



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

# **PENGARUH EKSTRAK JINTAN HITAM TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDE DAN AKTIFITAS KATALASE PADA TIKUS PUTIH HIPERGLIKEMI**

**TESIS**



**RANGI NADYA  
1021212014**

**PROGRAM PASCA SARJANA BIOMEDIK  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG 2013**



No. Alumni Unand	Rangi Nadya	No. Alumni Fakultas
------------------	-------------	---------------------

**BIODATA**

a) Tempat/ Tanggal Lahir: Bukittinggi, 12 Januari 1987. b) Nama Orang Tua: Edi Irwan. c) Program Studi: Ilmu Biomedik Program Kekhususan Kesehatan Reproduksi. d) Fakultas: Pascasarjana. e) No. BP 1021212014. f) Tanggal Lulus: Predikat Lulus: h) IPK: i) Lama Studi: j) Alamat: Jln Prof M.Yamin No.63 Payakumbuh

**PENGARUH EKSTRAK JINTAN HITAM TERHADAP KADAR MDA DAN KATALASE PADA TIKUS PUTIH HIPERGLIKEMIA**

**ABSTRAK**

Hiperglikemia pada diabetes melitus menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas terutama ROS dari berbagai jaringan yang berasal dari proses autooksidasi dan glikosilasi protein. Untuk mengantisipasi terjadinya komplikasi pada penyakit DM akibat dari radikal bebas, maka diperlukan antioksidan eksogen, salah satu antioksidan yang terdapat pada ekstrak jintan hitam.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *Post Test Only Group Design*, dilakukan di laboratorium Biokimia dan Farmasi Universitas Andalas Padang dengan jumlah sampel 25 ekor tikus jantan umur 2-3 bulan. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok, 1 kelompok kontrol negatif (KN) dengan diet standar, 1 kelompok kontrol positif (KP) yang diinduksi aloksan 150 mg/KgBB, 3 kelompok perlakuan dengan memberikan ekstrak jintan hitam dengan 3 tingkatan dosis (7,2, 14,4 mg dan 21,6 mg) diberikan per oral. Pemeriksaan kadar MDA dengan metode NWLSS dan aktifitas katalase dengan metode kolorimetri dengan alat spektrofotometer (*microlab 300*). Analisis data diolah dengan uji ANOVA.

Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar MDA rata-rata KN  $10,02 \pm 0,38$  nmol/ml, KP  $14,37 \pm 0,63$  nmol/ml, P1  $12,13 \pm 0,40$ , P2  $10,43 \pm 0,55$  dan P3  $10,94 \pm 0,53$ . Secara statistik terdapat perbedaan rata-rata kadar MDA antar kelompok ( $p < 0,05$ ). Rerata aktifitas katalase KN  $11,68 \pm 0,73$  unit/mg, KP  $9,28 \pm 0,53$  unit/mg, P1  $10,14 \pm 0,74$  unit/mg, P2  $11,26 \pm 0,49$  unit/mg dan P3  $10,48 \pm 0,30$  unit/mg. Secara statistik terdapat perbedaan rata-rata aktifitas katalase antar kelompok ( $p < 0,05$ ).

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu pemberian ekstrak jintan hitam dapat menurunkan kadar MDA dan peningkatan aktifitas katalase pada tikus hiperglikemia

Tesis telah dipertahankan didepan sidang pengujian dan dinyatakan lulus pada tanggal  
Abstrak telah disetujui oleh pengujian  
Pengujian

Tanda Tangan	1	2	3	4	5
Nama terang	Prof. DR. dr. Fadil Oenzil, PhD, Sp.GK	Prof. DR. dr. H. Nasrul Zubir, Sp.PD KGEH-FINASIM	Dr. Zulkarnain Edward, MS, PhD	DR. dr. Hafni Bachtiar, MPH	DR Eti Yerizel, MS

Mengetahui

Ketua Program Studi : Prof. DR. dr. Delmi Sulastris, MS, SpGK  
Nama

Tanda tangan

Alumnus telah mendaftar ke program Pascasarjana/Universitas dan mendapat Nomor Alumnus :

	Petugas Pascasarjana/Universitas	
No. Alumnus Pascasarjana	Nama :	Tanda Tangan
No. Alumnus Universitas	Nama :	Tanda Tangan

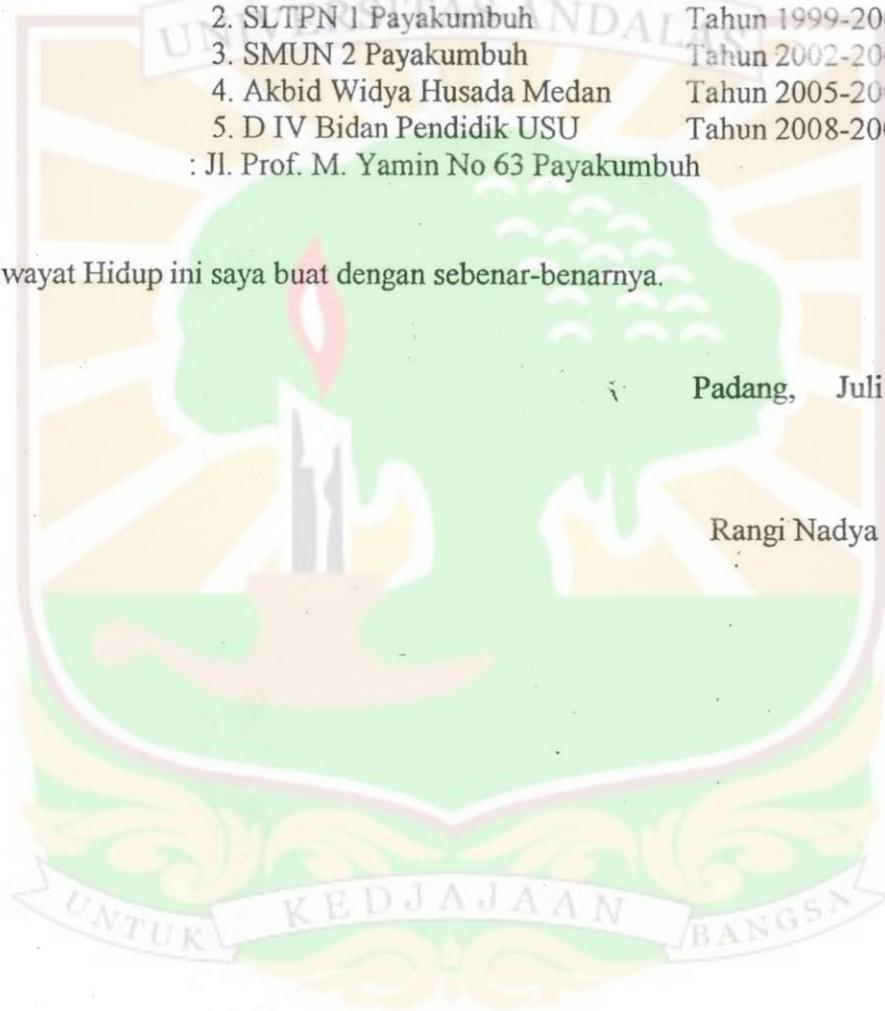
## DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama Lengkap : Rangi Nadya  
Tempat/Tanggal Lahir : Bukitinggi/12 Januari 1987  
Jenis Kelamin : Perempuan  
Warga Negara : Indonesia  
Agama : Islam  
Status : Belum Menikah  
Pendidikan : 1. SDI Muhamadiyah Payakumbuh Tahun 1993-1999  
2. SLTPN 1 Payakumbuh Tahun 1999-2002  
3. SMUN 2 Payakumbuh Tahun 2002-2005  
4. Akbid Widya Husada Medan Tahun 2005-2008  
5. D IV Bidan Pendidik USU Tahun 2008-2009  
Alamat : Jl. Prof. M. Yamin No 63 Payakumbuh

Daftar Riwayat Hidup ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Padang, Juli 2013

Rangi Nadya



## KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan mengucapkan alhamdulillah serta puji syukur peneliti sampaikan kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahNya sehingga peneliti dapat menyelesaikan tesis ini dengan judul *Pengaruh ekstrak jintan hitam terhadap kadar malondialdehide dan aktifitas katalase Pada tikus putih hiperglikemi* Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Biomedik (M.Biomed).

Dalam penyusunan Tesis ini, peneliti banyak mendapatkan bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terima kasih kepada:

1. DR..dr. Masrul, MSc, SpGK, selaku Dekan fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.
2. Prof. DR.dr. Delmi Sulastri, MS, SpGK selaku Ketua Program Studi Magister Program Pasca Sarjana Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang
3. Prof. DR.dr. Fadil Oenzil, PhD, SpGK selaku pembimbing yang juga telah banyak membantu dalam penyelesaian tesis ini.
4. Prof. DR. dr. Nasrul Zubir, Sp.PD-KGEH FINASIM selaku pembimbing yang juga telah banyak membantu dalam penyelesaian tesis ini.
5. Ketua Yayasan Rumah Sakit Widya Husada beserta rekan- rekan yang telah banyak memberikan bantuan moril dalam menyelesaikan pendidikan di Pasca Sarjana Biomedik Universitas Andalas Padang
6. Semua rekan program studi biomedik angkatan 2010 atas segala kerjasama yang baik serta dukungan selama menjalani proses pendidikan.
7. Kepada semua pihak yang tidak dapat peneliti sebutkan satu-persatu yang telah memberikan dorongan dan semangat selama peneliti menjalani pendidikan.

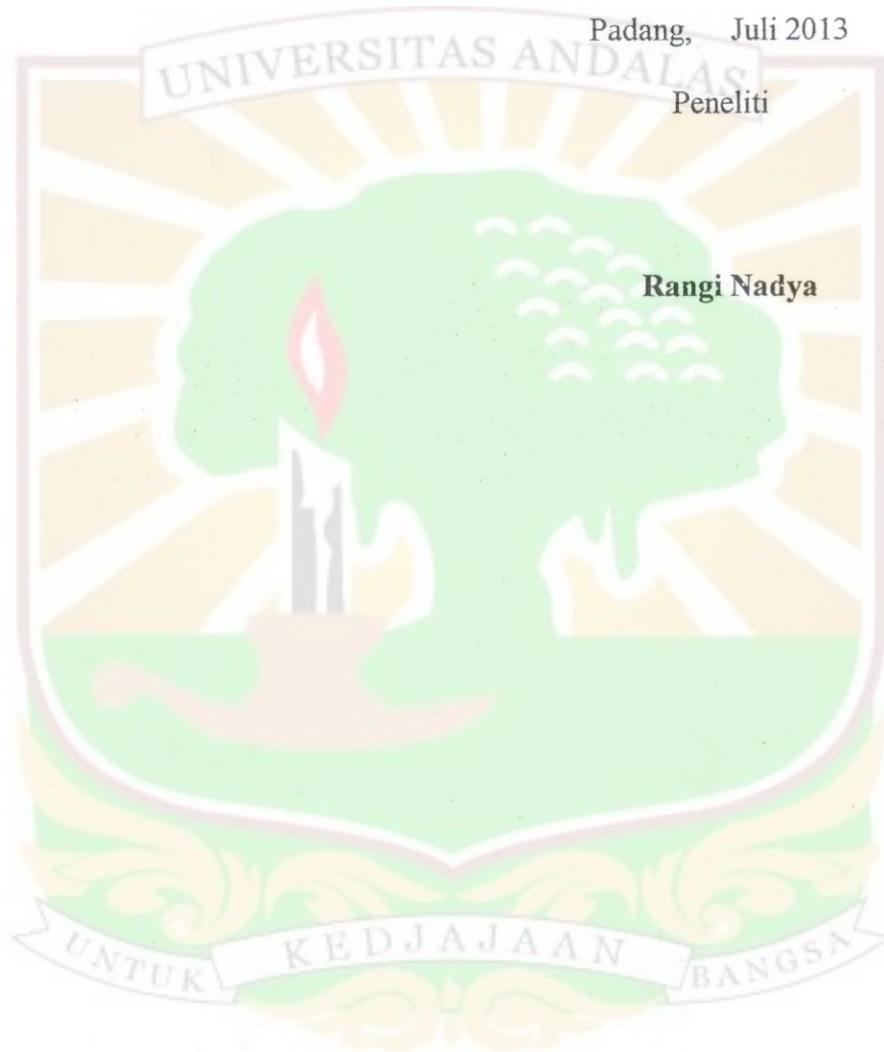
Peneliti menyadari dalam penyusunan tesis ini masih ada kekurangannya, untuk itu peneliti berharap adanya kritikan dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi kesempurnaan tesis ini.

Akhirnya atas semua bimbingan, arahan dan bantuan yang telah diberikan, peneliti hanya bisa berdo'a semoga budi baiknya akan dibalas oleh Allah SWT, Amin.

Padang, Juli 2013

Peneliti

**Rangi Nadya**



PENGARUH EKSTRAK JINTAN HITAM TERHADAP KADAR  
MELONDIALDEHIDE DAN AKTIFITAS KATALASE PADA  
TIKUS PUTIH HIPERGLIKEMIA

Oleh :  
Rangi Nadya

Pembimbing  
(Prof. DR.dr. Fadil. Oenzil, PhD, SpGK dan Prof. DR. dr. H. Nasrul Zubir, SpPD-  
KGEH FINASIM)

RINGKASAN

Diabetes melitus adalah suatu keadaan dimana terdapat kadar gula yang berlebihan dalam peredaran darah, dan ini terjadi karena badan kekurangan suatu hormon yang disebut insulin, dan hormon itu yang diperlukan untuk menukar gula kedalam tenaga pada badan kita. Akibatnya ialah glukosa bertumpuk di dalam darah (hiperglikemia) dan akhirnya disekresikan lewat kemih tanpa digunakan (glycosuria). Karena itu produksi kemih sangat meningkat dan pasien harus sering kencing (poliuria), merasa sangat haus (polidipsia), berat badan menurun dan cepat lelah. Penyakit diabetes juga sebagai penyakit keturunan atau kadang bisa muncul diluar faktor keturunan.

Diabetes Melitus (DM) adalah suatu keadaan dimana terdapat kadar gula yang berlebihan dalam peredaran darah, dan ini terjadi karena badan kekurangan suatu hormon yang disebut hormon insulin, dan hormon ini diperlukan untuk menukar gula kedalam tenaga pada tubuh manusia (Adiningsih, 2011). Untuk membuat kondisi hiperglikemia pada binatang percobaan lazim diinduksi aloksan. Aloksan cepat menimbulkan efek hiperglikemia dalam waktu 2 sampai 3 hari, dimana aloksan secara selektif merusak sel pulau langerhans dalam pankreas yang mensekresi hormon insulin (Suharmiati, 2003).

Hiperglikemia pada diabetes melitus menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas terutama ROS dari berbagai jaringan yang berasal dari proses autooksidasi dan glikosilasi protein. Radikal bebas merupakan hasil dari produk normal metabolisme sel, namun pada beberapa keadaan dapat menimbulkan gangguan keseimbangan antara produksi ROS dan mekanisme pertahanan seluler yang mengakibatkan disfungsi sel dan kerusakan sel. Peningkatan kadar ROS pada diabetes dapat disebabkan karena peningkatan produksi atau penurunan antioksidan enzimatis maupun nonenzimatis. Untuk mengantisipasi terjadinya komplikasi pada penyakit DM akibat dari radikal bebas, maka diperlukan antioksidan eksogen, salah satu antioksidan yang terdapat pada ekstrak jintan hitam. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam terhadap kadar MDA dan aktifitas katalase pada tikus putih strain wistar hiperglikemia.

Senyawa yang sering dijadikan petunjuk adanya kerusakan akibat radikal bebas ini adalah Malondialdehid (MDA), glutathion (GSH) dan enzim katalase. MDA merupakan metabolit hasil peroksidasi lipid oleh radikal bebas. GSH memegang peranan dalam reaksi penguraian peroksida menjadi air. Enzim katalase memiliki

peranan proses penguraian peroksidase menjadi air dan oksigen. MDA merupakan salah satu senyawa yang dapat menggambarkan aktivitas oksidan (radikal bebas) dalam sel, sedangkan glutathion dan katalase menggambarkan aktivitas anti oksidan dalam sel (Asni, 2009).

Efek radikal bebas pada penderita diabetes militus kemungkinan akan menyebabkan komplikasi, maka diperlukan suatu antioksidan (Setiawan dan Suhartono, 2005). Antioksidan adalah senyawa-senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan (Suryohandono, 2005). Berdasarkan sumbernya antioksidan ada dua, yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen berasal dari dalam tubuh sendiri, yang terdiri dari super Oksida Dismutase (*SOD*), *glutathion peroksidase*, dan katalase. Antioksidan eksogen diperoleh dari luar melalui makanan yang kita makan untuk membantu tubuh melawan kelebihan radikal bebas dalam tubuh. Peningkatan suplai antioksidan yang cukup akan membantu pencegahan komplikasi klinis terjadinya DM (Setiawan dan Suhartono, 2005).

Studi epidemiologi menunjukkan bahwa beberapa tanaman dan buah-buahan terbukti bermanfaat melindungi tubuh manusia terhadap bahaya radikal bebas (Soong dan Barlow, 2004 *cit* Rohman dan Riyanto, 2006). Hal ini dikarenakan potensi antioksidan yang terdapat dalam tanaman dan buah-buahan tersebut, seperti karoten, fitosterol, flavonoid dan komponen fenolik lain (Ames *et al.*, 1993 *cit* Teow *et al.*, 2006), juga vitamin C dan E (Frei, 1999 *cit* Windono *et al.*, 2001). Salah satu tanaman yang mengandung antioksidan tersebut adalah jintan hitam (*Nigella Sativa*) yang lebih familiar dikenal dengan Habattussaudah.

Jintan hitam mempunyai efek hipoglikemik karena mempunyai kandungan MUFA dan PUFA yang tinggi. Diet dengan tinggi MUFA dan PUFA dapat memperbaiki metabolisme glukosa dan menurunkan resistensi insulin (Astrup, 2008; Alsaif, 2004).

Di samping itu, *thymoquinone* 30,8% dan kombinasi senyawa-senyawa lain dalam jintan hitam dapat meningkatkan sensitivitas insulin di jaringan tubuh dan memperbaiki kerusakan sel  $\beta$  pankreas sehingga meningkatkan sekresi insulin (Kanter, 2003; Benhaddou-Andaloussi *et al.*, 2008). Dengan demikian jintan hitam diharapkan mampu menurunkan kadar glukosa dalam darah pada penderita diabetes. Thymoquinone dapat bekerja langsung menstimulasi aktivitas beberapa enzim antioksidan di dalam tubuh diantaranya *superoxide dismutase (SOD)*, *glutathione peroxidase (GPx)*, dan *catalase (CAT)* (John Wiley and Sons, 2002).

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan rancangan penelitian post test only control group design. Sampel dari penelitian ini adalah tikus putih jantan yang dipilih secara acak yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan berkisar 200-300 gram.

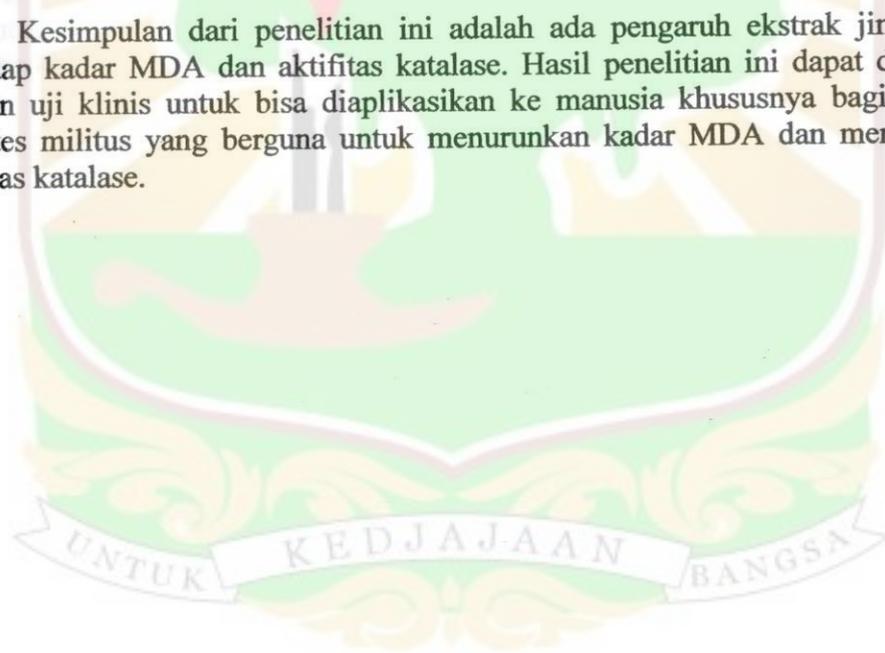
Hasil penelitian diolah secara statistik dengan menggunakan uji analisis of varian (ANOVA) dengan derajat kepercayaan 95%. Jika didapatkan hasil yang bermakna, maka uji statistik dilanjutkan dengan uji multipel comparison (post hoc test bonfferoni). Penelitian ini dilakukan di laboratorium biokimia dan farmakologi UNAND pada bulan Desember 2012 sampai Februari 2013.

Penurunan kadar MDA setelah dilakukan pemberian ekstrak jintan hitam dengan beberapa tingkat dosis, dapat dilihat rata-rata kelompok kontrol negatif adalah  $10,02 \pm 0,38$  nmol/ml, kelompok kontrol positif adalah  $14,37 \pm 0,63$

nmol/ml, kelompok perlakuan I dengan dosis 7,2 mg didapatkan hasil  $12,13 \pm 0,40$ , kelompok perlakuan 2 dengan dosis 14,4 mg didapatkan hasil  $10,43 \pm 0,55$  dan kelompok perlakuan 3 dengan dosis 21,6 mg didapatkan hasil  $10,94 \pm 0,53$ . Hal ini menunjukkan bahwa secara statistik dengan menggunakan uji Anova menunjukkan adanya hubungan yang signifikan ( $p < 0,05$ ). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak jintan hitam berpengaruh secara statistik terhadap penurunan kadar MDA.

Peningkatan aktifitas katalase didapatkan rata-rata kelompok kontrol negatif adalah  $11,68 \pm 0,73$  unit/mg, kelompok kontrol positif adalah  $9,28 \pm 0,53$  unit/mg, kelompok perlakuan I dengan dosis 7,2 mg didapatkan hasil  $10,14 \pm 0,74$  unit/mg, kelompok perlakuan 2 dengan dosis 14,4 mg didapatkan hasil  $11,26 \pm 0,49$  unit/mg dan kelompok Perlakuan 3 dengan dosis 21,6 mg didapatkan hasil  $10,48 \pm 0,30$  unit/mg. Dari hasil uji ANOVA diperoleh *p value* sebesar 0,0005 ( $p < 0,05$ ) yang berarti ada pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam terhadap peningkatan aktifitas katalase pada tikus hiperglikemia pada kelompok perlakuan 1 dengan dosis 7,2 mg dan pada kelompok perlakuan 2 dengan dosis 14,4 mg sedangkan pada kelompok perlakuan 3 dengan dosis 21,6 mg terjadi penurunan aktifitas katalase. Hal ini menunjukkan bahwa secara statistik dengan menggunakan uji Anova menunjukkan adanya hubungan yang signifikan ( $p < 0,05$ ). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak jintan hitam berpengaruh secara statistik terhadap peningkatan aktifitas katalase.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ada pengaruh ekstrak jintan hitam terhadap kadar MDA dan aktifitas katalase. Hasil penelitian ini dapat dilanjutkan dengan uji klinis untuk bisa diaplikasikan ke manusia khususnya bagi penderita diabetes militus yang berguna untuk menurunkan kadar MDA dan meningkatkan aktifitas katalase.



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tanaman Jintan Hitam .....	24
2.2 Biji Tanaman Jintan Hitam.....	24



## DAFTAR BAGAN

Halaman

3.1	Kerangka konsep .....	27
4.7	Alur penelitian .....	36



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan suatu penyakit metabolik dengan karakteristik meningkatnya kadar glukosa darah yang terjadi karena kerusakan dan disfungsi beberapa organ tubuh, khususnya pankreas (Gustaviani, 2007). Menurut WHO (*World Health Organization*), prevalensi diabetes melitus terus mengalami peningkatan. Peningkatan tertinggi jumlah penderita diabetes justru terjadi di Asia Tenggara, khususnya Indonesia yang menempati peringkat 4 dunia dengan jumlah penderita 14 juta orang pada tahun 2006 (Soegondo, 2007).

Diabetes melitus adalah suatu keadaan dimana terdapat kadar gula yang berlebihan dalam peredaran darah, dan ini terjadi karena badan kekurangan suatu hormon yang disebut insulin, dan hormon itu yang diperlukan untuk menukar gula kedalam tenaga pada badan kita. Akibatnya ialah glukosa bertumpuk di dalam darah (*hiperglikemia*) dan akhirnya disekresikan lewat kemih tanpa digunakan (*glycosuria*). Karena itu produksi kemih sangat meningkat dan pasien harus sering kencing (*poliuria*), merasa sangat haus (*polidipsia*), berat badan menurun dan cepat lelah. Penyakit diabetes juga sebagai penyakit keturunan atau kadang bisa muncul diluar faktor keturunan.

Besarnya insidensi, prevalensi, dan komplikasi diabetes melitus menggambarkan betapa pentingnya pencegahan dan penatalaksanaan dini penyakit tersebut. Oleh karena itu diperlukan suatu pemeriksaan untuk mendiagnosa

diabetes melitus. Adapun pemeriksaan kadar glukosa darah menjadi pilihan utama. Peningkatan glukosa darah sebanding dengan peningkatan radikal bebas di dalam tubuh sehingga memicu berbagai komplikasi (Abbas and Maitra, 2005). Salah satu cara penyebab terjadinya peningkatan glukosa darah yaitu dengan menginjeksi aloksan. Aloksan merupakan radikal bebas yang secara cepat dan selektif merusak sel-sel beta pankreas yang mengakibatkan kondisi diabetes melitus eksperimental tipe 1 pada hewan coba (Lenzen, 2008).

Hiperglikemia pada DM terlibat dalam pembentukan radikal bebas. Hiperglikemia menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktifitas jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas. Hal ini merupakan awal kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stres oksidatif. Dampak negatif pada membran sel akan terjadi reaksi ini, yaitu terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang toksik terhadap sel, antara lain Malondiadehid (MDA), etena, dan pentena (Suryodono, 2000).

Senyawa yang sering dijadikan petunjuk adanya kerusakan akibat radikal bebas ini adalah Malondialdehid (MDA), glutathione (GSH) dan enzim katalase. MDA merupakan metabolit hasil peroksidasi lipid oleh radikal bebas. GSH memegang peranan dalam reaksi penguraian peroksida menjadi air. Enzim katalase memiliki peranan proses penguraian peroksidase menjadi air dan oksigen. MDA merupakan salah satu senyawa yang dapat menggambarkan aktivitas

oksidan (radikal bebas) dalam sel, sedangkan glutathion dan katalase menggambarkan aktivitas anti oksidan dalam sel (Asni, 2009).

Untuk mengantisipasi efek radikal bebas pada penderita DM dan kemungkinan terjadi komplikasi, maka diperlukan suatu antioksidan (Setiawan dan Suhartono, 2005). Antioksidan adalah senyawa-senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan (Suryohandono, 2005). Berdasarkan sumbernya antioksidan ada 2, yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen berasal dari dalam tubuh sendiri, terdiri dari super Oksida Dismutase (SOD), glutathion peroksidase, dan katalase. Antioksidan eksogen diperoleh dari luar melalui makanan yang kita makan untuk membantu tubuh melawan kelebihan radikal bebas dalam tubuh. Peningkatan suplai antioksidan yang cukup akan membantu pencegahan komplikasi klinis DM (Setiawan dan Suhartono, 2005).

Penelitian lain melaporkan penggunaan ekstrak etanol salah satunya penggunaan ekstrak etanol 70% pada biji mahoni dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (Linguat, 2008). Ekstrak etanoi 70% adalah campuran dua bahan pelarut yaitu etanol dan air dengan kadar etanol 70%. Etanol 70 % sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal (Siswono, 2008).

Pengelolaan diabetes melitus pertama kali adalah dengan pendekatan nonfarmakologis (Yunir dan Soebardi, 2006). Namun bila belum berhasil, pengelolaan dilanjutkan dengan intervensi farmakologis.

Intervensi farmakologis dapat dilakukan dengan terapi medikamentosa maupun dengan memanfaatkan tanaman obat. Sampai sekarang, diperkirakan

masyarakat di hampir seluruh wilayah Indonesia, masih memanfaatkan bermacam tanaman sebagai metode alternatif untuk pengobatan kesehatan tubuh (Tukiman, 2004). Pemanfaatan tanaman sebagai sumber obat-obatan dilakukan dengan memanfaatkan ekstrak tanaman dan komponen bioaktif yang terkandung dalam tanaman. Tanaman tersebut digunakan secara langsung untuk pengobatan maupun sebagai bahan baku pembuatan obat-obatan yang diolah dengan teknologi (Latumahina, 2008).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai tanaman obat adalah jintan hitam (*Nigella Sativa*). Biji dari tanaman ini memiliki kandungan kimia *fixed oil* berupa asam linoleat, asam oleat, asam palmitat, asam stearat asam laurat, asam miristat serta asam linolenat (Nickavar *et al*, 2003).

Pemberian ekstrak n-heksana jintan hitam atau jintan hitam mentah dapat menormalkan konsentrasi serum glukosa dan kolesterol yang tinggi pada tikus diabetes (Khanam & Dewan, 2008).

Jintan hitam memiliki memiliki efek menguntungkan pada glukosa darah puasa, kolesterol total, dan kolesterol LDL. Jinten hitam merupakan obat yang mungkin terbukti bermanfaat dalam pencegahan dan pengobatan sindrom resistensi insulin (Ahmad *et al.*, 2008).

Kandungan asam lemak tidak jenuh tunggal (*Mono Unsaturated Fatty Acid* =MUFA) dan asam lemak tidak jenuh ganda (*Poli Unsaturated Fatty Acid* = PUFA) dalam jintan hitam lebih besar daripada asam lemak jenuh (*saturated fatty acid*). Jintan hitam juga mengandung *volatil oil* yang komponen utamanya adalah *thymoquinone* (Al-Majed *et al*, 2006).

Studi epidemiologi menunjukkan bahwa beberapa tanaman dan buah-buahan terbukti bermanfaat melindungi tubuh manusia terhadap bahaya radikal bebas (Soong dan Barlow, 2004 *cit* Rohman dan Riyanto, 2006). Hal ini dikarenakan potensi antioksidan yang terdapat dalam tanaman dan buah-buahan tersebut, seperti karoten, fitosterol, flavonoid dan komponen fenolik lain (Ames *et al.*, 1993 *cit* Teow *et al.*, 2006), juga vitamin C dan E (Frei, 1999 *cit* Windono *et al.*, 2001). Salah satu tanaman yang mengandung antioksidan tersebut adalah jintan hitam (*Nigella Sativa*) yang lebih familiar dikenal dengan Habattussaudah.

Jintan hitam diketahui mempunyai banyak efek farmakologis seperti antiinflamasi, analgesik, antipiretik, antimikroba, antihelmentik, antikanker, diuretik, bronkodilator, immunostimulator, hepatoprotektor, renoprotektor, antidiare, antidiabetes (efek hipoglikemik), antihipertensi, spasmolitik, dan antioksidan (Yulianti dan Junaedi, 2006; Meral *et al.*, 2004).

Penelitian yang dilakukan oleh Tissera MHA *et. al.* Tahun 1998 terhadap 55 penderita diabetes, dari hasil studi disimpulkan bahwa terjadi penurunan kadar gula darah secara bermakna pada 72,7% dari penderita diabetes yang mengkonsumsi minyak jintan hitam dengan dosis pemberian 2 x 0,5 sendok teh (2,5ml/hari) dengan cara diminum selama 1 bulan (Widyaningrum, 2012).

Penelitian lain yang dilakukan oleh Wardhana tahun 2010 tentang ekstrak jintan hitam (*nigella sativa*) sebagai tindakan preventif meningkatnya kadar glukosa darah tikus putih (*rattus norvegicus*) yang diinjeksi aloksan, dimana setiap kelompok perlakuan diberikan dosis bertingkat dan hasilnya terdapat penurunan kadar gula darah secara bermakna 68,15%.

Jintan hitam mempunyai efek hipoglikemik karena mempunyai kandungan MUFA dan PUFA yang tinggi. Diet dengan tinggi MUFA dan PUFA dapat memperbaiki metabolisme glukosa dan menurunkan resistensi insulin (Astrup, 2008; Alsaif, 2004).

Di samping itu, *thymoquinone* 30,8% dan kombinasi senyawa-senyawa lain dalam jintan hitam dapat meningkatkan sensitivitas insulin di jaringan tubuh dan memperbaiki kerusakan sel  $\beta$  pankreas sehingga meningkatkan sekresi insulin (Kanter, 2003; Benhaddou-Andaloussi *et al*, 2008). Dengan demikian jintan hitam diharapkan mampu menurunkan kadar glukosa dalam darah pada penderita diabetes. Thymoquinone dapat bekerja langsung menstimulasi aktivitas beberapa enzim antioksidan di dalam tubuh diantaranya *superoxide dismutase (SOD)*, *gluthanione peroxidase (GPx)*, dan *catalase (CAT)* (John Wiley and Sons, 2002).

Hingga kini belum banyak penelitian mengenai khasiat antioksidan pada ekstrak jintan hitam, dimana dapat dijadikan sebagai alternatif obat alami dalam kehidupan sehari – hari. Berdasarkan hal tersebut maka peneliti tertarik untuk meneliti mengenai Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Kadar Malondialdehyde (*MDA*) Dan Aktifitas Katalase Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Strain Wistar DM Yang Diinduksi Aloksan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah :

- 1.2.1. Apakah ada pengaruh ekstrak jintan hitam terhadap kadar Melondialdehyde tikus putih hiperglikemi

- 1.2.2. Apakah ada pengaruh ekstrak jintan hitam terhadap Aktifitas Katalase Tikus Putih hiperglikemi

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1. Tujuan Umum.

Mengetahui pengaruh ekstrak jintan hitam terhadap kadar Malondialdehide (*MDA*) dan aktifitas katalase pada tikus putih hiperglikemi

#### 1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui pengaruh ekstrak jintan hitam terhadap kadar *MDA* darah tikus putih hiperglikemi
- b. Mengetahui pengaruh ekstrak jintan hitam terhadap aktifitas katalase darah tikus putih hiperglikemi

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Pengembangan Ilmu Pengetahuan

- a. Menambah dasar ilmiah tentang penggunaan ekstrak Jintan Hitam.
- b. Memberikan data penguat yang mendukung manfaat ekstrak jintan hitam terhadap dunia medis, sehingga menjadi pertimbangan untuk penelitian selanjutnya.

#### 1.4.2 Bagi Kepentingan Masyarakat

Jintan hitam dapat digunakan sebagai pengobatan diabetes melitus

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Hiperglikemia

##### 2.1.1 Pengertian

Hiperglikemia merupakan keadaan peningkatan glukosa darah dari pada rentang kadar puasa normal 80 – 90 mg / dl darah, atau rentang non puasa sekitar 140 – 160 mg /100 ml darah berpendapat bahwa hiperglikemia adalah terdapatnya glukosa dengan kadar yang tinggi didalam darah (rentang normal kadar glukosa darah adalah 3,0-5,0 mmol/ liter). Hiperglikemi merupakan tanda yang biasanya menunjukkan penyakit diabetes mellitus.

##### 2.1.2 Etiologi

Penyebab tidak diketahui dengan pasti tapi umumnya diketahui kekurangan insulin adalah penyebab utama dan faktor herediter yang memegang peranan penting. Yang lain akibat pengangkatan pancreas, pengrusakan secara kimiawi sel beta pulau langerhans.

##### 2.1.2 Patofisiologi

Hiperglikemia dapat disebabkan defisiensi insulin yang dapat disebabkan oleh proses autoimun, kerja pankreas yang berlebih, dan herediter. Insulin yang menurun mengakibatkan glukosa sedikit yang masuk kedalam sel. Hal itu bisa menyebabkan lemas dengan kadar glukosa dalam darah meningkat. Kompensasi tubuh dengan meningkatkan glucagon sehingga terjadi proses glukoneogenesis. Selain itu tubuh akan menurunkan penggunaan glukosa oleh otot, lemak dan hati

serta peningkatan produksi glukosa oleh hati dengan pemecahan lemak terhadap kelaparan sel. Hiperglikemia dapat meningkatkan jumlah urin yang mengakibatkan dehidrasi sehingga tubuh akan meningkatkan rasa haus (polydipsi). Penggunaan lemak untuk menghasilkan glukosa memproduksi badan keton yang dapat mengakibatkan anorexia (tidak nafsu makan), nafas bau keton dan mual (nausea) hingga terjadi asidosis.

Dengan menurunnya insulin dalam darah asupan nutrisi akan meningkat sebagai akibat kelaparan sel. Menurunnya glukosa intrasel menyebabkan sel mudah terinfeksi. Gula darah yang tinggi dapat menyebabkan penimbunan glukosa pada dinding pembuluh darah yang membentuk plak sehingga pembuluh darah menjadi keras (arteriosklerosis) dan bila plak itu terlepas akan menyebabkan terjadinya thrombus. Thrombus ini dapat menutup aliran darah yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit lain (tergantung letak tersumbatnya, misal cerebral dapat menyebabkan stroke, ginjal dapat menyebabkan gagal ginjal, jantung dapat menyebabkan miocard infark, mata dapat menyebabkan retinopati) bahkan kematian.

### **2.1.3 Manifestasi Klinik**

Gejala awal umumnya yaitu ( akibat tingginya kadar glukosa darah) :

- a. Polipagi
- b. Polidipsi
- c. Poliuri
- d. Kelainan kulit, gatal-gatal, kulit kering
- e. Rasa kesemutan, kram otot

- f. Visus menurun
- g. Penurunan berat badan
- h. Kelemahan tubuh
- i. Luka yang tidak sembuh-sembuh

## **2.2 Diabetes melitus (DM)**

### **2.2.1 Sejarah Penyakit Diabetes Millitus**

Penyakit kencing manis telah dikenal ribuan tahun sebelum masehi. Dalam manuskrip yang ditulis George Ebers di Mesir sekitar tahun 1550 SM kemudian dikenal sebagai Papirus Ebers, mengungkapkan beberapa pengobatan terhadap suatu penyakit dengan gejala sering kencing yang memberi kesan diabetes. Demikian pula dalam buku India Aryurveda 600 sM penyakit ini telah dikenal. Dikatakan bahwa penyakit ini dapat bersifat ganas dan berakhir dengan kematian penderita dalam waktu singkat. Dua ribu tahun yang lalu Aretaeus sudah memberikan adanya suatu penyakit yang ditandai dengan kencing yang banyak dan dianggapnya sebagai penyakit yang penuh rahasia dan menamai penyakit itu diabetes dari kata diabere yang berarti siphon atau tabung untuk mengalirkan cairan dari satu tempat ke tempat lain. Ia berpendapat bahwa penyakit itu demikian ganas, sehingga penderita seolah-olah dihancurkan dan dibuang melalui air seni. Cendekiawan Cina dan India pada abad 3 s/d 6 juga menemukan penyakit ini, dan mengatakan bahwa urin pasien-pasien itu rasanya manis. Willis pada tahun 1674 melukiskan urin tadi seperti digelimangi madu dan gula. Sejak itu penyakit itu ditambah dengan kata mellitus yang artinya madu. Ibnu Sina pertama kali melukiskan gangrene diabetic pada tahun 1000. Pada tahun Von Mehring dan

Minkowski mendapatkan gejala diabetes pada anjing yang diambil pancreasnya. Akhirnya pada tahun 1921 dunia dikejutkan dengan penemuan insulin oleh seorang ahli bedah muda Frederick Grant Banting dan asistennya yang masih mahasiswa Charles Herbert Best di Toronto. Tahun 1954-1956 ditemukan tablet jenis sulfonylurea generasi pertama yang dapat meningkatkan produksi insulin. Sejak itu banyak ditemukan obat seperti sulfonylurea generasi kedua dan ketiga serta golongan lain seperti biguanid dan penghambat glukosidase alfa (Subekti, 2009).

### **2.2.2 Defenisi**

Diabetes melitus (DM) sangat tepat didefenisikan sebagai serangkaian gangguan atau sindrom dimana tubuh tidak mampu mengatur secara tepat pengolahan, atau metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Ini disebabkan oleh kekurangan baik sebagian maupun mutlak insulin hormon penting, yang dihasilkan dan dilepas oleh sel-sel khusus yang dikenal sebagai sel beta yang terletak di pankreas. Dimana pankreas ini merupakan sebuah kelenjer yang terletak diantara duodenum dengan limfa dan berada dibelakang perut dengan panjang sekitar 15 cm, pankreas ini mengandung dua jenis sel utama di mana keduanya menghasilkan sekresi (penggetahan) (McWright, 2008).

### **2.2.3 Prevalensi**

DM merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas, selain itu DM juga mempunyai pengaruh yang sangat besar dalam alokasi biaya untuk pelayanan kesehatan. Prevalensi penyakit DM telah mencapai tingkat atau proporsi epidemik

di beberapa negara dan menjadi sebuah perhatian yang penting dalam dunia kesehatan. Di Amerika Serikat DM diderita oleh 8% dari populasi penduduk usia dewasa pada tahun 2005 (Dramono, 2007).

#### 2.2.4 Klasifikasi

- Diabetes melitus yang tergantung pada insulin (IDDM atau DM tipe I)

Diabetes melitus tipe I atau diabetes anak-anak dicirikan dengan hilangnya sel beta penghasil insulin pada pulau-pulau langerhans pankreas sehingga terjadi kekurangan insulin pada tubuh. Diabetes tipe ini dapat diderita oleh anak-anak sampai orang dewasa. Diabetes tipe I tidak dapat dicegah. Diet dan olahraga tidak bisa menyembuhkan ataupun mencegah diabetes tipe I. Penderita diabetes tipe I memiliki kesehatan dan berat badan yang baik saat penyakit diabetes tipe I mulai dideritanya. Penyebab kehilangan sel beta pada diabetes tipe I adalah kesalahan reaksi autoimunitas yang menghancurkan sel beta pankreas. Reaksi autoimunitas tersebut dapat dipicu oleh adanya infeksi pada tubuh. Diabetes tipe I hanya dapat diobati dengan menggunakan insulin, yaitu dengan cara pengawasan yang teliti terhadap tingkat glukosa darah melalui alat monitor pengujian darah

- Diabetes melitus yang tidak tergantung pada insulin (NIDDM atau diabetes tipe II)

Diabetes melitus tipe II terjadi karena kombinasi dari kecacatan dalam produksi insulin dan resistensi terhadap insulin atau berkurangnya sensitifitas terhadap insulin (adanya defekasi respon jaringan terhadap insulin) yang melibatkan reseptor insulin di membran sel. DM tipe II ini disebabkan oleh kurang sensitifnya jaringan tubuh terhadap insulin.

- Diabetes melitus Gestational

DM dalam kehamilan (Gestational Diabetes Melitus – GDM) adalah kehamilan normal yang disertai dengan peningkatan insulin resistance. Diabetes melitus gestational diartikan sebagai intoleransi glukosa yang ditemukan pada saat hamil dan diperkirakan insidens sebesar 1-3%. (Ardianto, 2009).

#### 2.2.5 Patofisiologi

Pankreas yang disebut kelenjar ludah perut, adalah kelenjar penghasil insulin yang terletak di belakang lambung. Di dalamnya terdapat kumpulan sel yang berbentuk seperti pulau pada peta, karena itu disebut pulau-pulau Langerhans yang berisi sel beta yang mengeluarkan hormone insulin yang sangat berperan dalam mengatur kadar glukosa darah.

Insulin yang dikeluarkan oleh sel beta tadi dapat diibaratkan sebagai anak kunci yang dapat membuka pintu masuknya glukosa ke dalam sel, untuk kemudian di dalam sel glukosa tersebut dimetabolisasikan menjadi tenaga. Bila insulin tidak ada, maka glukosa dalam darah tidak dapat masuk ke dalam sel dengan akibat kadar glukosa dalam darah tidak dapat masuk ke dalam sel dengan akibat kadar glukosa dalam darah meningkat. Keadaan inilah yang terjadi pada diabetes mellitus tipe 1. Pada keadaan diabetes mellitus tipe 2, jumlah insulin bisa normal, bahkan lebih banyak, tetapi jumlah reseptor (penangkap) insulin di permukaan sel kurang.

### 2.3 Stres Oksidatif

Stres oksidatif adalah keadaan di mana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralsirnya. Akibatnya intensitas proses oksidasi sel-sel tubuh normal menjadi semakin tinggi dan menimbulkan kerusakan yang lebih banyak. Literatur medis membuktikan bahwa stres oksidatif adalah penyebab utama penuaan dini dan timbulnya penyakit kronis seperti kanker, penyakit jantung, alzheimer, dan lain-lain. Stres oksidatif dapat dicegah dan dikurangi dengan asupan antioksidan yang cukup dan optimal ke dalam tubuh. Transformasi protein yang terjadi akibat stres oksidatif dapat mengakibatkan disfungsi protein, kerusakan jaringan dan berkembangnya berbagai jenis penyakit. Beberapa senyawa organik yang umumnya menyebabkan stres oksidatif, dihasilkan oleh reaksi oksidasi berbagai jenis *polyunsaturated fatty acid* (PUFA), antara lain senyawa dengan gugus karbonil tak jenuh jenis alfa, beta seperti *4-hydroxy-2-nonenal* (HNE), *4-oxo-2-nonenal* (ONE), dan akrolein. Senyawa dari golongan aldehida ini dapat menyebabkan *adduct* intramolekular atau intermolekular terhadap protein. Beberapa studi *mass spectrometric* yang mengamati reaksi pada protein yang terpapar oleh aldehida murni atau PUFA yang ter-peroksidasi menunjukkan bahwa pada awal paparan terjadi Michael dan Schiff *adduct*, namun hanya Michael *adduct* yang terjadi antara residu Cys dan His, dengan senyawa turunan HNE dan ONE, yang dapat bertahan terhadap reaksi proteolisis. Variasi produk *adduct* yang lain akan mengalami transformasi melalui berbagai proses seperti tautomerisasi, oksidasi, siklisasi, dehidrasi, dan terkadang juga kondensasi dengan molekul aldehida yang lain, hingga terbentuk senyawa *advanced lipoxidation end products* (ALE) yang stabil (Wikipedia, 2011).

## 2.4 Radikal Bebas

### 2.4.1 Radikal Bebas dan oksidan

Dalam kepustakaan kedokteran, pengertian radikal bebas dan oksidan sering dibaurkan karena keduanya memiliki sifat – sifat yang mirip. Sifat radikal bebas yang mirip dengan oksidan terletak pada kecenderungannya untuk menarik elektron. Jadi, sama halnya dengan oksidan, radikal bebas adalah penerima elektron. Aktifitas kedua jenis senyawa ini sering menghasilkan akibat yang sama walaupun prosesnya berbeda. Radikal bebas adalah oksidan, tetapi tidak setiap oksidan adalah radikal bebas ( Suryohandono, 2000: Syahbudin, 2000 ).

### 2.4.2 Reaksi Pembentukan Radikal Bebas

Seluruh reaksi radikal bebas dapat dijabarkan menjadi 3 tahap, yaitu :

#### 1. Inisiasi

Pada tahap ini dengan adanya oksigen bebas akan terjadi pengambilan atom H dari *poly unsaturated fatty acid* ( PUFA ) yang terdapat pada membran sel sehingga menyebabkan kerusakan pada sel.

#### 2. Propagasi



Hasil dari reaksi ini akan menjadi inisiator baru untuk bereaksi dengan PUFA yang lain sehingga menghasilkan produk radikal baru.

#### 3. Terminasi



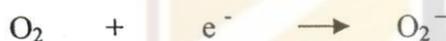
( Suryohandono, 2000 )

Tahap ini mengkombinasikan dua radikal menjadi suatu produk non radikal. Derajat peroksidasi lipid dapat ditunjukkan dengan kadar MDA yang merupakan produk akhir dari peroksidasi PUFA (Murray et al, 2000).

### 2.4.3 Senyawa Oksigen Reaktif

Oksigen yang terlibat dalam berbagai proses patologis sebagian besar justru berasal dari proses biologis alami dan melibatkan senyawa yang disebut dengan senyawa oksigen reaktif (*reaktive oxygen compound*), yang dalam bentuk seperti radikal hidroksil ( $^1O_2$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), dan ion hipoklorit ( $ClO^-$ ) (Suryohandono, 2000)

Oksigen kalau mendapat tambahan elektron ( mengalami reduksi ) akan menghasilkan radikal ion superoksida.



Senyawa radikal ini merupakan radikal bebas yang lemah. Dalam keadaan normal, sekitar 1 – 3 % dari oksigen yang kita pakai digunakan untuk membentuk superoksida. Ion superoksida dengan bantuan superoksida dismutase akan diubah menjadi hidrogen peroksida.

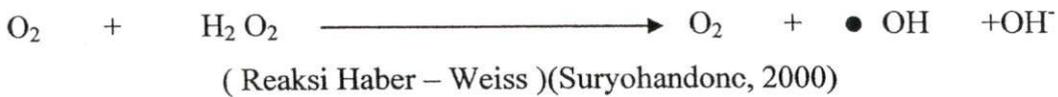


Hidrogen peroksida merupakan senyawa yang penting karena senyawa ini dapat terurai dengan mudah, khususnya kalau terdapat ion metal transisi sehingga terbentuk radikal hidroksil, radikal jenis ini paling reaktif dan paling merusak.



( Reaksi Fenton )

Reaksi antara Fe dengan H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> yang menghasilkan radikal hidroksil, disebut dengan reaksi fenton. Keberadaan senyawa oksigen reaktif bersamaan dengan H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> juga menghasilkan radikal hidroksil melalui reaksi Haber Weiss, yang memerlukan Fe<sup>3+</sup> dan Cu<sup>2+</sup>Fe<sup>3+</sup> (Cu<sup>2+</sup>)



#### 2.4.4 Dampak Negatif Senyawa Oksigen Reaktif

Senyawa – senyawa oksigen reaktif semuanya merupakan oksidan yang kuat, walaupun derajat kekuatannya berbeda – beda. Di antara senyawa oksigen reaktif, radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling berbahaya karena rekatifitasnya sangat tinggi. Radikal hiroksil dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel, yaitu :

1. Asam lemak, khususnya asam lemak tak jenuh yang merupakan komponen penting fosfolipid penyusun membran sel.

Komponen terpenting membran sel adalah fosfolipid, glikolipid, dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh ini ( asam – asam linoleat, linoleat, dan arakidonat ) sangat rawan serangan– serangan radikal, terutama radikal hidroksil. Radikal hidroksil dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan nama peroksidasi lipid.

Akibat akhir dari rantai reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain berbagai macam aldehida, seperti *malondialdehida* ( MDA ), 9 – hidroksi – noneal serta bermacam – macam hidrokarbon, seperti etana ( C<sub>2</sub> H<sub>6</sub> ) dan pentane ( C<sub>5</sub> H<sub>12</sub> ). Dapat pula terjadi ikatan silang ( *cross* –

*linking* ) antara dua rantai asam lemak atau antara asam lemak dan rantai peptida yang timbul karena reaksi dua radikal :

Semuanya itu menyebabkan kerusakan parah membran sel sehingga membahayakan kehidupan sel.

2. DNA, yang merupakan perangkat genetik sel.

Radikal bebas dapat menimbulkan berbagai perubahan pada DNA, antara lain berupa : hidrosilasi timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin, serta terputusnya rantai fosfodiester DNA. Bila kerusakan tidak terlalu parah, maka masih bisa diperbaiki oleh system perbaikan DNA ( DNA repair system ). Namun apabila kerusakan terlalu parah, misalnya rantai DNA terputus – putus di berbagai tempat, maka kerusakan itu tidak dapat diperbaiki dan replikasi sel akan terganggu. Susahnya, perbaikan DNA ini justru sering menimbulkan mutasi, karena dalam perbaikan DNA, system perbaikan DNA cenderung membuat kesalahan ( *error prone* ), dan apabila mutasi ini mengenai gen – gen tertentu, maka mutasi tersebut dapat menimbulkan kanker.

3. Protein yang memegang peranan penting seperti enzim, reseptor, antibodi, dan pembentuk matrik serta sitoskeleton.

Radikal bebas dapat merusak protein karena dapat mengadakan reaksi dengan asam – asam amino yang menyusun protein. Di antara asam – asam amino penyusun protein yang paling rawan adalah sistein. Sistein mengandung gugusan sulfhidril ( SH ) dan justru gugusan inilah yang paling peka terhadap serangan radikal bebas seperti radikal hidroksil.

Pembentukan ikatan disulfida ( -S-S- ) menimbulkan ikatan intra atau antara molekul sehingga protein kehilangan fungsi biologisnya, misalnya enzim kehilangan aktifitasnya. ( Suryahandono, 2000 ).

## 2.5 Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektrolit yg dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yg dpt menimbulkan stres oksidatif (Rahmawati, 2009).

## 2.6 Melondiadehid (MDA)

MDA merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, dan biasanya digunakan sebagai *biomarker* biologis untuk menilai stres oksidatif (Suryohudoyo, 2000). Pada proses peroksidasi lipid, selain MDA terbentuk juga radikal bebas yang lain, tetapi radikal bebas tersebut mempunyai waktu paruh yang pendek sehingga sulit diperiksa dalam laboratorium (Cherubini et al., 2005). Pengukuran kadar MDA serum dapat dilakukan dengan *Test thiobarbituric acidreactive substance* (TBARS) yang berdasar pemeriksaan reaksi spektrofotometrik (Konig dan Berg, 2002).

## 2.7 Katalase

Enzim Katalase termasuk enzim hidroperoksidase, yang melindungi tubuh terhadap senyawa-senyawa peroksida yang berbahaya. Penumpukan senyawa

peroksida dapat menghasilkan radikal bebas, yang selanjutnya akan merusak membran sel dan kemungkinan menimbulkan penyakit kanker serta arterosklerosis. Memiliki kemampuan untuk inaktivasi hidrogen peroksida. Senyawa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dihasilkan oleh aktivitas enzim oksidase, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> berpotensi menimbulkan radikal karena membentuk OH.

### 2.7.1 Katalase merupakan hemoprotein yang mengandung 4 gugus hem.

**Aktivitas katalase :**

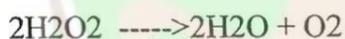
- Aktivitas peroksidase, mengoksidasi senyawa yang analog dengan substrat

Katalase



- Aktivitas katalase, enzim ini mampu menggunakan satu molekul H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sebagai substrat atau donor elektron dan molekul H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang lain sebagai oksidan atau akseptor elektron.

Katalase



Katalase ditemukan di darah, sumsum tulang, membran mukosa, ginjal dan hati. Didalam organel sel yaitu peroksisome kaya akan enzim katalase.

### 2.7.2 Beberapa kelainan karena katalase

Gangguan yang ditimbulkan oleh kekurangan katalase dapat mengenai semua organ, terutama organ yang mengandung banyak katalase, antara lain:

- Penyakit fibrosis ginjal progresis
- Akatalasia

Merupakan suatu variasi genetik, dimana terdapat kekurangan enzim katalase dalam sel-sel darah. Kelainan ini bersifat otosom (tidak tergantung jenis kelamin) dan ditentukan oleh gen resesif. Proporsi tipe ini dalam populasi kurang lebih 1%. Orang yang menderita akatalasia, jika terkena hidrogen peroksida (misal melalui antiseptik) akan mengalami hemolisis pada sel-sel darah merah.

- Vitiligo

Menurut National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases (NIAMS) vitiligo merupakan penyakit kulit yang ditandai dengan adanya makula putih yang dapat meluas di beberapa bagian tubuh. Hipotesis neurohormonal muncul karena keterlibatan norepinefrin (NE) dan monoamine oksidase (MAO) dalam patogenesis vitiligo. Peningkatan kadar NE yang disekresikan keratinosit memicu terbentuknya enzim MAO. Peningkatan aktivitas MAO akan memicu pembentukan hidrogen peroksida yang berlebihan. Jumlah  $H_2O_2$  yang berlebihan ini tidak diimbangi oleh katalase yang bertindak menentralkan hidrogen peroksida pada kelainan vitiligo.

- Rambut beruban

Penyebab rambut beruban adalah tubuh terlalu banyak menghasilkan hidrogen peroksida. Senyawa ini menghalangi produksi melamin, yaitu pigmen yang memberikan warna bagi kulit dan rambut. Banyaknya senyawa hidrogen peroksida yang dihasilkan tidak seimbang dengan produksi katalase dalam tubuh.

## 2.8 Aloksan

Aloksan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin : 5,6-dioksiurasil) merupakan senyawa hidrolis dan tidak stabil. Waktu paro pada suhu 37 C dan pH netral adalah 1,5 menit dan bisa lebih lama pada suhu yang lebih rendah. sebagai diabetogenik aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal dan subkutan. Dosis intravena yang digunakan biasanya 65 mg/kg BB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kali (Szkudelski, 2011 : Rees dan Alcolado, 2005).

Salah satu cara untuk mendapatkan keadaan diabetes pada binatang percobaan adalah dengan pemberian aloksan. Aloksan disebut juga *mesoxalylurea* merupakan senyawa organik dengan inti pirimidin heterosiklik. Nama tersebut merupakan derivat dari alantoin yaitu suatu produk asam urat yang diekskresikan fetus ke alantois. Senyawa ini dihasilkan melalui proses oksidasi asam urat dengan asam nitrat (Anonim,2008).

## 2.9 Jintan Hitam

Jintan hitam merupakan tanaman herbal berbunga tahunan (Heyne 1987). Tanaman jintan hitam merupakan tanaman semak dengan ketinggian lebih kurang 30 cm. Ekologi dan penyebaran tanaman ini mulai dari daerah Mediterania ke arah timur Samudera Indonesia sebagai gulma semusim dengan keanekaragaman yang kecil. Budi daya perbanyakan tanaman dilakukan dengan biji (Hutapea 1994).

Tumbuhan herbal Jintan hitam (*Nigella sativa*) dipercaya berasal dari daerah Mediterania namun saat ini telah dikembangbiakan di berbagai belahan dunia, termasuk Arab Saudi, Afrika Utara, dan sebagian Asia (Bashandy AES,

2006) Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan spesies tumbuhan semak rendah yang termasuk famili *Racunculaceae* (Mansi KMS 2006, Ramadan MF 2001) Dikenal dengan berbagai sebutan lain seperti Black cumin, fennel flower, Nutmeg flower, Roman coriander, black seed, black caraway, black onion seed, kalonji, habatussauda, dan habbat albarakah (biji barakah). Di Indonesia dikenal dengan sebutan Jintan hitam. Tumbuhan ini selama berabad – abad telah digunakan sebagai obat tradisional atau rempah – rempah dari minyak yang diperoleh dengan cara memeras oleh orang – orang Asia, Timur tengah, dan Afrika.

### **2.9.1 Morfologi dan Toksenomi**

Tanaman *Nigella sativa* merupakan tumbuh dengan tinggi sekitar 20-30 cm, berbatang halus, daunnya berbau segar, bunganya berwarna biru lembut dengan 5-10 kelopak, tumbuh liar sampai ketinggian 1100 m di atas permukaan laut. Biasanya ditanam di daerah pegunungan atau sengaja ditanam di halaman atau ladang sebagai tanaman rempah - rempah. Buahnya berbentuk kapsul menggelembung, terdiri dari 3-7 folikel, yang masing - masing berisi beberapa biji. Bentuk bijinya kerucut kecil dan berserabut, panjangnya berukuran tidak lebih dari 3mm. Memiliki aroma, bentuk yang sama seperti biji wijen, namun berwarna hitam. Bijinya digunakan untuk rempah - rempah dan obat -obatan.

### **2.9.3 Morfologi Tanaman Jintan Hitam**

Menurut Djoko (1952), batang tanaman jintan hitam ini berwarna hijau, tegak, lunak, beralur, berusuk dan berbulu kasar. Tanaman ini berdaun lonjong dengan panjang 1.5-2 cm, berdaun tunggal dengan ujung dan pangkalnya runcing dan berwarna hijau. Kelopak bunga berjumlah lima dengan ukuran kecil,

berbentuk bundar dan ujungnya agak meruncing. Kelopak bunga pada umumnya berjumlah lima, berwarna putih kebiruan seperti yang terlihat pada Gambar 1. Biji dari tanaman ini berbentuk oval dengan warna coklat kehitaman seperti yang terlihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Tanaman jintan hitam (*N. sativa*) terlihat batang berwarna hijau, kelopak bunga berjumlah lima dengan bentuk bundar yang ujungnya agak meruncing (sumber: Djoko 1952).



Gambar 2.2 Biji tanaman jintan hitam berbentuk oval dengan warna coklat kehitaman (sumber: Djoko 1952).

#### 2.9.4 Kandungan dan Khasiat Kimia Jintan Hitam

Kandungan ekstrak minyak jintan hitam antara lain minyak volatil, minyak campuran, protein, asam amino, gula reduksi, cairan kental, alkaloid, asam organik, tanin, resin, metarbin, melatin, serat, mineral, vitamin, tiamin, niasin, piridoksin, asam folat (Landa *et al.* 2006). Biji dan daun jintan hitam mengandung saponin dan polifenol. Kandungan biji jintan hitam antara lain: *thymoquinone*

30,8%, *thymohydroquinone*, *dithymoquinone*, *thymol* 26,8%, *carvacrol*, *nigellicine*, *nigellidine*, *nigellimine-N-oxide* dan *alpha-hedrin* (Hutapea 1994).

Berbagai penelitian telah memperlihatkan efek *Nigella sativa* sebagai antioksidan, analgesik, antipiretik, antihipertensi, bronkodilator, antibakteri, imunomodulator, anti ulkus, anti jamur, antihelminthes, berpotensi meningkatkan sistem kekebalan tubuh, antitumor, antidiabetik, efek menurunkan kadar lemak, menurunkan kolesterol serum, menurunkan triglyserid, menurunkan lemak total, meningkatkan serum insulin yang berefek sebagai hipoglikemik, menghambat nekrosis hepar, renoprotektif, dan menaikkan konsentrasi T3 serum yang menurun serta mempunyai efek yang berpengaruh terhadap sistem saraf.

Jintan hitam dapat dimanfaatkan sebagai anti diabetik dalam bentuk bubuk, ekstrak, maupun minyak. Efek anti diabetik dari jintan hitam diperoleh melalui beberapa jalur. Jalur pertama adalah dengan memperkuat pengeluaran insulin dari pankreas (Rchid *et al*, 2004). Hal ini disebabkan jintan hitam mempunyai efek protektif terhadap kerusakan sel  $\beta$  pankreas akibat aloksan dan menjaga integritas sel pankreas (Mansi, 2005).

Jintan hitam juga terbukti meningkatkan proliferasi dan regenerasi sel  $\beta$  pankreas yang telah rusak (Kanter, 2003; Benhaddou-Andaloussi *et al*, 2008). Dengan demikian serum insulin dalam darah dapat meningkat. Hal ini juga telah terlihat dari hasil studi secara *in vitro* yang dilakukan oleh El Daly (1994) yang menunjukkan bahwa ekstrak biji *Nigella sativa* dapat meningkatkan level insulin dalam serum.

Jintan hitam juga mempunyai efek hipoglikemik dengan menginhibisi aksis hipotalamus-pituitari-adrenal dan meningkatkan metabolisme glukosa

(Mansi, 2006). Jintan hitam dapat memperkuat kerja insulin di sel otot dan sel lemak sehingga dapat meningkatkan *basal glucose up take* (Benhaddou-Andaloussi *et al*, 2008).

Secara spesifik efek hipoglikemik minyak jintan hitam juga dihasilkan oleh *thymoquinone*. *Thymoquinone* merupakan komponen utama dalam minyak esensial jintan hitam (hampir 50%) dan termasuk dalam monoterpenoid keton. Zat ini bersifat sebagai antioksidan kuat (Al-Majed *et al*, 2006).

### 2.9.5 Cara kerja Jintan Hitam terhadap Hiperglikemia

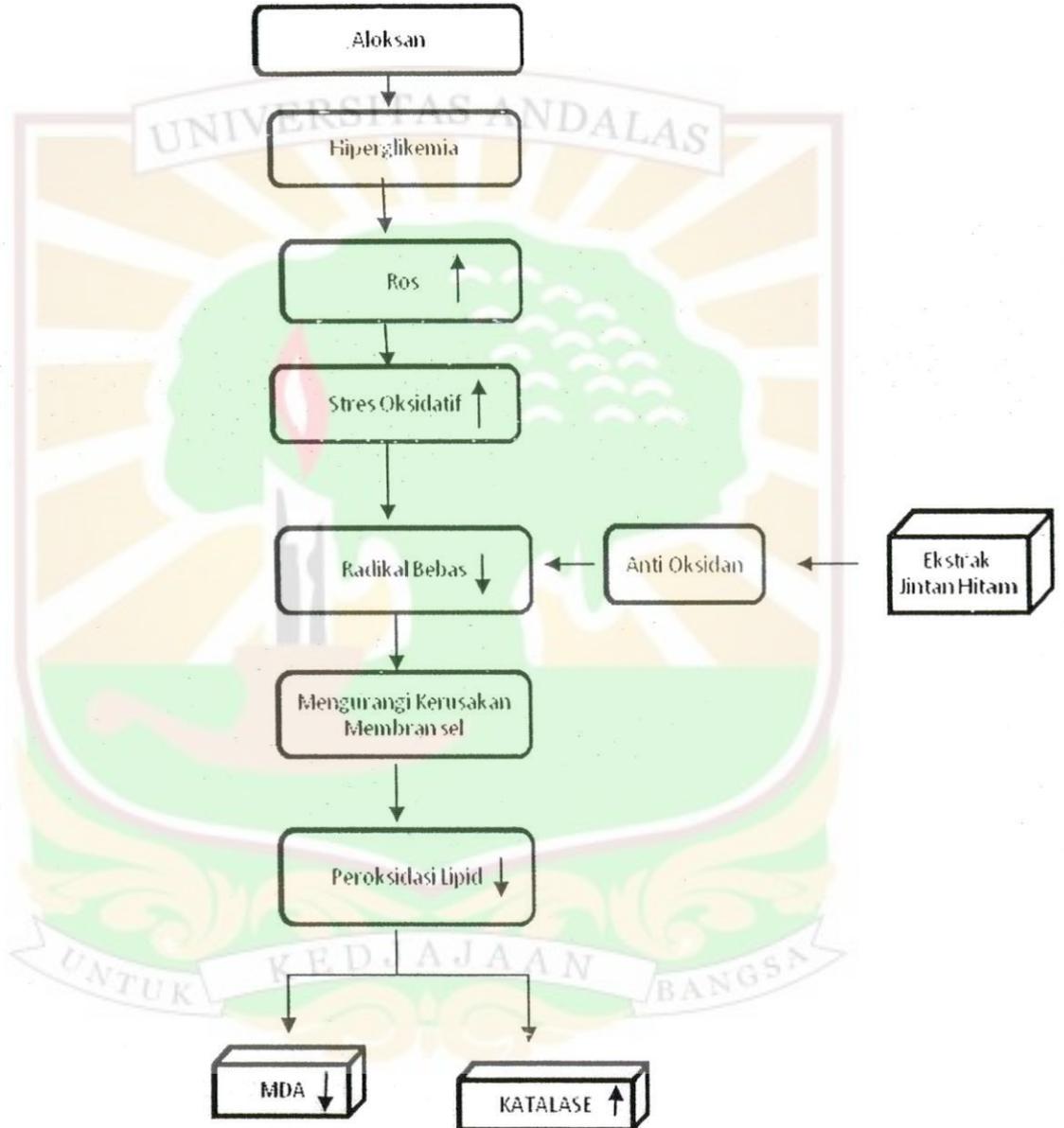
Jintan hitam mampu menurunkan kadar gula dalam darah karena memiliki kemampuan menghambat aktifitas enzim glukosa-6-phosphatase. Enzim ini berperan dalam metabolisme produksi glukosa dalam darah.

Efek jintan hitam mirip dengan kerja thiazolidinedione, salah satu bahan aktif dalam obat yang dikonsumsi oleh penderita diabetes. Senyawa ini mampu memperbaiki sensitifitas insulin dengan mengaktifkan gen-gen tertentu yang berperan dalam sintesis lemak dan metabolisme karbohidrat.

### BAB III

## KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

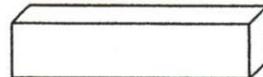
### 3.1 Kerangka Konseptual



Bagan 3.1 Kerangka Konsep

• KET

: YANG DITELITI



#### 4.1 Hipotesis

- 4.1.1 Ada pengaruh ekstrak jintan hitam terhadap kadar malondialdehide pada tikus putih hiperglikemi
- 4.1.2 Ada pengaruh ekstrak jintan hitam terhadap aktifitas katalase pada tikus putih hiperglikemi



## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian experimental, dengan rancangan penelitian *posttest only control group design* yaitu rancangan yang digunakan untuk mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol (Zainudin, 2000).

#### 4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian direncanakan dilaksanakan pada bulan November 2012 – Februari 2013 di Laboratorium Farmasi Unand, Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Unand dan Biokimia Fakultas Kedokteran Unand.

#### 4.3 Populasi dan Sampel

##### 4.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus *Rattus Novergicus* jantan yang terdapat pada Unit Pemeliharaan hewan percobaan Universitas Andalas Padang.

##### 4.3.2 Sampel

Sampel penelitian adalah bagian dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eklusi

Kriteria inklusi :

1. Tikus jantan dewasa
2. Umur 2 bulan

3. Berat badan 200-300 gram
4. Sehat (aktif dan tidak cacat)

Kriteria eksklusi:

1. Tikus yang BB kurang dari 200gr
2. Tikus yang berusia kurang dari 2 bulan

#### 4.3.3 Besar Sampel

Besar sampel didapatkan dengan rumus Hanafiah ( 1997 ) yaitu :

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

$$(5-1) (r-1) \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 4$$

$$r \geq 19 : 4$$

$$r \geq 4,75$$

$$r \geq 5$$

Keterangan:

t : Jumlah kelompok perlakuan

r : Jumlah hewan coba tiap kelompok

Jadi jumlah sampel dalam penelitian ini 5 perlakuan x 5 ekor = 25 ekor.

Dengan pertimbangan *droup out* sebesar 10 - 20 %, maka jumlah sampel sebanyak 30 ekor .

#### 4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel bebas : Ekstrak jintan hitam

4.4.2 Variabel terikat : Kadar melondiadehid dan aktifitas katalase

## 4.5 Definisi Operasional

1. Ekstrak jintan hitam (*Nigella Sativa*)
  - a. Pengertian : Ekstrak yang dihasilkan dari serbuk biji jintan hitam dengan teknik ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut ethanol 70%
  - b. Alat Ukur : Timbangan elektrik dengan ketelitian 0,01 gram merk Ohaus made in Amerika
  - c. Hasil Ukur : mg
  - d. Skala Ukur: Rasio
2. MDA (*Melondiadehid*)
  - a. Pengertian : Suatu senyawa yang di hasilkan dari peroksidasi lipid yang terbentuk akibat degradasi radikal bebas OH terhadap asam lemak tidak jenuh (Arsyad, 2000). Nilai normal MDA plasma adalah < dari 4 nmol/ml dan tinggi > dari 4 nmol /ml(Yagi.K, 1982).
  - b. Alat Ukur : Spektrofotometer
  - c. Hasil Ukur : Kadar MDA dalam nmol/ml
  - d. Skala Ukur : Rasio
3. Katalase
  - a. Pengertian : merupakan enzim hidroperoksidase, yang melindungi tubuh terhadap senyawa peroksida yang berbahaya.
  - b. Alat ukur : Spektrofotometer
  - c. Hasil ukur : Mikromol
  - d. Skala ukur : Rasio

#### 4.6 Bahan dan Alat

##### 4.6.1 Pemeriksaan Kadar Malondialdehid (MDA) Darah

**Alat dan Bahan :**

- Darah ± 3 ml
- TCA 5 %
- Na Thio barbituric Acid
- Standard MDA

**Cara Kerja :**

- Darah di centrifuge, kemudian pisahkan serumnya.
- Siapkan tabung sesuai prosedur berikut :

REAGEN	BLANKO	STANDARD	SAMPEL (1,2,DST)
Aquades	0,5 ml	-	-
Standard	-	0,5 ml	-
Serum Sampel	-	-	0,5 ml
Tambahkan masing2 nya 2,5 ml TCA 5 %			
Campur dengan menggunakan vortex mixer			
Centrifuge selama 10 menit, dengan kecepatan 2000 RPM			
Pipet masing-masing 1,5 ml filtratnya, masukkan ke dalam tabung sesuai dengan labelnya.			
Tambahkan masing-masing 1,5 ml Na Thio barbituric Acid			
Campur dengan menggunakan vortec mixer			
Panaskan dalam Water Bath mendidih selama 30 menit			
Dinginkan			
Baca Absorban dengan Spektrofotometer pada $\lambda$ 550 nm			

- Kadar MDA Sampel =  $\frac{\text{Absorban Sampel} \times \text{C. Standard}}{\text{Absorban Standard}}$

(Protap Pemeriksaan Kadar MDA, lab Biokimia UNAND)

#### 4.6.2 Pemeriksaan Aktivitas Katalase

**Alat dan Bahan :**

- Spektrofotometer UV- 200RS atau V-200RS + Cuvet
- Water Bath
- Sentrifuge
- H<sub>2</sub>O
- Stopwatch

**Reagen :**

- Campurkan 50 ml Potasium Dichromate 5 % dengan 150 ml Asetat glacial
- Persiapkan 0,2 M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- Persiapkan 250 ml Buffer phospat pH 7.0 dengan konsentrasi 0.01 molar

**Kurva Standard :**

- Isilah 6 tabung dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dengan jumlah yang berbeda-beda ( 10 sampai 160 micromol ). Pada setiap tabung ditambahkan 2 ml dicromat/asetat glacial, bila terbentuk presipitat biru maka lakukan hal berikut :
  - Panaskan tiap tabung selama 10 menit di dalam air mendidih pada water bath untuk mendekomposisi presipitat biru. Hingga muncul warna hijau dari chromic asetat.
  - Dinginkan pada suhu kamar, dan tambahkan pada tiap tabung H<sub>2</sub>O hingga volumenya mencapai 3ml.

- Pindahkan 3ml larutan tersebut kedalam cuvete dan ukur absorbannya pada panjang gelombang 570 nm. Ulangi pada lima tabung lainnya.
- Gunakan data tersebut untuk membuat grafik dengan absorban pada sumbu y dan konsentrasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pada sumbu X.

### Pengujian

- Masukkan 800 mikromol (0.0008 mol) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kedalam tabung. Ini sama dengan 4 ml larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.2 M.
- Tambahkan 5 ml buffer fosfat.
- Tambahkan 1 ml serum dan homogenkan dengan perlahan.
- Ambil 1 ml dari hasil reaksi ini, dan tambahkan ke dalam 2ml dicromat/asetat glacial. Dengan tabung yang berbeda ulangi prosedur ini dengan interval 60 detik.
- Panaskan tabung selama 10 menit pada air mendidih untuk menghilangkan presipitat biru dan menghasilkan larutan hijau.
- Ukur absorban pada panjang gelombang 570 nm.
- Gunakan kurva standard untuk menentukan berapa banyak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang tersisa saat reaksi dihentikan oleh asam asetat.
- Tentukan jumlah protein untuk dihubungkan dengan aktivitas enzim.
- Setelah didapatkan jumlah H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (mikromol) yang tersisa, maka untuk mendapatkan berapa banyak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang telah dihancurkan oleh katalase adalah H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang direaksikan (800 mikromol) dikurangi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang tersisa.

- Aktivitas katalase (unit/mg) =  $\frac{\text{H}_2\text{O}_2 \text{ dihancurkan oleh katalase / menit}}{\text{Protein serum (mg/ml)}}$

(Protap Pemeriksaan Aktivitas Enzim Katalase, lab Biokimia UNAND)

#### 4.6.3 Pembuatan Ekstrak Jintan Hitam

Serbuk biji jintan hitam merupakan serbuk yang berasal dari biji jintan hitam yang telah dikeringkan dalam lemari pengering dengan suhu 45°C selama 3 jam, diserbuk dengan mesin penyerbuk dan disaring dengan saringan diameter lubang 1 mm.

##### Ekstrak Biji Jintan Hitam

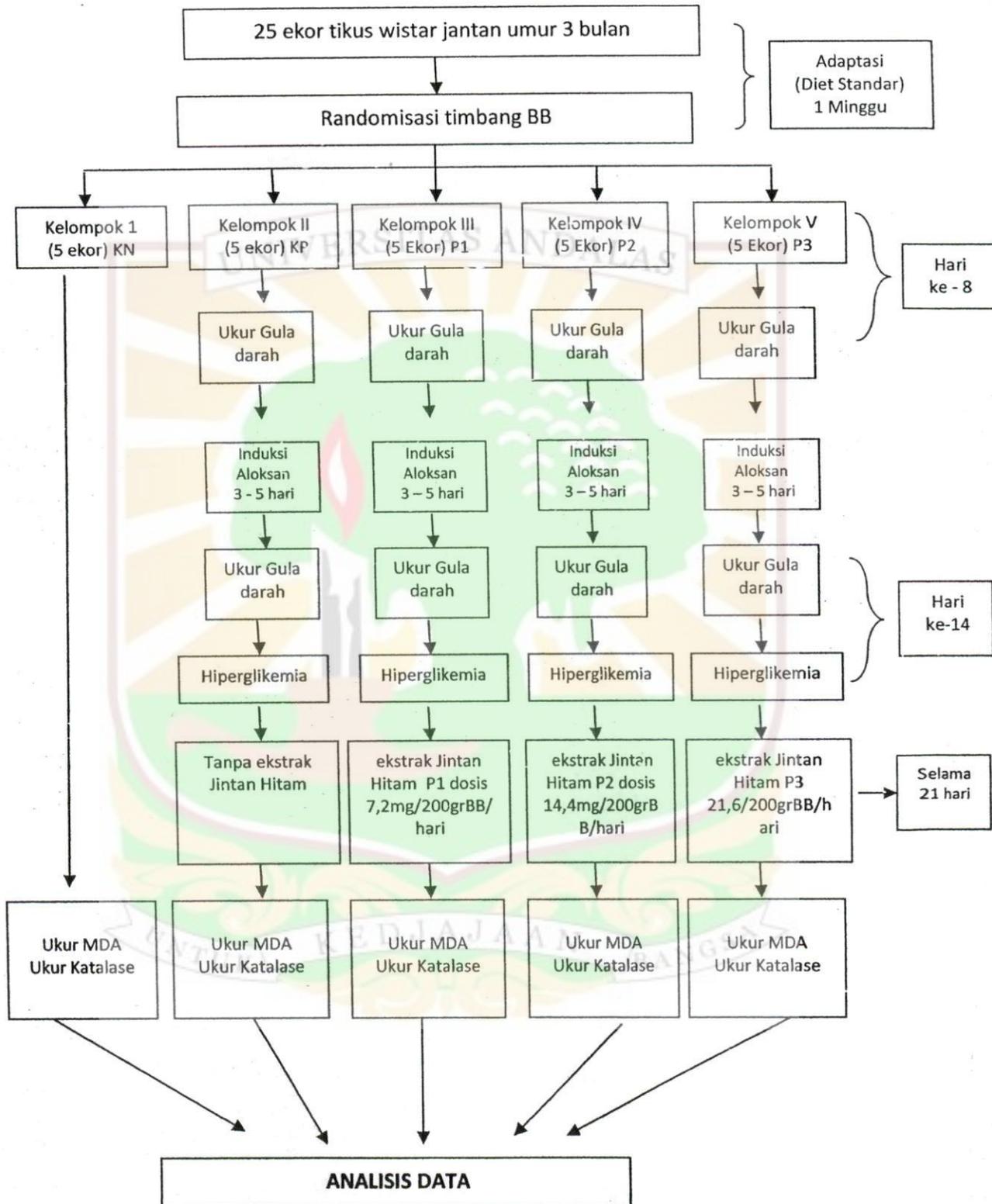
Ekstrak biji jintan hitam adalah ekstrak yang dihasilkan dari serbuk biji jintan hitam dengan teknik ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut ethanol 70%. Proses pembuatan ekstrak mulai dari pengeringan sampai terbentuk ekstrak dikerjakan oleh tenaga ahli di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Universitas Unand.

##### Konsentrasi Ekstrak Biji Jintan Hitam

Konsentrasi ekstrak jintan hitam dibuat dengan cara melarutkan ekstrak biji jintan hitam dari proses maserasi dengan satuan berat ekstrak dalam gram per volume larutan NaCl 0,9% sesuai konsentrasi yang telah ditentukan.

Dari hasil penyaringan didapatkan ampas dan filtrat. Filtrat kemudian diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* pemanas *water bath* dengan suhu 70°C. Dari proses ini didapatkan ekstrak kental biji jintan hitam. Ekstrak kental ini kemudian dituang dalam cawan porselin dan dipanaskan dengan *water bath* sambil terus diaduk sehingga didapatkan ekstrak biji jintan hitam yang siap digunakan.

## 4.7 Alur Penelitian



#### 4.8 Prosedur Kerja dan Teknik Pengambilan Data

Dari alur penelitian dapat diketahui bahwa : tikus dibagi 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol, dan 4 kelompok perlakuan, yang dikandangkan secara terpisah. Tiap kelompok diberi perlakuan sesuai dengan prosedur yang telah ditentukan. Ekstrak jintan hitam yang dihasilkan dari serbuk biji jintan hitam dengan teknik ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut ethanol 70%. Dari hasil penyaringan didapatkan ampas dan filtrat. Filtrat kemudian diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* pemanas *water bath* dengan suhu 70°C. Dari proses ini didapatkan ekstrak kental biji jintan hitam. Ekstrak kental ini kemudian dituang dalam cawan porselin dan dipanaskan dengan *water bath* sambil terus diaduk sehingga didapatkan ekstrak biji jintan hitam yang siap digunakan.

Berdasarkan konversi dosis, berat badan manusia adalah 70 kg dan konversi dari manusia ke tikus 200 gram adalah 0,018 (Ghost, 1971 dalam Kusumawati, 2004).

##### **Perhitungan dosis :**

Menurut Burhan (2008) bahwa kebutuhan manusia dengan penyakit diabetes melitus akan biji jintan hitam perhari adalah sebanyak 90 gram. Kusumawati (2004) menyatakan bahwa faktor konversi dari manusia ke tikus dengan berat badan untuk manusia 70kg dan berat badan tikus 200gr/BB adalah 0,018.

Penelitian yang dilakukan oleh Whardana dalam pemberian dosis jintan hitam terhadap tikus hiperglikemi dimana dosis yang berpengaruh pada dosis 7,2mg/200grBB, maka peneliti mengambil dosis awal 7,2mg, 14,4mg, dan 21,6mg (dosis bertingkat).

Dalam percobaan dipakai ekstrak jintan hitam dengan dosis bertingkat, yaitu:

Perlakuan I = 7,2mg/200grBB

Perlakuan II = 14,4mg/200grBB

Perlakuan III = 21,6mg/200grBB

Dalam penelitian ini ekstrak jintan hitam diberikan secara peroral dengan dosis : 7,2mg/200grBB (dosis terapi), 14,4mg/200grBB (2 x dosis terapi) dan 21,6mg/200grBB (3 x dosis terapi).

Dalam percobaan dipakai ekstrak jintan hitam dengan dosis bertingkat, yaitu:

- a. Kontrol Negative (KN) : Tikus hanya diberikan makan dan minum seperti biasa (pakai tikus dengan jenis yang sama)
- b. Kontrol Positif (KP) : Tikus yang telah hiperglikemia dimana setiap tikus diinduksi dengan aloksan 150mg/kg BB tanpa diberikan ekstrak jintan hitam.
- c. Kelompok Uji I (Perlakuan I) : tikus yang telah hiperglikemi dimana setiap tikus yang diinduksi aloksan 150mg/kgBB dengan pemberian dosis ekstrak jintan hitam I = 7,2mg/200grBB
- d. Kelompok Uji II (Perlakuan II) : tikus yang telah hiperglikemi dimana setiap tikus yang diinduksi aloksan 150mg/kgBB dengan pemberian dosis ekstrak jintan hitam II =14,4mg/200grBB
- e. Kelompok Uji III (Perlakuan III) : tikus yang telah hiperglikemi dimana setiap tikus yang diinduksi aloksan 150mg/kgBB dengan pemberian dosis ekstrak jintan hitam III = 21,6mg/200grBB

#### 4.8.1 Tahap persiapan meliputi :

1. Tikus putih jantan dewasa yang memenuhi kriteria (baik umur maupun berat badan) disiapkan sebanyak 25 ekor.
2. Tikus dipelihara dalam kandang plastik dengan anyaman kawat sebagai penutup. Kandang diletakkan didalam ruangan yang memiliki ventilasi dan mendapatkan cahaya matahari secara tidak langsung.
3. Melakukan adaptasi lingkungan selama 1 minggu untuk penyesuaian terhadap lingkungan dan kandang tempat makan dan minum dibersihkan sedikitnya tiga kali dalam seminggu dan pemberian makan dan minum diberikan setiap hari.
4. Pengelompokan tikus (4 kelompok perlakuan dan 1 kontrol dimana masing – masing terdiri dari 5 ekor tikus).
5. Membuat ekstrak jintan hitam

#### 4.8.2 Tahap pelaksanaan

1. Sebelum perlakuan pada hari terakhir karantina tikus terlebih dahulu dilakukan penimbangan berat badan dan pengukuran kadar darah puasa, dimana sebelum diambil tikus dipuasakan 6-8 jam. Tikus yang dipilih adalah tikus yang mempunyai kadar gula darah puasa normal (50-135 mg/dl)
2. Memberikan ekstrak jintan hitam secara oral dengan menggunakan sempit yang ujungnya dibuat tumpul berbentuk sonde. Waktu pemberian bahan uji diusahakan tetap diantara jam 09.00 WIB sampai jam 10.00 WIB. Perlakuan diberikan pada masing-masing kelompok secara berulang dengan dosis yang telah ditentukan selama 21 hari.

3. Pada hari terakhir penelitian, darah dari masing-masing tikus diambil lewat ekor dan selanjutnya baru dilakukan pengukuran glukosa darah, melondiadehid (MDA), dan aktifitas katalase.

#### 4.9 Etika Penelitian

Etika perlakuan pada hewan coba merupakan etika moral yang secara prinsip ditandai dengan adanya pengakuan terhadap nilai hakiki hewan coba tersebut. Oleh karena itu kewajiban kita untuk memperlakukan secara terhormat sesuai dengan nilai hakiki hewan ( Smith dkk, 1998 ). Dalam penelitian ini yang perlu dilakukan adalah perawatan, terpenuhinya kebutuhan makan, minum, sirkulasi udara kedalam kandang, perlakuan yang baik saat penelitian, pengambilan unit analisis penelitian dan pemusnahan.

#### 4.10 Teknik Analisa Data

Hasil penelitian diolah secara statistik, setelah dilakukan uji normalitas (Kolomogrov-Smirnov), ternyata terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji ANOVA dengan derajat kepercayaan 95% dan didapatkan hasil yang bermakna, maka uji statistik dilanjutkan dengan *Multipel Comparisons* (Post Hoc Bonferoni) (Singgih,2005).

## 5.2 Kadar MDA Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*).

Tabel 5.2 Hasil uji ANOVA kadar MDA (nmol/ml) tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan setelah pemberian ekstrak jintan hitam.

Kelompok	Kadar MDA (nmol/ml)	
	Rata-rata±SD	P
KN	10,02 ± 0,38	0,0005
KP	14,37 ± 0,63	
PI	12,13 ± 0,40	
P2	10,43 ± 0,55	
P3	10,94 ± 0,53	

Berdasarkan Tabel 5.2 dapat dilihat bahwa setelah diberi ekstrak jintan hitam terjadi penurunan kadar MDA pada kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3 dibandingkan dengan kelompok kontrol positif secara statistik perbedaan tersebut bermakna dengan  $p < 0,05$  yang berarti ada pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam terhadap penurunan kadar MDA.

Untuk melihat signifikansi antar kelompok perlakuan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Bonferroni*

Tabel 5.3 Hasil uji *Post Hoc Test* kadar MDA (nmol/ml) tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan setelah pemberian ekstrak jintan hitam

Kelompok	KN	KP	P1	P2	P3
KN	-	0,0005 *	0,0005 *	1,000	0,105
KP	0,0005 *	-	0,0005 *	0,0005 *	0,0005 *
P1	0,0005 *	0,0005 *	-	0,0005 *	0,014
P2	1,000	0,0005 *	0,0005 *	-	1,000
P3	0,105	0,0005 *	0,014	1,000	-

(\* terdapat perbedaan bermakna)

Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Test* pada tabel 5.3 dapat disimpulkan bahwa kelompok yang berhubungan secara signifikan dalam penurunan kadar MDA adalah kelompok kontrol positif berhubungan dengan kontrol negatif, perlakuan 1,2 dan 3. Perlakuan 1 berhubungan dengan kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan 2.

Perlakuan 2 berhubungan dengan kontrol positif dan perlakuan 1. Perlakuan 3 berhubungan dengan kontrol positif. Sedangkan kelompok yang lain tidak memperlihatkan hubungan yang signifikan ( $p > 0,05$ ).

### 5.3 Aktifitas Katalase Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*).

Tabel 5.4 Hasil Uji ANOVA aktifitas katalase (unit/mg) tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan setelah pemberian ekstrak jintan hitam

Kelompok	Aktifitas katalase (unit/mg)	
	Rata-rata $\pm$ SD	P
KN	11,68 $\pm$ 0,73	0,0005
KP	9,28 $\pm$ 0,53	
P1	10,14 $\pm$ 0,74	
P2	11,26 $\pm$ 0,49	
P3	10,48 $\pm$ 0,30	

Berdasarkan Tabel 5.4 dapat disimpulkan bahwa setelah diberi ekstrak jintan hitam terjadi peningkatan aktifitas katalase pada kelompok perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3 dibandingkan dengan kelompok kontrol positif secara statistik perbedaan tersebut bermakna dengan  $p < 0,05$  yang berarti ada pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam terhadap peningkatan aktifitas katalase.

Untuk melihat signifikansi antar kelompok perlakuan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Bonferroni*

Tabel 5.5 Hasil uji *Post Hoc Test* aktifitas katalase (unit/mg) tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan setelah pemberian ekstrak jintan hitam

Kelompok	KN	KP	P1	P2	P3
KN	-	0,0005 *	0,005 *	1,000	0,040 *
KP	0,0005 *	-	0,299	0,0005 *	0,041 *
P1	0,005 *	0,299	-	0,069	1,000
P2	1,000	0,0005 *	0,069	-	0,476
P3	0,040 *	0,041 *	1,000	0,476	-

(\* terdapat perbedaan bermakna)

Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Test* pada tabel 5.5 dapat disimpulkan bahwa kelompok yang berhubungan secara signifikan dalam peningkatan aktifitas katalase adalah kontrol positif berhubungan dengan kontrol negatif dan perlakuan 2 dan 3. Perlakuan 1 berhubungan dengan kontrol negatif. Perlakuan 2 berhubungan dengan kontrol positif. Perlakuan 3 berhubungan dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Sedangkan kelompok yang lain tidak memperlihatkan hubungan yang signifikan ( $p > 0,05$ ).



## BAB VI

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Keterbatasan Penelitian

Dalam melakukan penelitian ini, peneliti memiliki beberapa keterbatasan yaitu :

- a. Adaptasi tikus yang dikirim dari Surabaya membutuhkan waktu beberapa hari agar kondisi tikus tidak dalam keadaan stres, sehingga pada saat tikus diberikan perlakuan tubuhnya dalam keadaan stabil.
- b. Ruangan tempat pengandangan tikus juga diisi oleh beberapa penelitian lainnya, sehingga terlalu padatnya ruangan penelitian yang akan menyebabkan peningkatan suhu ruangan yang bisa menyebabkan tikus kurang nyaman.
- c. Keterbatasan jumlah tikus menyebabkan tidak adanya random terhadap tikus yang akan diambil sebagai sampel, sehingga bisa jadi menyebabkan data yang tidak terwakilkan.

#### 6.2 Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Strain Wistar Sebelum dan Sesudah diinduksi Aloksan

Pada penelitian ini hewan coba diinduksi aloksan, dimana kerja aloksan dapat membuat hewan coba dalam keadaan hiperglikemi. Berdasarkan tabel 5.1 nilai rata-rata kadar glukosa darah tikus sebelum diinduksi aloksan pada kelompok I 84,2 mg/dl, kelompok II adalah 82,8 mg/dl, kelompok III 83,6 mg/dl, kelompok IV adalah 89 mg/dl, pada kelompok V adalah 90,4 mg/dl.

Berdasarkan tabel 5.2 nilai rata-rata kadar glukosa darah tikus setelah diinduksi aloksan pada kelompok I 87,8 mg/dl, kelompok II adalah 205,2 mg/dl, dan pada kelompok III adalah 191,6 mg/dl, dan pada kelompok IV adalah 182,4 mg/dl dan pada kelompok V adalah 172,2 mg/dl.

Peningkatan glukosa darah sebanding dengan peningkatan radikal bebas di dalam tubuh sehingga memicu berbagai komplikasi (Abbas and Maitra, 2005). Salah satu cara penyebab terjadinya peningkatan glukosa darah yaitu dengan menginjeksi aloksan. Aloksan merupakan radikal bebas yang secara cepat dan selektif merusak sel-sel beta pankreas yang mengakibatkan kondisi diabetes melitus eksperimental tipe 1 pada hewan coba (Lenzen, 2008).

### 6.3 Kadar MDA

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar MDA setelah dilakukan pemberian ekstrak jintan hitam dengan beberapa tingkat dosis pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). Berdasarkan dari tabel 5.2 dapat dilihat rata-rata kelompok kontrol negatif  $10,02 \pm 0,38$  mol/ml, pada kelompok kontrol positif  $14,37 \pm 0,63$  nmol/ml. Terjadi peningkatan kadar MDA pada kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif pada setiap sampel penelitian. Seperti terlihat pada tabel 5.2 rerata peningkatan kadar MDA dari 10,02 nmol/ml (Kontrol Negatif) menjadi 14,37 nmol/ml (Kontrol Positif) dengan arti kadar MDA pada kelompok kontrol positif terjadi peningkatan. Hal ini disebabkan karena pada kelompok kontrol negatif tikus dalam keadaan normal dan diberi makan sesuai dengan kebutuhan tikus, sedangkan pada kelompok kontrol positif terjadi peningkatan kadar MDA yang disebabkan oleh karena pemberian aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB tikus dimana aloksan ini dapat

merusak sel beta pankreas sehingga sekresi insulin menurun. Penurunan sekresi insulin akan menyebabkan kadar glukosa dalam darah sehingga terjadi stress oksidatif yang akan menyebabkan produksi ROS di dalam tubuh meningkat dan akan menyebabkan terbentuknya peroksidasi lipid sehingga terjadi peningkatan kadar MDA.

Di dalam tubuh ROS secara konstan diproduksi dan dieliminasi, selama sel masih memiliki pertahanan endogen melawan zat oksidan tersebut. Diduga bahwa kadar ROS yang rendah berperan dalam fisiologi signal antara sel secara normal. Sedangkan produksi ROS yang berlebihan atau terjadinya kerusakan perlindungan terhadap ROS menimbulkan stress oksidasi, sehingga mengakibatkan terjadinya beberapa kelainan patologis (Rush et al, 2005).

Penelitian yang dilakukan oleh Tissera MHA et. al. Tahun 1998 terhadap 55 penderita diabetes, dari hasil studi disimpulkan bahwa terjadi penurunan kadar gula darah secara bermakna pada 72,7% dari penderita diabetes yang mengkonsumsi minyak jintan hitam dengan dosis pemberian 2 x 0,5 sendok teh (2,5ml/hari) dengan cara diminum selama 1 bulan (Widyaningrum, 2012).

Penelitian lain yang dilakukan oleh Wardhana tahun 2010 tentang ekstrak jintan hitam (*nigella sativa*) sebagai tindakan preventif meningkatnya kadar glukosa darah tikus putih (*rattus norvegicus*) yang diinjeksi aloksan, dimana setiap kelompok perlakuan diberikan dosis bertingkat dan hasilnya terdapat penurunan kadar gula darah secara bermakna 68,15%.

Pada tabel 5.1 terlihat bahwa rerata kadar MDA pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak jintan hitam dengan dosis bertingkat selama 21 hari, pada kelompok perlakuan 1 dengan dosis 7,2 mg/200 gr BB adalah 12,13 nmol/ml,

pada kelompok perlakuan 2 dengan dosis 14,4 mg/ 200 gr BB adalah 10,43 nmol/ml dan pada perlakuan 3 dengan dosis 21,6 mg/ 200 gr BB adalah 10,94 nmol/ml. Rerata kadar MDA mengalami penurunan pada kelompok perlakuan 2 dan perlakuan 3 yaitu dari 12,13 nmol/ml pada perlakuan 1 dan menurun pada perlakuan 2 menjadi 10,43 nmol/ml. Sedangkan pada Perlakuan 3 terjadi peningkatan kadar MDA dibandingkan kelompok Perlakuan 2 yaitu 10,94 nmol/ml.

Terjadinya penurunan rerata kadar MDA pada kelompok Perlakuan 2 dan Perlakuan 3 disebabkan oleh pemberian efek ekstrak jintan hitam sebagai antioksidan yang dapat meredam efek radikal bebas pada tikus yang mengalami hiperglikemia akibat di induksi aloksan. Pada kelompok Perlakuan 3 mengalami peningkatan kadar MDA ini kemungkinan disebabkan karena pemberian dosis Perlakuan 3 ini tidak mampu mencegah efek dari radikal bebas tikus hiperglikemia akibat dari induksi aloksan.

Pemberian ekstrak jintan hitam dengan tiga variasi dosis perlakuan maka dosis Perlakuan 2 merupakan dosis optimal yang dapat memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar MDA secara maksimal.

Berdasarkan uji statistik ANOVA dapat dilihat nilai  $p = 0,0005$  ( $p < 0,05$ ) berarti pada  $\alpha$  5% ada perbedaan yang signifikan antara kadar MDA pada kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3.

Analisis lebih lanjut dengan uji *Post Hoc Test* membuktikan bahwa kelompok yang signifikan adalah kelompok positif dibandingkan dengan kontrol negatif, perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3.

### 6.3 Aktifitas Katalase

Beberapa senyawa yang selalu dijadikan petunjuk adanya kerusakan akibat radikal bebas ini adalah MDA, GSH dan enzim katalase. Enzim katalase memiliki peranan proses penguraian peroksidase menjadi oksigen. Enzim katalase berperan dalam menggambarkan aktifitas antioksidan didalam sel. Aktifitas katalase dihitung berdasarkan penguraian  $H_2O_2$  pada panjang gelombang 210 nm.

Berdasarkan tabel 5.3 diketahui rata-rata kadar aktifitas katalase pada 5 kelompok penelitian terdiri dari kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan dosis 1 (7,2 mg/200grBB), kelompok perlakuan dosis 2 (14,4 mg/200grBB), dan kelompok perlakuan dosis 3 (21,6 mg/200grBB). Pada kelompok kontrol negatif didapatkan rata-rata aktifitas katalase adalah  $11,68 \pm 0,73$  unit/mg, artinya aktifitas katalase pada kelompok ini bekerja dengan baik dalam pemecahan  $H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$  karena kondisi tikus yang tidak diinduksi aloksan dan tikus dalam keadaan normal pada kelompok kontrol positif  $9,28 \pm 0,53$  ini lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif. Hal ini disebabkan karena tikus yang diinjeksi aloksan akan merusak sel beta pankreas sehingga terjadi stress oksidatif yang ditandai dengan peningkatan ROS. Pada kondisi hiperglikemia, kadar radikal bebas sebagai oksidan didalam tubuh meningkat, sehingga oksidan yang terbentuk menekan aktifitas enzim anti oksidan endogen yang salah satunya enzim katalase. Pada saat produksi radikal bebas maka aktifitas katalase akan mengalami penurunan karena  $H_2O_2$  akan menjadi  $\cdot OH$  (Radikal hidroksil) yang sangat toksik.

Pada tabel 5.4 dapat diketahui rata-rata aktifitas katalase setelah diberi ekstrak jintan hitam dengan dosis bertingkat pada tiga kelompok perlakuan. Pada

kelompok perlakuan 1 kadar aktifitas katalase adalah 10,14 unit/mg, pada kelompok perlakuan 2 adalah 11,26 unit/mg dan pada kelompok perlakuan 3 adalah 10,48 unit/mg. Hal ini menunjukkan dengan pemberian ekstrak jintan hitam maka dapat meningkatkan aktifitas katalase karena  $H_2O_2$  dapat dipecah menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  dan tidak menjadi  $\cdot OH$  sebagai toksik.

Berdasarkan uji statistik ANOVA pada tabel 5.4 diketahui nilai  $p = 0,0005$  ( $p < 0,05$ ) artinya terdapat perbedaan signifikan antara masing-masing kelompok penelitian yaitu pada kelompok kontrol negatif, positif, perlakuan 1, perlakuan 2 dan perlakuan 3 pada nilai  $\alpha$  5%.

Analisa lebih lanjut dengan uji *Post Hoc Test*, seperti yang dapat dilihat pada tabel 5.4 bahwa membuktikan kelompok yang berbeda signifikan adalah antara kelompok kontrol positif dengan kontrol negatif dan kelompok kontrol negatif dengan perlakuan 3. Dan berdasarkan uji statistik tidak terdapat perbedaan bermakna pada kelompok penelitian lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jintan hitam dapat meningkatkan aktifitas katalase pada kondisi hiperglikemia dengan dosis optimal.

Dengan pemberian dosis jintan hitam yang bertingkat, didapatkan dosis optimal pada peningkatan aktifitas katalase setelah diberikan ekstrak jintan hitam adalah pada dosis ke 2 (14,4 mg/200grBB).

## BAB VII

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh ekstrak jintan hitam terhadap kadar MDA dan aktifitas katalase pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) hiperglikemia yang diinduksi aloksan dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak jintan hitam secara signifikan dapat menurunkan MDA pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) hiperglikemia yang diinduksi aloksan
2. Ekstrak jintan hitam secara signifikan dapat meningkatkan aktifitas katalase pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*) hiperglikemia yang diinduksi aloksan

#### 7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, pembahasan dan kesimpulan diatas maka disarankan untuk peneliti selanjutnya agar:

1. Melakukan penelitian tentang enzim SOD atau GSH sehingga ilmu yang dibahas dapat dikembangkan untuk menggali informasi ilmiah tentang peranan ekstrak jintan hitam.
2. Penelitian ini agar dilanjutkan dengan uji klinis sehingga dapat diaplikasikan ke manusia.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad Najmi, Mohammad Nasiruddin, Rahat Ali Khan, Shahzad F. Haque, 2008, Effect of *Nigella sativa* Oil on Various Clinical and Biochemical Parameters of Insulin Resistance Syndrome, *Int. J. Diab. Dev. Ctries*, January-March 2008 volume 28 issue
- Anonim, 2008. *Nigella sativa* Linn., <http://www.plantencyclopedia.org>. Diakses tanggal 2 Maret 2009.
- Anonim, 2010, *Nigella sativa* Healing Properties, [http://nigella-sativa-research.com/?page\\_id=6](http://nigella-sativa-research.com/?page_id=6). Diakses tanggal 21 Maret 2010.
- Almatsier S. Penuntutan Diet edisi baru. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama: 2004.
- Ardianto 2009. *Klasifikasi diabetes militus*. Di akses 20April 2012.
- Buriro MA, Tayyab M. Effect of *Nigella sativa* on lipid profile in albino rat. *Gomal J. Med. Sci*, January – June, 2007, Vol. 5, No. 128.
- Christianto T, 2000. Radikar Bebas dan Diabetes Militus, Pertemuan Ilmiah Berkala Ilmu Penyakit Dalam
- Clarkson PM, and Tomson HS, 2000. Antioksidan : What Role Do They Play In Physical Activity and Health ?. *Am J Clin Nutr* 72 ( suppl ) : 637s – 646s
- Darmono, 2007. Pola Hidup Sehat penderita Diabetes Militus. Dalam : Naskah Lengkap Diabetes Militus Ditinjau Dari Berbagai Aspek Penyakit Dalam. Editor : Darmono, Suharto T, Pemaun TGD, Padmomartono FS. Semarang : Badan Penerbit Universitas Diponegoro, 15 – 29
- Enikarmila Asni 2009. Malondialdehyde, Reduced Glutathione, and Catalase Activity of Rat Kidney Tissues in Chronic Hypoxia : *Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*. Maj Kedokt Indon, Volum: 59
- Guyton AC, Hall EJ. Textbook of Medical Physiology. 9th ed. Diterjemahkan oleh Setiawan I, Tengadi KA, Santoso A. Buku ajar fisiologi kedokteran. Ed. 9. Jakarta : EGC, 1996.
- Ganong WF. Review of Medical Physiology. 14th ed. Diterjemahkan oleh Andrianto P. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Ed 20. Jakarta: EGC, 1995.
- Hanafiah, 1997. Rancangan Percobaan, Teori dan Aplikasi : Palembang : Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
- Khanam, M and Dewan, Z.F., 2008, Effects of The Crude and The n-hexane Extract of *Nigella sativa* Linn. (kalajira) upon Diabetic Rats, *Bangladesh J Pharmacol*, (4): 17-20.
- Konig dan Berg 2002. The Influence of cloric restriction during fasting of the montah of ramadhan on free radical and antioxisidan Expresed in the from if malondiadehid ang glutation, in healthy young males, *acta medica Indonesia*.

## Struktur Organisasi Penelitian

Pelindung : Program Studi Pascasarjana Fakultas Kedokteran  
Universitas Andalas

Penanggung Jawab : Ketua Program Studi Ilmu Biomedik Universitas  
Andalas

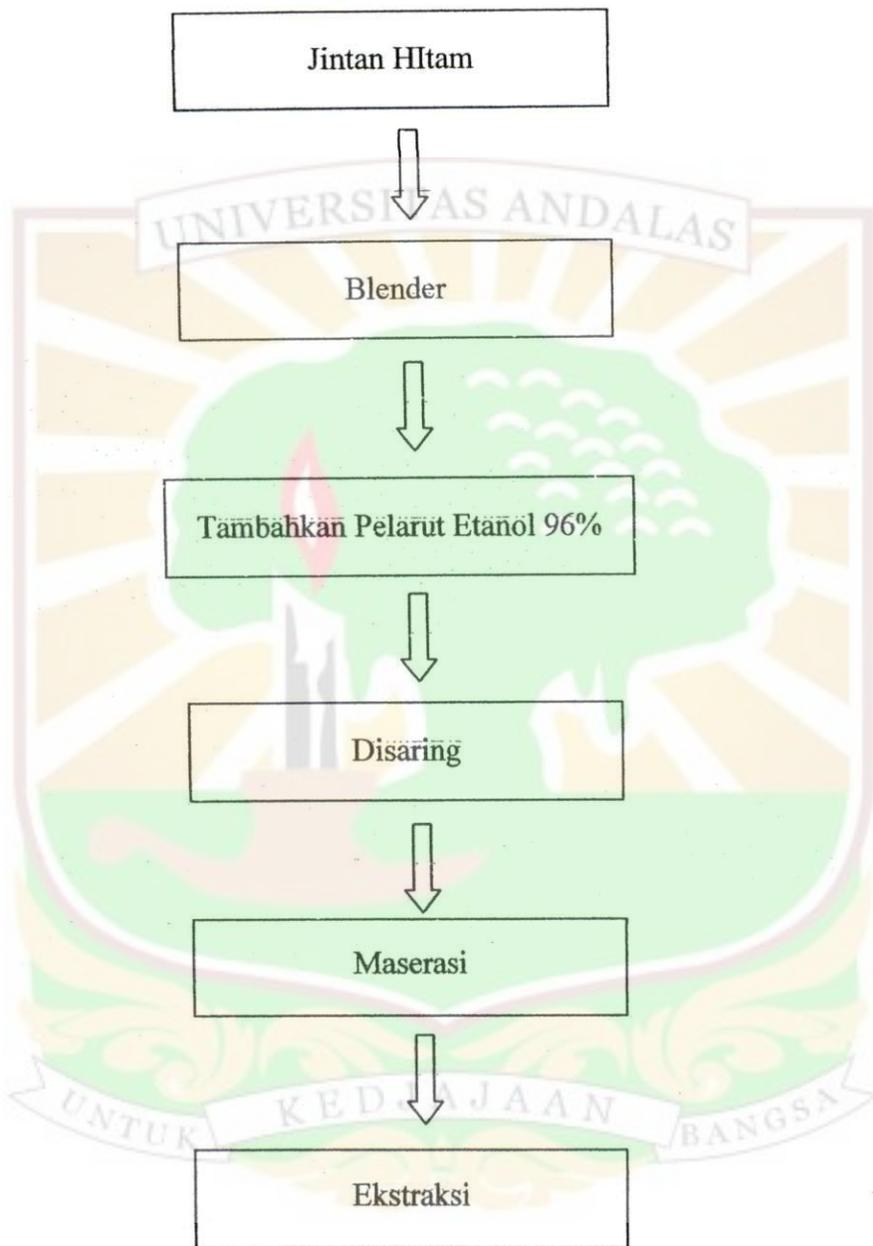
Pembimbing : 1. Prof. DR. dr. Fadil Oenzil, PhD, SpGK  
2. Prof. DR. dr. H. Nasrul Zubir, SpPD-KGEH,  
FINASIM

Peneliti : Rangi Nadya

TEknisi Laboratorium : 1. Syafriman, S.Pt (Teknisi Laboratorium  
Farmakologi Fakultas Farmasi Unand)  
2. Yusniati dan Pitdawati (Teknisi Laboratorium  
Biokimia)



## Bagan Alur Pembuatan Ekstrak Jintan Hitam



PENGARUH EKSTRAK JINTAN HITAM TERHADAP KADAR MALONALDEHIDE (MDA)  
DAN AKTIVITAS KATALASE PADA TIKUS PUTIH HIPERGLIKEMIA

A/N. RANGI NADIYA

UNIVERSITAS ANDALAS

Masing-masing kelompok 5 ekor tikus

- K - : Tidak diberi apa-apa
- K + : Diinduksi dengan Alloxan dengan dosis 150 mg/kg
- P1 : Diinduksi dengan Alloxan + Ekstrak dengan dosis 7,2 mg/kg
- P2 : Diinduksi dengan Alloxan + Ekstrak dengan dosis 14,4 mg/kg
- P3 : Diinduksi dengan Alloxan + Ekstrak dengan dosis 21,6 mg/kg

- Dosis Alloxan 150 mg/kg

$$200 \text{ gr}/1000 \times 150 \text{ mg} = 30/200 \text{ gr bb (berat badan)}$$

$$30 \text{ mg}/1000 \text{ mg} \times 10 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}/200 \text{ gr bb}$$

- Dosis Ekstrak

- P1 : 7,2 mg/200 gr BB  
 $7,2 \text{ mg}/100 \text{ mg} \times 20 \text{ ml} = 1,44 \text{ ml}/200 \text{ gr BB}$
- P2 ; 14,4 mg/200 gr BB  
 $14,4 \text{ mg}/200 \text{ mg} \times 20 \text{ ml} = 1,44 \text{ ml}/200 \text{ gr BB}$
- P3 ; 21,6 mg/200 gr BB  
 $21,6 \text{ mg}/300 \text{ mg} \times 20 \text{ ml} = 1,44 \text{ ml}/200 \text{ gr BB}$

UNTUK KEDJAJAAN BANGSA

Tabel

Kode	No	Berat badan	Kadar gula	Volume Alloxan	Kadar gula	Berat badan	Volume Ekstrak	Kadar gula	Berat badan
		Gram	Mg/dl	ml	Mg/dl	Gram	ml	Mg/dl	Gram
K -	1.	208	99		93	225		91	249
	2.	204	83		89	220		93	236
	3.	192	78		81	209		86	224
	4.	200	80		86	214		92	240
	5.	195	91		93	210		87	238
	Rata	199,8	84,2		88,4	215,6		87,8	237,4
K +	1.	225	74	0,34	196	229		208	228
	2.	208	83	0,31	201	215		210	214
	3.	214	92	0,32	204	220		208	216
	4.	210	86	0,32	199	214		201	217
	5.	184	79	0,28	179	190		199	186
	Rata	208,2	82,8	0,31	195,8	213,6		205,2	212,2
P1	1.	202	81	0,30	198	208	1,50	201	218
	2.	220	83	0,33	204	230	1,66	198	246
	3.	199	76	0,30	183	208	1,50	184	220
	4.	214	92	0,32	206	220	1,60	204	231
	5.	210	86	0,32	169	216	1,56	171	229
	Rata	209	83,6	0,31	192	216,4	1,56	191,6	228,8
P2	1.	210	94	0,32	209	220	1,60	189	240
	2.	204	87	0,31	200	215	1,56	183	236
	3.	216	91	0,32	216	227	1,66	184	240
	4.	211	83	0,32	183	223	1,61	180	238
	5.	198	90	0,30	194	210	1,50	176	235
	Rata	207,8	89	0,31	200,4	219	1,59	182,4	237,8
P3	1.	193	101	0,29	204	210	1,50	174	230
	2.	204	91	0,31	198	220	1,60	181	236
	3.	199	89	0,30	181	211	1,50	184	226
	4.	210	93	0,32	179	219	1,60	163	240
	5.	201	78	0,30	193	214	1,56	159	239
	Rata	201,4	90,4	0,30	191	214,8	1,55	172,2	234,2

# LAPORAN HASIL UJI

## NO. 02/LKK/BK-FK/2013

Nama Peneliti : RANGI NADYA  
 No. BP : 10 21212 014  
 Jenis Sampel : Serum  
 Tanggal Penerimaan Sampel : 18 Januari 2013  
 Tanggal Pemeriksaan Sampel : 19 januari s/d 04 Februari 2013

### HASIL UJI LABORATORIUM

NO	K Sampel	T. Protein gr/dl	Aktifitas Katalase		MDA (µM)	
			Rata2		Rata2	
1	K-1	5.89	12.08	11.68	10.38	10.03
2	K-2	5.84	12.27		10.24	
3	K-3	6.89	10.42		9.93	
4	K-4	6.01	11.92		10.18	
5	K-5	6.13	11.73		9.41	
6	K+1	8.19	8.74	9.28	14.69	14.37
7	K+2	7.86	9.13		14.21	
8	K+3	7.34	9.75		13.56	
9	K+4	8.11	8.84		14.14	
10	K+5	7.22	9.94		15.26	
11	P1-1	7.22	9.94	10.15	12.51	12.14
12	P1-2	6.53	10.96		12.51	
13	P1-3	6.78	10.62		12.05	
14	P1-4	6.99	10.19		12.08	
15	P1-5	7.92	9.02		11.54	
16	P2.1	6.19	11.50	11.26	10.59	10.43
17	P2.2	6.85	10.48		9.59	
18	P2.3	6.09	11.77		11.02	
19	P2.4	6.43	11.13		10.22	
20	P2.5	6.25	11.43		10.75	
21	P3.1	6.88	10.38	10.48	10.67	10.94
22	P3.2	6.55	10.90		10.93	
23	P3.3	7.02	10.23		11.75	
24	P3.4	6.73	10.69		11.04	
25	P3.5	6.97	10.20		10.31	

Padang, 04 Februari 2013

Ketua Bagian,

Dr. Eti Yelizel, MS



```

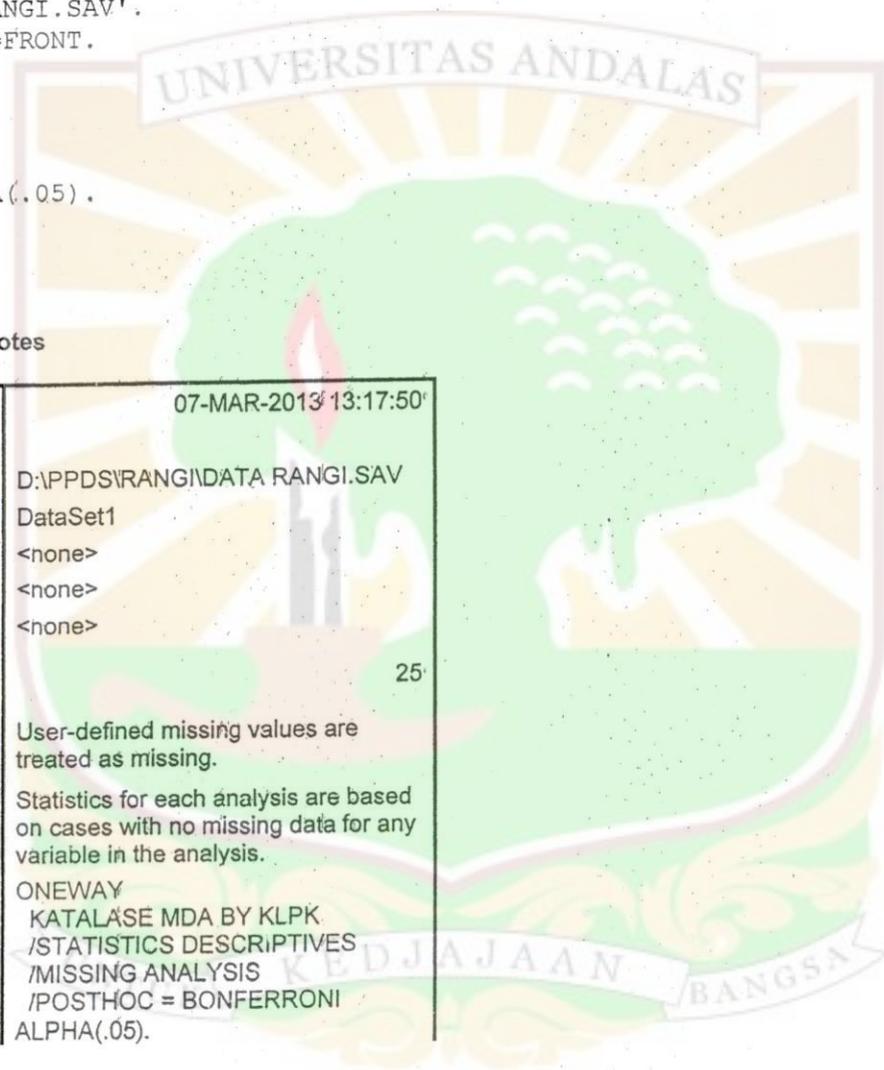
GET
FILE='D:\PPDS\RANGI\DATA RANGI.SAV'.
DATASET NAME DataSet1 WINDOW=FRONT.
ONEWAY
KATALASE MDA BY KLPK
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC = BONFERRONI ALPHA(.05).

```

## Oneway

### Notes

Output Created	07-MAR-2013 13:17:50'	
Comments		
Input	Data	D:\PPDS\RANGI\DATA RANGI.SAV
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	25
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on cases with no missing data for any variable in the analysis.
Syntax	ONEWAY KATALASE MDA BY KLPK /STATISTICS DESCRIPTIVES /MISSING ANALYSIS /POSTHOC = BONFERRONI ALPHA(.05).	



Resources

Elapsed Time

0:00:00.05

Processor Time

0:00:00.02

[DataSet1] D:\PPDS\RANGI\DATA RANGI.SAV

## Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound
KATALASE	1.00	5	11.6840	.73412	.32831	10.7725	12.5955	10.42	12.27
	2.00	5	9.2800	.53949	.24127	8.6101	9.9499	8.74	9.94
	3.00	5	10.1460	.74154	.33163	9.2253	11.0667	9.02	10.96
	4.00	5	11.2620	.49292	.22044	10.6500	11.8740	10.48	11.77
	5.00	5	10.4800	.30471	.13627	10.1016	10.8584	10.20	10.90
	Total	25	10.5704	1.01493	.20299	10.1515	10.9893	8.74	12.27
MDA	1.00	5	10.0280	.38193	.17080	9.5538	10.5022	9.41	10.38
	2.00	5	14.3720	.63818	.28540	13.5796	15.1644	13.56	15.26
	3.00	5	12.1380	.40171	.17965	11.6392	12.6368	11.54	12.51
	4.00	5	10.4340	.55356	.24756	9.7467	11.1213	9.59	11.02
	5.00	5	10.9400	.53292	.23833	10.2783	11.6017	10.31	11.75
	Total	25	11.5824	1.66347	.33269	10.8958	12.2690	9.41	15.26

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
KATALASE	Between Groups	17.859	4	4.465	13.012	.000
	Within Groups	6.863	20	.343		
	Total	24.722	24			
MDA	Between Groups	61.191	4	15.298	58.615	.000
	Within Groups	5.220	20	.261		
	Total	66.411	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Bonferroni

Dependent Variable	(I) KLPK	(J) KLPK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
KATALASE	1.00	2.00	2.40400(*)	.37048	.000	1.2357	3.5723
		3.00	1.53800(*)	.37048	.005	.3697	2.7063
		4.00	.42200	.37048	1.000	-.7463	1.5903
		5.00	1.20400(*)	.37048	.040	.0357	2.3723
	2.00	1.00	-2.40400(*)	.37048	.000	-3.5723	-1.2357
		3.00	-.86600	.37048	.299	-2.0343	.3023
		4.00	-1.98200(*)	.37048	.000	-3.1503	-.8137
	3.00	5.00	-1.20000(*)	.37048	.041	-2.3683	-.0317
		1.00	-1.53800(*)	.37048	.005	-2.7063	-.3697
		2.00	.86600	.37048	.299	-.3023	2.0343

MDA

	4.00	-1.11600	.37048	.069	-2.2843	.0523
	5.00	-.33400	.37048	1.000	-1.5023	.8343
4.00	1.00	-.42200	.37048	1.000	-1.5903	.7463
	2.00	1.98200(*)	.37048	.000	.8137	3.1503
	3.00	1.11600	.37048	.069	-.0523	2.2843
	5.00	.78200	.37048	.476	-.3863	1.9503
5.00	1.00	-1.20400(*)	.37048	.040	-2.3723	-.0357
	2.00	1.20000(*)	.37048	.041	.0317	2.3683
	3.00	.33400	.37048	1.000	-.8343	1.5023
	4.00	-.78200	.37048	.476	-1.9503	.3863
1.00	2.00	-4.34400(*)	.32310	.000	-5.3629	-3.3251
	3.00	-2.11000(*)	.32310	.000	-3.1289	-1.0911
	4.00	-.40600	.32310	1.000	-1.4249	.6129
	5.00	-.91200	.32310	.105	-1.9309	.1069
2.00	1.00	4.34400(*)	.32310	.000	3.3251	5.3629
	3.00	2.23400(*)	.32310	.000	1.2151	3.2529
	4.00	3.93800(*)	.32310	.000	2.9191	4.9569
	5.00	3.43200(*)	.32310	.000	2.4131	4.4509
3.00	1.00	2.11000(*)	.32310	.000	1.0911	3.1289
	2.00	-2.23400(*)	.32310	.000	-3.2529	-1.2151
	4.00	1.70400(*)	.32310	.000	.6851	2.7229
	5.00	1.19800(*)	.32310	.014	.1791	2.2169
4.00	1.00	.40600	.32310	1.000	-.6129	1.4249
	2.00	-3.93800(*)	.32310	.000	-4.9569	-2.9191
	3.00	-1.70400(*)	.32310	.000	-2.7229	-.6851
	5.00	-.50600	.32310	1.000	-1.5249	.5129
5.00	1.00	.91200	.32310	.105	-.1069	1.9309
	2.00	-3.43200(*)	.32310	.000	-4.4509	-2.4131
	3.00	-1.19800(*)	.32310	.014	-2.2169	-.1791
	4.00	.50600	.32310	1.000	-.5129	1.5249

\* The mean difference is significant at the .05 level.

EXAMINE

VARIABLES=KATALASE MDA BY KLPK

/PLOT BOXPLOT

/COMPARE GROUP

/STATISTICS DESCRIPTIVES

/CINTERVAL 95

/MISSING LISTWISE

/NOTOTAL.

## Explore

Notes

Output Created	07-MAR-2013 13:18:38	
Comments		
Input	Data	D:\PPDS\IRANGI\DATA RANGI.SAV
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	25
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values for dependent variables are treated as missing.
	Cases Used	Statistics are based on cases with no missing values for any dependent variable or factor used.
Syntax	EXAMINE VARIABLES=KATALASE MDA BY KLPK /PLOT BOXPLOT /COMPARE GROUP	

Resources

Elapsed Time

/STATISTICS DESCRIPTIVES  
/CINTERVAL 95  
/MISSING LISTWISE  
/NOTOTAL.

0:00:00.58

Processor Time

0:00:00.45

[DataSet1] D:\PPDS\RANGI\DATA RANGI.SAV

### KLPK

#### Case Processing Summary

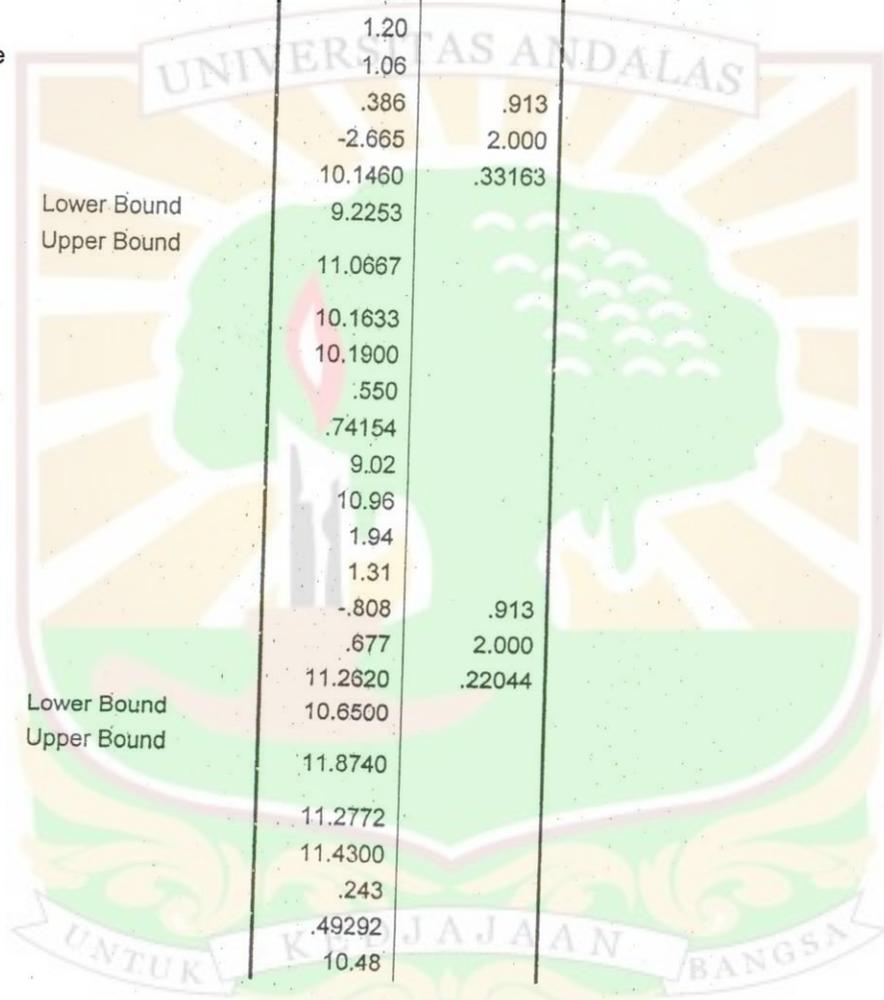
	KLPK	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
KATALASE	1.00	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	2.00	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	3.00	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	4.00	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	5.00	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
MDA	1.00	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	2.00	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

3.00	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
4.00	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
5.00	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

Descriptives

KLPK		Statistic	Std. Error
KATALASE	1.00	Mean	11.6840
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	10.7725
		Upper Bound	12.5955
	5% Trimmed Mean	11.7217	
	Median	11.9200	
	Variance	.539	
	Std. Deviation	.73412	
	Minimum	10.42	
	Maximum	12.27	
	Range	1.85	
	Interquartile Range	1.10	
	Skewness	-1.836	.913
	Kurtosis	3.613	2.000
	2.00	Mean	9.2800
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	8.6101
		Upper Bound	9.9499
5% Trimmed Mean		9.2733	
Median		9.1300	
Variance		.291	
Std. Deviation		.53949	

	Minimum		8.74	
	Maximum		9.94	
	Range		1.20	
	Interquartile Range		1.06	
	Skewness		.386	.913
	Kurtosis:		-2.665	2.000
3.00	Mean		10.1460	.33163
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	9.2253	
		Upper Bound	11.0667	
	5% Trimmed Mean		10.1633	
	Median		10.1900	
	Variance		.550	
	Std. Deviation		.74154	
	Minimum		9.02	
	Maximum		10.96	
	Range		1.94	
	Interquartile Range		1.31	
	Skewness		-.808	.913
	Kurtosis:		.677	2.000
4.00	Mean		11.2620	.22044
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	10.6500	
		Upper Bound	11.8740	
	5% Trimmed Mean		11.2772	
	Median		11.4300	
	Variance		.243	
	Std. Deviation		.49292	
	Minimum		10.48	

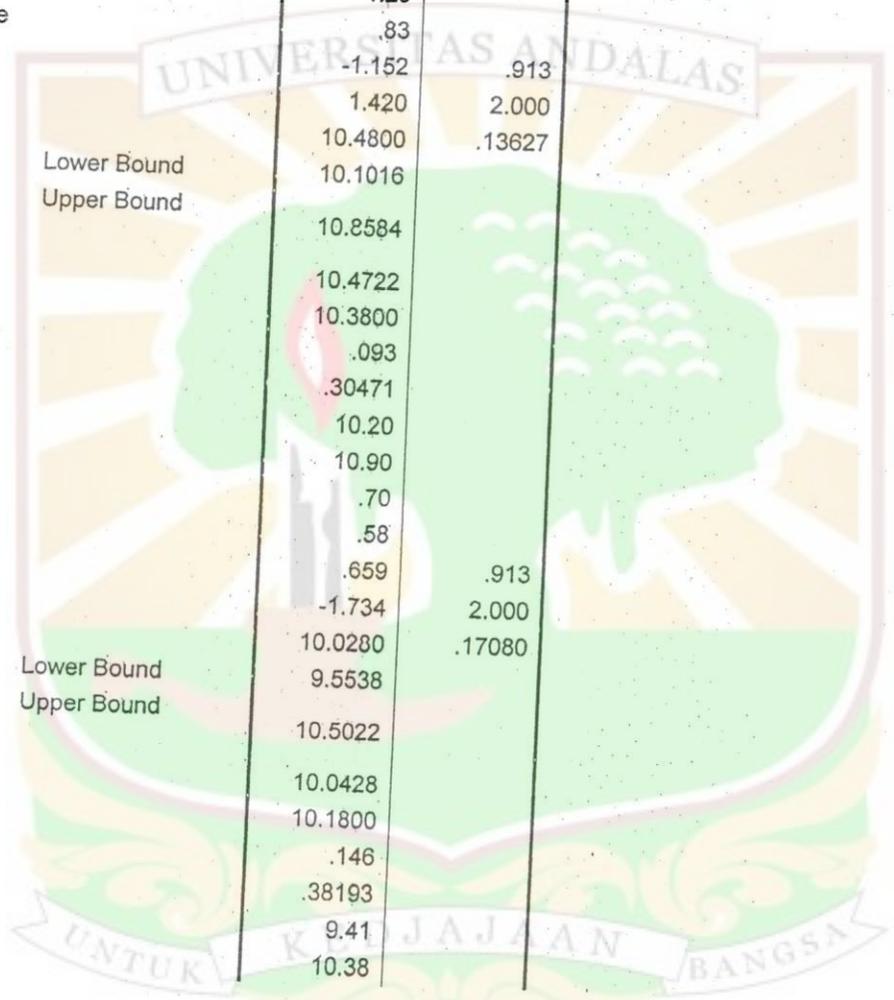


MDA

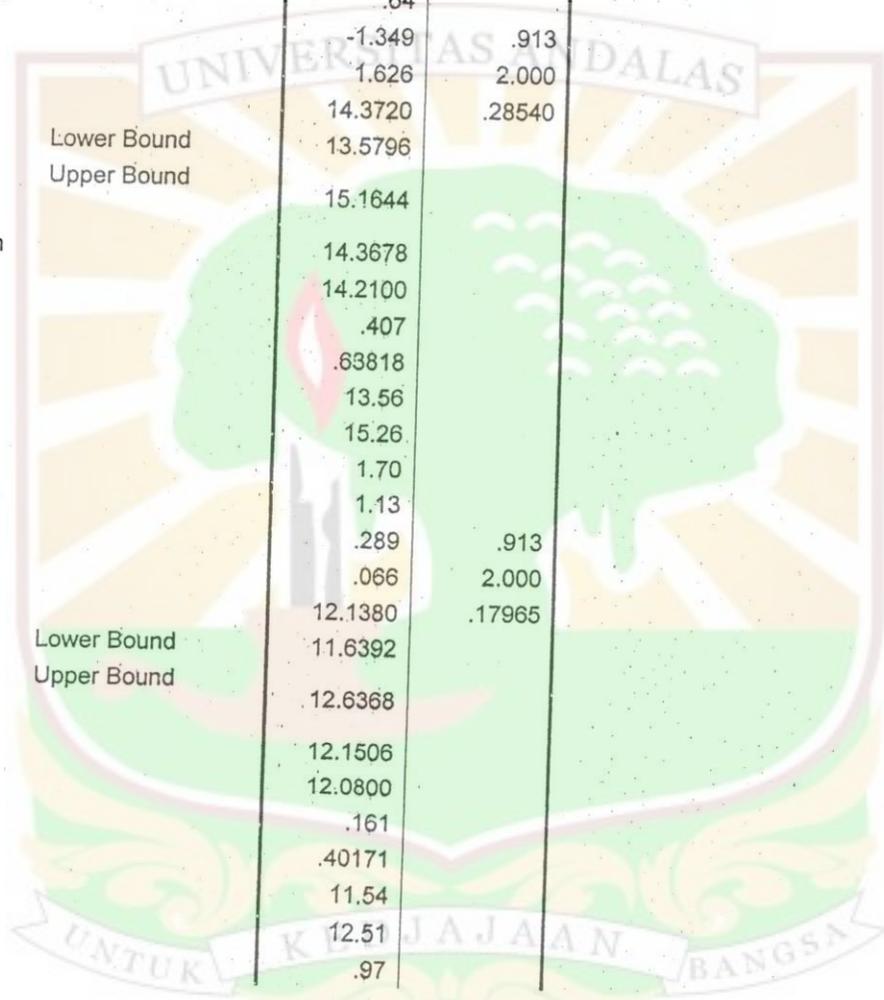
5.00

1.00

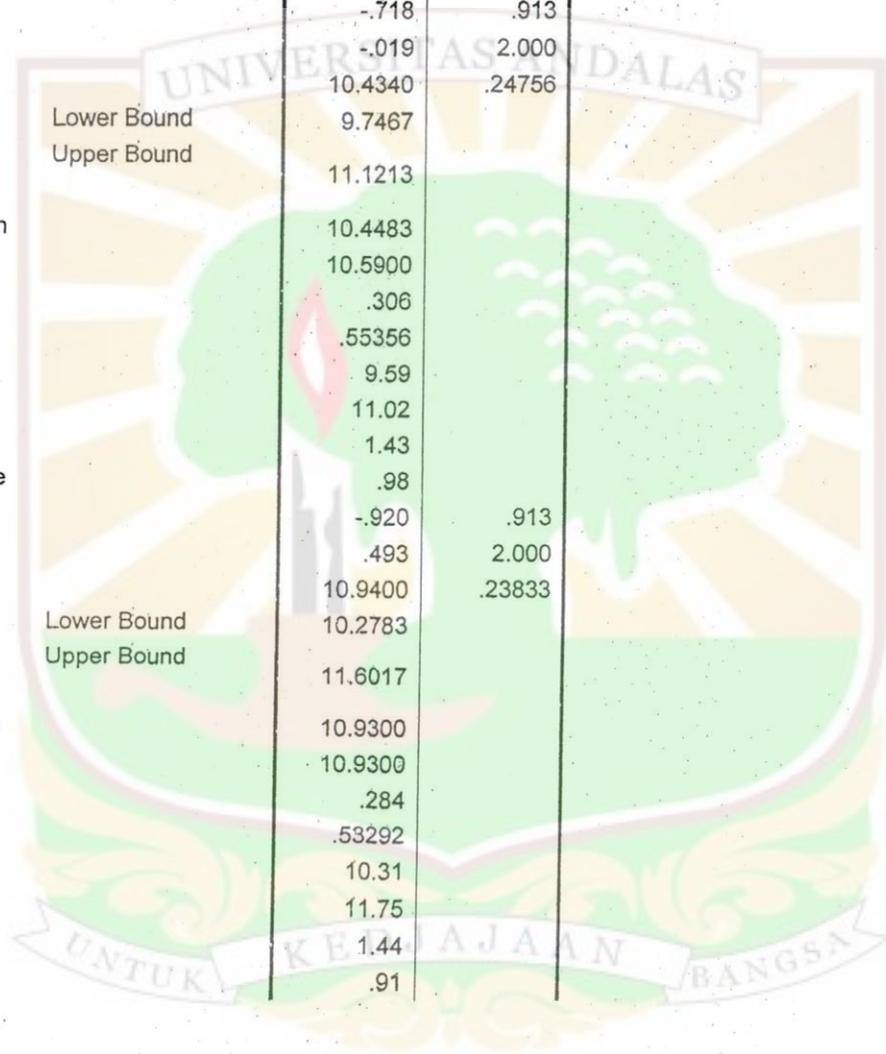
Maximum		11.77	
Range		1.29	
Interquartile Range		.83	
Skewness		-1.152	.913
Kurtosis		1.420	2.000
Mean		10.4800	.13627
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	10.1016	
	Upper Bound	10.8584	
5% Trimmed Mean		10.4722	
Median		10.3800	
Variance		.093	
Std. Deviation		.30471	
Minimum		10.20	
Maximum		10.90	
Range		.70	
Interquartile Range		.58	
Skewness		.659	.913
Kurtosis		-1.734	2.000
Mean		10.0280	.17080
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	9.5538	
	Upper Bound	10.5022	
5% Trimmed Mean		10.0428	
Median		10.1800	
Variance		.146	
Std. Deviation		.38193	
Minimum		9.41	
Maximum		10.38	



	Range		.97	
	Interquartile Range		.64	
	Skewness		-1.349	.913
	Kurtosis		1.626	2.000
2.00	Mean		14.3720	.28540
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	13.5796	
		Upper Bound	15.1644	
	5% Trimmed Mean		14.3678	
	Median		14.2100	
	Variance		.407	
	Std. Deviation		.63818	
	Minimum		13.56	
	Maximum		15.26	
	Range		1.70	
	Interquartile Range		1.13	
	Skewness		.289	.913
	Kurtosis		.066	2.000
3.00	Mean		12.1380	.17965
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	11.6392	
		Upper Bound	12.6368	
	5% Trimmed Mean		12.1506	
	Median		12.0800	
	Variance		.161	
	Std. Deviation		.40171	
	Minimum		11.54	
	Maximum		12.51	
	Range		.97	



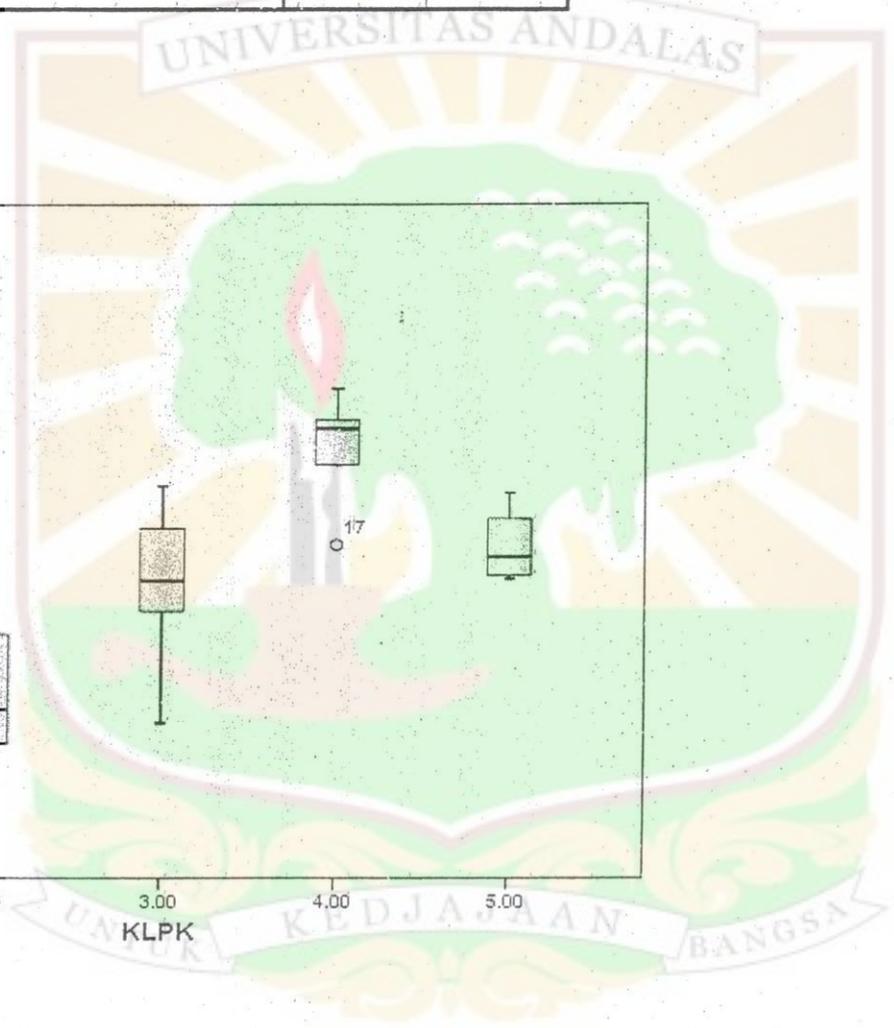
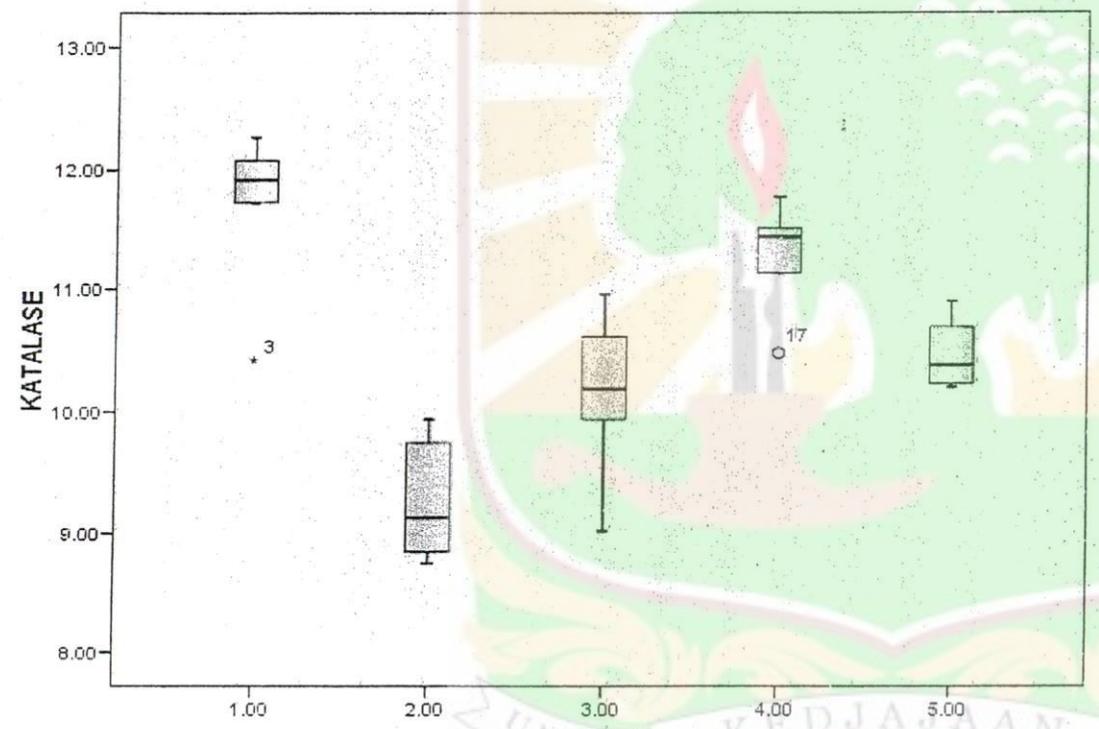
	Interquartile Range		.72	
	Skewness		-.718	.913
	Kurtosis		-.019	2.000
4.00	Mean		10.4340	.24756
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	9.7467	
		Upper Bound	11.1213	
	5% Trimmed Mean		10.4483	
	Median		10.5900	
	Variance		.306	
	Std. Deviation		.55356	
	Minimum		9.59	
	Maximum		11.02	
	Range		1.43	
	Interquartile Range		.98	
	Skewness		-.920	.913
	Kurtosis		.493	2.000
5.00	Mean		10.9400	.23833
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	10.2783	
		Upper Bound	11.6017	
	5% Trimmed Mean		10.9300	
	Median		10.9300	
	Variance		.284	
	Std. Deviation		.53292	
	Minimum		10.31	
	Maximum		11.75	
	Range		1.44	
	Interquartile Range		.91	



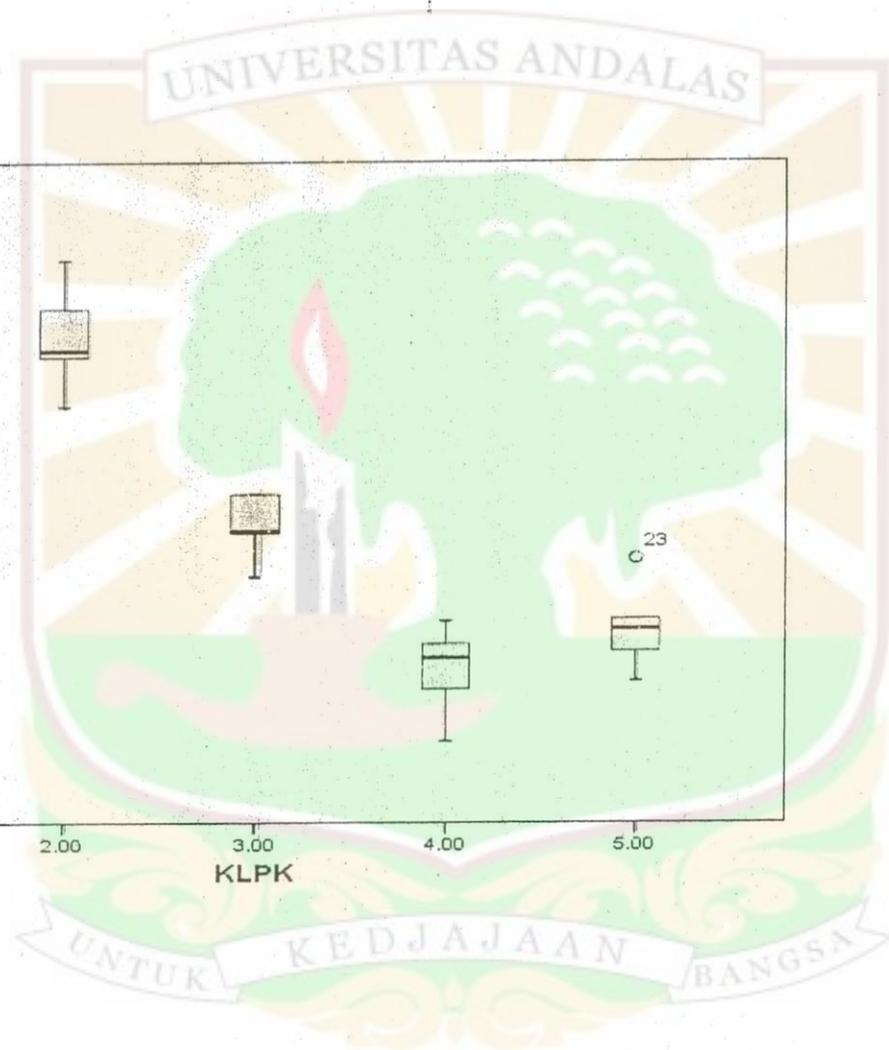
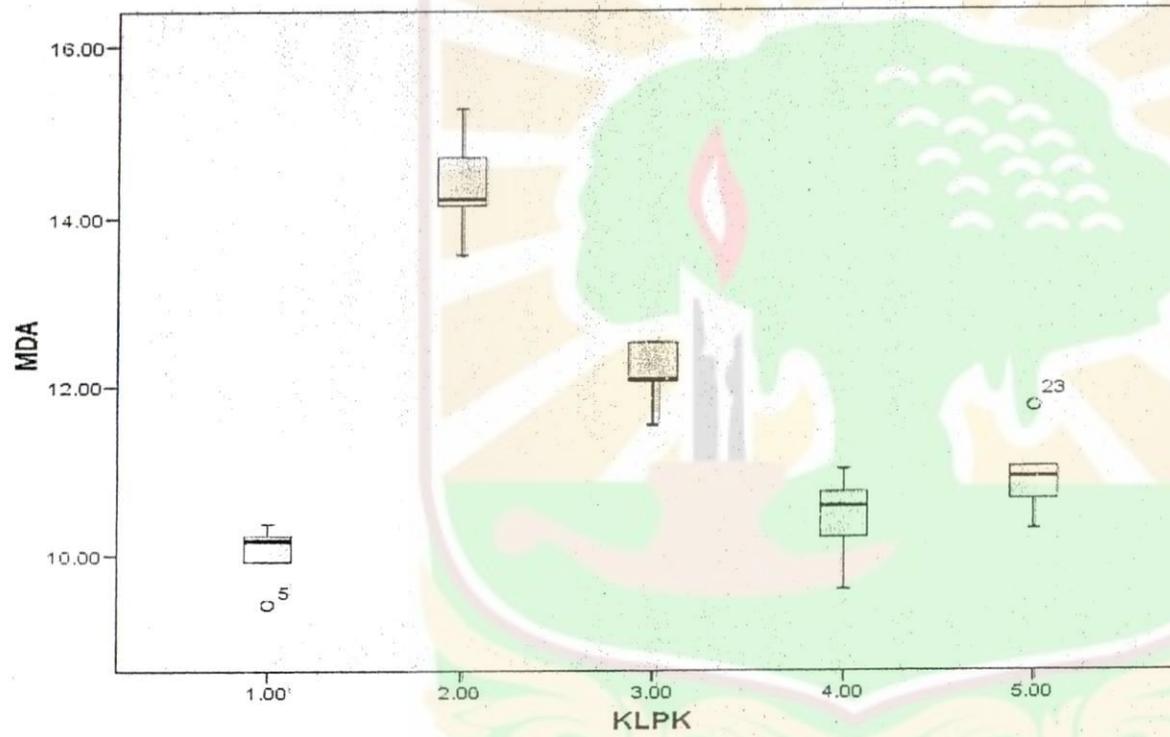
Skewness  
Kurtosis

.723	.913
1.197	2.000

# KATALASE



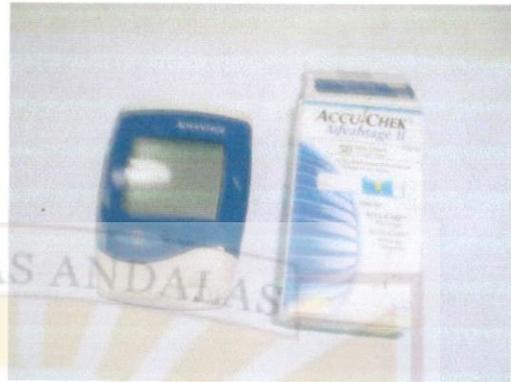
# MDA



Aloksan



Alat Pengukur Kadar Gula Darah



Microlab



Centrifus



Dietil Eter



Vortex Mixer



Spectrofotometer



Kid MDA



Hasil Pemeriksaan katalase



Pengelompokan Tikus



Waterbath

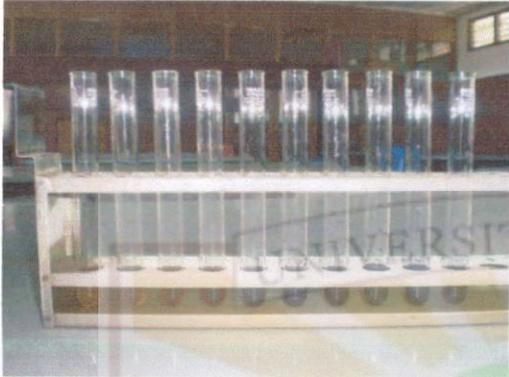


KEDJAJAAN

Serum



## Hasil Pemeriksaan Katalase



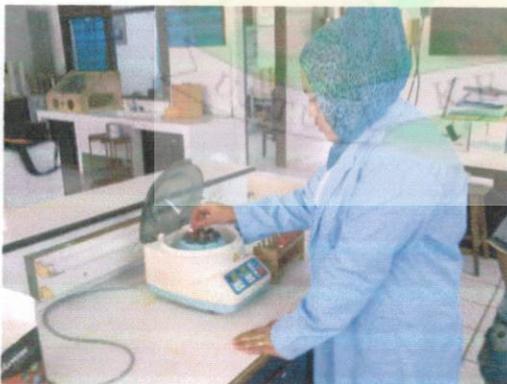
Pengambilan Darah Tikus

Pemisahan Serum Dengan Darah



Sentrifus

Organ Tikus



Penimbangan Berat Badan Tikus



Ekstrak Jintan hitam

