jenis kelamin, bobot badan, jenis pakan dan air minum, spesies, dan lingkungan.

Prosedur Penelitian

Sebanyak 24 ekor tikus putih betina (*R. norvegicus*) dibiarkan beradaptasi selama tujuh hari dikandang hewan coba dan diberi pakan serta air minum secara *ad libitum*. Setelah masa adaptasi dilakukan, penelitian dimulai dengan pemberian *bee pollen* pada setiap tikus dengan dosis 9 mg per oral dengan menggunakan sonde lambung. Pemberian dosis kepada hewan coba P1 adalah sebanyak 9 mg/ekor, sedangkan kepada hewan coba P2 adalah 9 mg/ekor sebanyak dua kali pada pagi dan malam hari. Pemberian dilakukan melalui per oral dengan menggunakan sonde lambung. Pada siang hari, hewan coba dipaparkan asap rokok. Metode pemberian asap rokok yang dilakukan pada hewan coba adalah dengan memasukkan tikus ke dalam kardus ukuran 36 x 23 x 25,5 cm, setiap kardus tersebut diisi oleh 6 tikus, lalu dipapari dengan asap rokok sebanyak satu batang rokok konvensional merk In Mild setiap harinya sampai rokok tersebut habis, durasinya kurang lebih selama 30 menit. Asap rokok tersebut dihasilkan dari rokok yang dibakar dan dimasukkan melalui celah-celah udara buatan pada kardus. Perlakuan yang sama dilakukan dalam jangka waktu 14 hari.

Pada hari ke-14 ulas/swab vagina dilakukan untuk mengetahui siklus estrus. Jika ditemukan tikus dalam masa estrus, maka tikus segera dikorbankan nyawanya untuk pengambilan sampel hati. Tikus putih betina dieuthanasia dengan diberikan ketamin 0,1 mL/ekor. Kemudian dilakukan nekropsi serta pengambilan organ hati dan selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histologi dengan teknik pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) sesuai metode Kiernan. Preparat histologi hati selanjutnya diperiksa menggunakan mikroskop

cahaya binokuler pada lima lapang pandang secara mikroskopik dengan pembesaran 40, 100 dan 400 kali.

Pengukuran kadar *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dilakukan dengan pengambilan darah yang diambil dari intra orbital. Setelah itu darah ditampung dalam *vacuntainer* tanpa penambahan zat aditif antikoagulan (tabung tutup merah) kemudian darah yang didapatkan dilakukan *sentrifuge*, untuk mendapatkan serum. Selanjutnya serum di separasi dan disimpan dalam *micro tube*. Serum tersebut selanjutnya disimpan pada lemari pendingin suhu 4°C sebelum dilakukan pengukuran kadar hormon FSH menggunakan metode *Enzym Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

Analisis Data

Perubahan yang ditemukan pada pengamatan preparat histologi hati dianalisis dan disajikan secara deskriptif, sedangkan data kadar hormon FSH yang diperoleh melalui metode ELISA dilakukan analisis data dengan analisis statistika menggunakan uji sidik ragam satu arah untuk melihat pengaruh pada variabel dan diteruskan dengan uji jarak berganda duncan untuk melihat adanya perbedaan antar kelompok. Semua data yang diperoleh diolah dengan menggunakan program komputer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran Histologi Hati

Hasil pengamatan histologi hati pada tikus putih betina menunjukkan gambaran hepatosit normal pada kelompok kontrol negatif (P0-), sedangkan pada kelompok kontrol positif (P0+), perlakuan 1 (P1), dan perlakuan 2 (P2) ditemukan adanya kongesti, degenerasi dan nekrosis (Gambar 1 dan Gambar 2).

Kadar Hormon FSH

Data hasil kadar hormon FSH pada tikus putih betina pada kelompok kontrol negatif (P0-), dengan kelompok kontrol positif (P0+), kelompok pemberian serbuk sari lebah/*bee pollen* satu kali sehari (P1), dan kelompok pemberian serbuk sari lebah/*bee pollen* dua kali sehari (P2) menggunakan metode ELISA, kemudian dianalisis dengan uji sidik ragam. Uji ini digunakan untuk menguji perbedaan rata-rata antar perlakuan. Dari hasil uji sidik ragam diperoleh perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antar perlakuan. Oleh sebab itu, dilanjutkan uji jarak berganda Duncan. Hasil analisis tersebut disajikan

pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil uji jarak berganda Duncan, diketahui bahwa antara perlakuan kontrol positif (P0+), perlakuan 1 (P1), dan perlakuan 2 (P2) memiliki perbedaan yang nyata ($p < 0,05$), yang artinya terdapat peningkatan kadar hormon FSH setelah pemberian serbuk sari lebah/*bee pollen* secara nyata, di samping itu, antara perlakuan kontrol negatif (P0-) dan perlakuan 2 (P2) menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), yang artinya terdapat peningkatan kadar hormon FSH setelah pemberian serbuk sari lebah/*bee pollen*, tetapi, tidak signifikan. Kadar FSH masih lebih tinggi pada kelompok kontrol negatif (P0-).

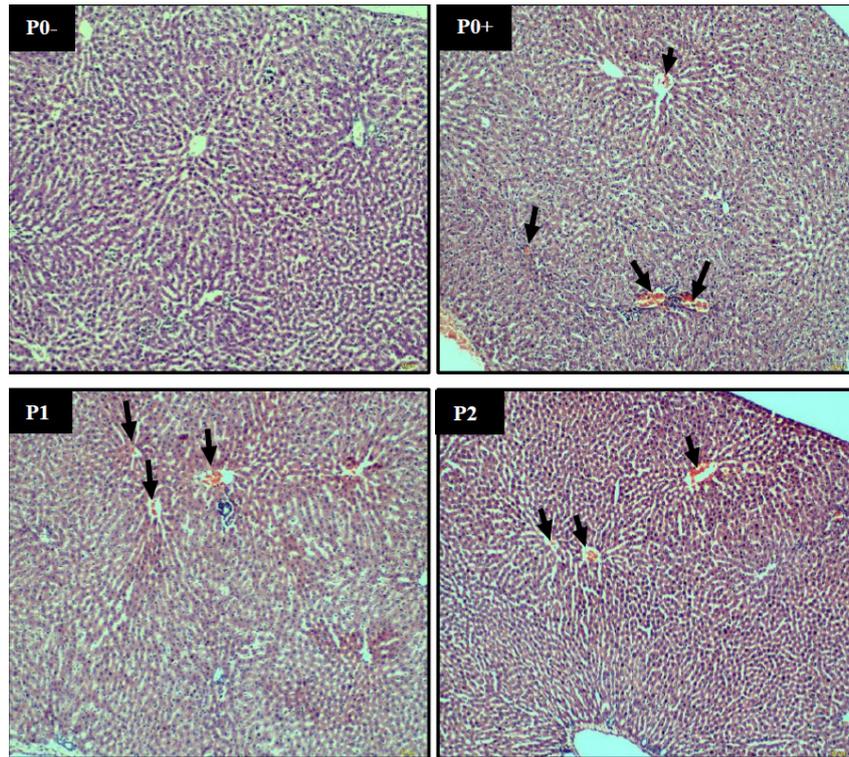
Hati memiliki peranan penting dalam melindungi tubuh dari bahan-bahan kimia yang berpotensi beracun melalui kemampuannya untuk melakukan netralisir dan detoksifikasi toksin sehingga dapat mengubah zat toksik menjadi nontoksik atau bentuk metabolit yang larut dalam air yang kemudian dapat diekskresikan dari tubuh. Fungsi organ hati ini dapat terganggu akibat beberapa faktor, salah satunya adalah paparan bahan-bahan berpotensi racun. Hal inilah yang membuat hati rentan terhadap kerusakan terlebih lagi bila paparan bahan-bahan toksik tersebut masuk ke dalam tubuh secara berlebihan dan berkepanjangan. Salah satu zat toksik terdapat pada kandungan asap rokok (Krisnansari *et al.*, 2014).

Setelah dilakukan paparan asap rokok selama 14 hari pada tikus putih (*R. norvegicus*) betina, gambaran histologi hatinya terdapat beberapa perubahan yang berhasil diamati. Pada kontrol negatif (P0-) struktur histologi hati terlihat normal yang terdiri atas hepatosit dengan batas yang jelas, inti yang bulat dengan kromatin tersebar dan menyerap zat warna sempurna, tidak ditemukan adanya kongesti, degenerasi maupun nekrosis. Pada kontrol positif (P0+), perlakuan 1 (P1), dan perlakuan 2 (P2) penampakan struktur histologi hati ditemukan adanya kongesti, degenerasi maupun nekrosis.

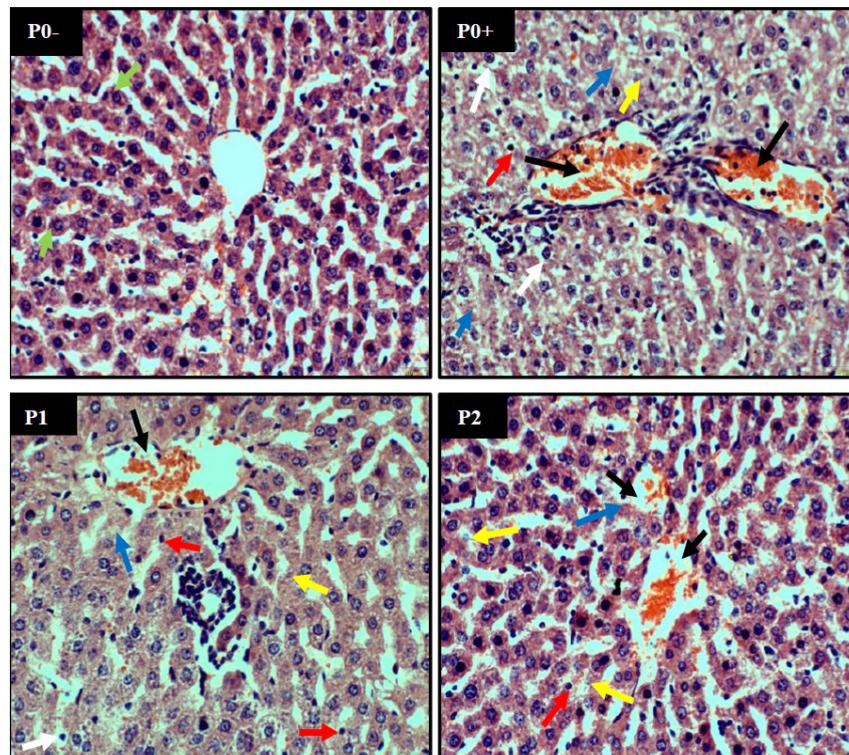
Tabel 1 . Tabel uji *post-hoc* duncan: rata-rata kadar FSH pada tikus putih betina.

Kelompok	Rata-rata kadar hormon FSH (mIU/ml)
P0+	6,52 ± 0,23 ^a
P1	7,06 ± 0,39 ^b
P2	8,23 ± 0,21 ^c
P0-	8,39 ± 0,14 ^c

Keterangan: Superskrip yang berbeda menunjukkan nilai yang berbeda nyata ($P < 0,05$)



Gambar 1. Gambaran histologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina (HE, 100x). Terlihat adanya kongesti (panah hitam)



Gambar 2. Gambaran histologi hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina (HE, 400x). Terlihat adanya hepatosit normal (panah hijau), kongesti (panah hitam), degenerasi melemak (panah putih), nekrosis piknosis (panah merah), nekrosis kariorheksis (panah kuning), dan nekrosis kariolisis (panah biru).

Perubahan struktur histologi tersebut dapat terjadi karena asap rokok merupakan salah satu jenis radikal bebas yang berasal dari luar tubuh. Produk radikal bebas ditandai dengan pembentukan turunan radikal yaitu *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat menstimulasi stres oksidatif serta mengakibatkan kerusakan sel. Mekanisme kerusakan sel akibat serangan radikal bebas yang paling awal diketahui dan terbanyak diteliti adalah akibat peroksidasi lipid yang terjadi melalui tiga tahapan yakni inisiasi, propagasi dan terminasi. Diawali dari inisiasi radikal bebas dengan menyerang rantai samping *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA), akibat penambahan oksigen pada tahap propagasi terbentuk senyawa turunan radikal dan pada tahap terminasi terjadi reaksi berantai dari senyawa turunan radikal yang terbentuk menyerang kembali PUFA dan menghasilkan senyawa radikal baru dan lipid peroksida (Ningrum *et al.*, 2021).

Keberhasilan reproduksi suatu individu tidak dapat terlepas dari peran hormon FSH. Aktivasi FSH yang dirangsang oleh *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) dari pituitari atau hipofisis anterior yang berdenyut sangat berperan penting pada fertilitas hewan betina melalui pembentukan folikel-folikel dalam ovarium (folikulogenesis). Akan tetapi, sekresi hormon FSH dapat terhambat oleh banyak faktor, salah satunya akibat radikal bebas (Sadeu dan Foster, 2011).

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan adanya perubahan yang nyata penurunan kadar FSH pada kontrol negatif (P0-) dibandingkan kontrol positif (P0+) dari rata-rata 8,39 mIU/mL menjadi 6,52 mIU/mL. Artinya terdapat perubahan kadar hormon FSH pada kelompok perlakuan setelah dipapar asap rokok. Penurunan kadar FSH dalam penelitian ini dapat terjadi karena paparan radikal bebas eksogen yang terkandung dalam asap rokok (Astuti, 2012).

Kandungan nikotin dan tar pada asap rokok dapat menyebabkan peningkatan produk turunan radikal yakni ROS yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Hal ini dapat memengaruhi sel-sel saraf di otak, khususnya hipotalamus tempat hormon FSH dirangsang melalui stimulasi GnRH. Terganggunya sistem neuroendokrin tepatnya pada nukleus arkuata dan preoptik yang menyebabkan kegagalan sintesis dan sekresi GnRH untuk menstimulasi FSH dan LH. Kadar FSH yang menurun berimbas buruk pada perkembangan sel granulosa dan jumlah folikel ovarium dalam folikulogenesis. Bila kerusakan

terus terjadi dapat berdampak pada terganggunya fungsi ovarium (Sadeu dan Foster, 2011).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian serbuk sari lebah/*bee pollen* tidak nyata berpengaruh terhadap gambaran histologi hati tikus putih betina yang dipapar asap rokok. Pemberian serbuk sari lebah/*bee pollen* dapat meningkatkan kadar hormon FSH pada tikus putih betina yang dipapar asap rokok.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka penulis dapat menyarankan beberapa hal yaitu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut perihal pengaruh pemberian serbuk sari lebah/*bee pollen* terhadap gambaran histologi hati tikus putih betina (*R. norvegicus*) yang dipapar asap rokok dengan menggunakan metode skoring untuk mengetahui tingkat keparahan kerusakan hati, dan penelitian lebih lanjut perihal pengaruh pemberian *bee pollen* sebagai terapi alternatif terhadap gangguan fungsi hati

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Laboratorium Patologi, Balai Besar Veteriner (BBVet) Denpasar, Laboratorium Biomedik Terpadu Divisi Biokimia dan Biologi Molekuler, Laboratorium Reproduksi Veteriner dan Laboratorium Histologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, yang telah membantu dan memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti S. 2012. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian* 13(2): 126-136.
- Battah KA, Badranc DH, Shraideh ZA. 2016. Effect of Cigarette Smoking on the Structure of Hepatocytes: TEM Study *International Journal of Morphology*, 34(4): 1239-1244.
- Kemenkes RI. 2022. *Saatnya Melindungi Perempuan dari Bahaya Rokok*. Jakarta. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. <https://www.kemkes.go.id/>

- article/view/1090/saatnya-melindungi-perempuan-dari-bahaya-rokok.html. [7 September 2022].
- Krisnansari, D., Sulisty, H. and Ati, V.R.B., 2014. Efek propolis terhadap fungsi dan perlemakan hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) model Hiperkolesterolemia. *Penelitian Gizi dan Makanan* 37(1): 77-85.
- Khalifa SA, Elashal MH, Yosri N, Du M, Musharraf SG, Nahar L, Sarker SD, Guo Z, Cao W, Zou X, Abd El-Wahed AA. 2021. Bee pollen: Current status and therapeutic potential. *Nutrients*, 13(6): 1876.
- Laksmi DNDI, Setiasih NLE, Trilaksana IGNB. 2021. Effect of oncom extract on the level of estrogen hormone of productive white rats. *Bali Medical Journal* 10(2): 559-561.
- Muhammad I. 2009. Efek Antioksidan Vitamin C terhadap Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Terpapar Asap Rokok. [Thesis]. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Ningrum AG, Ratnawati R, Andarini S. 2021. Effect of Sweet Potato Anthocyanin (*Ipomoea batatas* L.) on Levels of Follicle Stimulating Hormone and Folliculogenesis in *Rattus norvegicus* Exposed to Cigarette Smoke. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology* 15(1): 1820-1826
- Setianingsih A. 2021. Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Masker Gel dari Serbuk Sari Lebah (*Bee Pollen*) dengan Peredaman Radikal DPPH. [Dissertasi] Tegal. Politeknik Harapan Bersama Tegal.
- Oyarzún JE, Andia ME, Uribe S, Núñez Pizarro P, Núñez G, Montenegro G, Bridi R. 2020. Honeybee pollen extracts reduce oxidative stress and steatosis in hepatic cells. *Molecules* 26(1): 6.
- Sadeu JC, Foster WG. 2011. Effect of in vitro exposure to benzo [a] pyrene, a component of cigarette smoke, on folliculogenesis, steroidogenesis and oocyte nuclear maturation. *Reproductive Toxicology* 31(4): 402-408
- Sirotkin AV, Harrath AH. 2014. Phytoestrogen And Their Effects. *European Journal of Pharmacology* 741(92014): 230-236
- WHO. 2008. WHO report on the global tobacco epidemic, 2008: the MPOWER package. World Health Organization
- WHO. 2020. Pernyataan WHO: Penggunaan Tembakau dan Covid-19. *World Health Organization*. <https://www.who.int/indonesia/news/detail/11-05-2020-pernyataan-who-penggunaan-tembakau-dan-covid-19>. [7 September 2022].
- Yildiz O, Can Z, Saral Ö, Yuluğ E, Öztürk F, Aliyazıcıoğlu R, Canpolat S, Kolaylı S. 2013. Hepatoprotective potential of chestnut bee pollen on carbon tetrachloride-
Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2013, Article ID 461478 9 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/461478>