

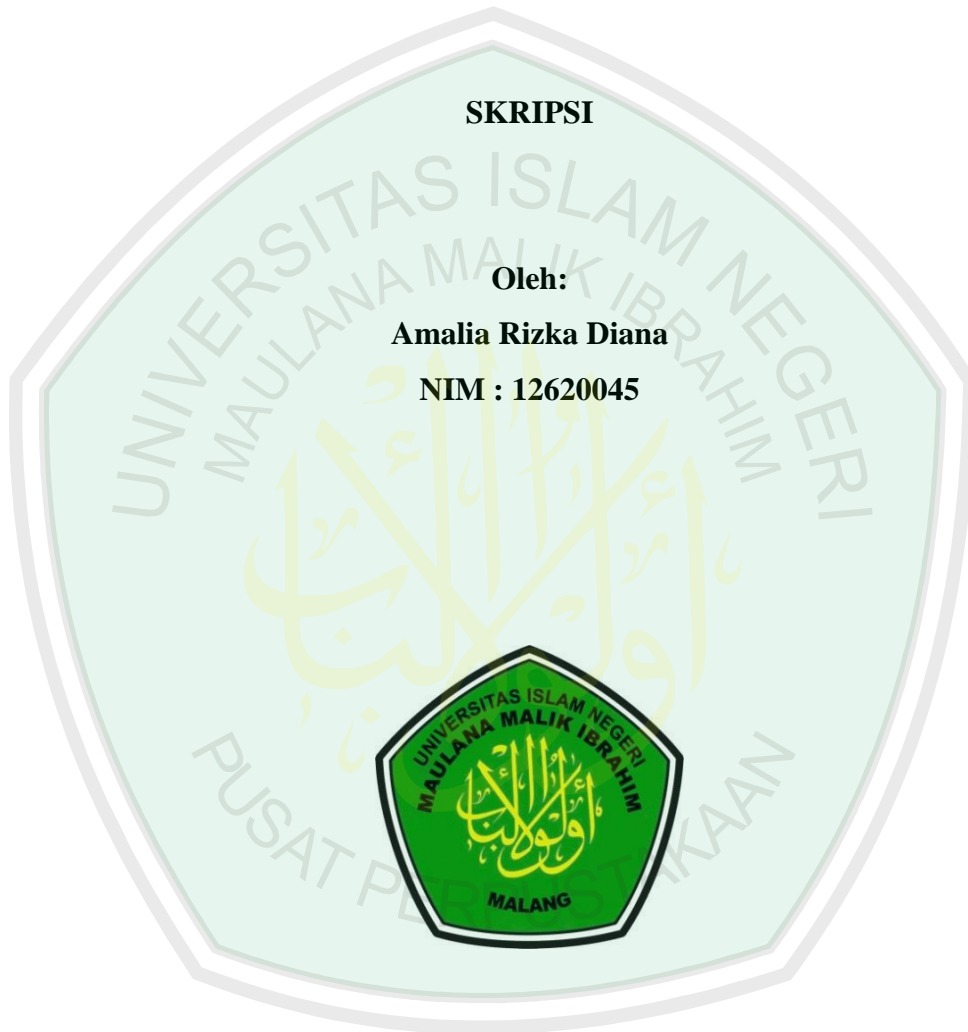
**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 80% BIJI JINTAN
HITAM (*Nigella sativa* L.) INDONESIA TERHADAP KADAR
SOD DAN MDA TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL
DM TIPE 2**

SKRIPSI

Oleh:

Amalia Rizka Diana

NIM : 12620045



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2016**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 80% BIJI JINTAN
HITAM (*Nigella sativa* L.) INDONESIA TERHADAP KADAR
SOD DAN MDA TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL
DM TIPE 2**

SKRIPSI

Diajukan Kepada :
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh:

Amalia Rizka Diana
NIM : 12620045

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG

2016

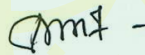
**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 80%
BIJI JINTAN HITAM (*Nigella Sativa* L.) INDONESIA
TERHADAP KADAR SOD DAN MDA TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL
DIABETES MELITUS TIPE 2**

SKRIPSI

Oleh:
AMALIA RIZKA DIANA
NIM. 12620045

Telah disetujui oleh:

Pembimbing I



Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

Pembimbing II



Umaiyatus Svarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005

Tanggal, 1 Juli 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 80%
BIJI JINTAN HITAM (*Nigella Sativa* L.) INDONESIA
TERHADAP KADAR SOD DAN MDA TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL
DIABETES MELITUS TIPE 2**

SKRIPSI

Oleh:
AMALIA RIZKA DIANA
NIM. 12620045

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal 1 Juli 2016:

Penguji Utama	Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si NIP. 19710919 200003 2 001	
Ketua Penguji	dr. Nurlaili Susanti, M. Biomed NIP. 19831024 201101 2 007	
Sekretaris Penguji	Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si NIP. 19671113 199402 2 001	
Anggota Penguji	Umaiyatus Syarifah, M.A NIP. 19820925 200901 2 005	

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : AMALIA RIZKA DIANA
NIM : 12620045
Fakultas/ Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi
Judul penelitian : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 80% Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa* L.) Indonesia Terhadap Kadar SOD dan MDA Tikus (*Rattus Norvegicus*) Model DM Tipe 2.

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggungjawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 1 Juli 2016

Yang Membuat Pernyataan,



Amalia Rizka Diana

NIM. 12620045



خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمُ لِلنَّاسِ

“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia” (HR. Ahmad, ath-Thabrani, ad-Daruqutni. Hadits ini dihasankan oleh al-Albani di dalam *ShahihulJami’* no:3289).

Lembar Persembahan

Alhamdulillahirobbil'alamin

Karya sederhana ini kupersembahkan untuk :

Bapak Mukri dan Ibu Siti Mardiyah, karena doa Beliau berdualah Amel dapat menyelesaikan pendidikan jenjang S1 ini dengan tanpa kendala yang berarti. Terimakasih atas semua dukungan, doa dan kepercayaan yang diberikan kepada Amel. Teruntuk adek ku Muhammad Iqbal Fatoni terimakasih atas setiap doa yang teruntai dalam setiap sholat dan semangat yang tiada hentinya untuk mbak.

Terimakasih kepada dosen pembimbing Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si dan Ibu Umaiatus Syarifah M.A. berkat bimbingan dari Beliau berdua saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan tanpa kendala yang berarti. Terimakasih juga saya ucapkan kepada Muhammad Basyarudin, M.Si selaku laboran yang telah sabar dan banyak membantu saya dan tim untuk menyelesaikan penelitian.

Terimakasih untuk tim DM 2, Nailirrohmah Hidayatin, Vikki Ainuzzaki, Ahmad Ghazali, dan Muhammad Rizqon Nadif yang telah berjuang bersama selama hampir satu semester dan banyak membantu saya pada jalannya penelitian dan pengerjaan skripsi.

Terimakasih pada keluarga besar Biologi UIN MALIKI MALANG atas semua dukungan, doa dan semangat yang tiada henti, khususnya Nayla Alinnaja, Ahmad Fuaddudin, Irsyandi Fadhurniawan, Muhammad An'naim dan semua anggota Bio 2012 yang tak bisa saya sebutkan satu persatu.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 80% Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia Terhadap Kadar SOD dan MDA Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Melitus Tipe 2” yang merupakan bagian dari penelitian bersama dengan judul “ Potensi Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia Sebagai Antidiabetes Melitus Tipe 2”, dengan ketua penelitian Dr. Retno Susilowati, M.Si. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada baginda Rasul Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terimakasih seiring doa dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terimakasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si, selaku dosen pembimbing Jurusan Biologi sekaligus dosen wali yang telah sabar memberikan bimbingan dan arahan.

5. Umaiatus Syarifah, M.A, selaku dosen pembimbing integrasi sains dan agama yang telah memberikan arahan serta pandangan sains dari prespektif Islam.
6. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed, sebagai dosen penguji yang telah memberikan saran terbaiknya.
7. Dosen 1 tim penelitian Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si, dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed dan dr. Ana Rahmawati, terimakasih atas bimbingan, arahan dan kerjasamanya hingga terselesaikannya penelitian ini.
8. Segenap civitas akademika Jurusan Biologi, terutama seluruh Bapak/ Ibu dosen, terimakasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
9. Ayah dan Ibu serta keluarga besar yang menjadi penyemangat serta motivasi kepada penulis sampai saat ini.
10. Seluruh teman-teman Biologi angkatan 2012, khususnya teman 1 tim yang berjuang bersama-sama untuk mencapai kesuksesan yang diimpikan.
11. Semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa moril maupun materiil.

Penulis berharap semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya serta menambah khasanah ilmu pengetahuan. *Aamiin Ya Rabbal Alamiin.*

Waasalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 1 Juli 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
خلاصة	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1-6
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Hipotesis	7
1.5 Manfaat Penelitian	8
1.6 Batasan Masalah	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Diabetes Melitus	9
2.1.1 Patofisiologi	9-10
2.1.2 Klasifikasi Diabetes Melitus Tipe 2	10-12
2.1.3 Hewan Model Diabetes Melitus Tipe 2	12
2.2 Radikal Bebas	13-16
2.3 Hubungan Antara DM Dengan Radikal Bebas	16-19
2.4 Antioksidan	19-21
2.5 Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.) Indonesia	21-22
2.5.1 Deskripsi Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.) Indonesia	22
2.5.2 Klasifikasi Tanaman Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.) Indonesia	23
2.5.3 Morfologi Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.) Indonesia	23-26
2.5.4 Kandungan Kimia Jintan Hitam (<i>Nigella sativa</i> L.) Indonesia	27-28
2.6 Hubungan jintan Hitam dengan DM	28-29
2.7 Hepar dan Stres Oksidatif	30-31
2.8 Kerangka Pemikiran	32
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	33
3.2 Variabel Penelitian	33
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	34
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian	34

3.5	Alat dan Bahan.....	34
3.5.1	Alat	34
3.5.2	Bahan.....	35
3.6	Waktu dan Pelaksanaan Kegiatan	35
3.7	Prosedur Penelitian.....	35
3.7.1	Pembuatan Hewan Model DM 2	35
3.7.1.1	Aklimatisasi Hewan Coba	36
3.7.1.2	Prosedur Pembuatan Tikus Model DM 2.....	36-38
3.7.1.3	Pembuatan HFD	38
3.6.1.4	Pembuatan Larutan <i>Streptozotocin</i> (STZ) 30 mg/Kg BB ...	38
3.7.2	Pemberian Terapi Ekstrak Jintan Hitam	38
3.7.2.1	Prosedur Pemberian Terapi Ekstrak Jintan Hitam.....	38-39
3.7.2.2	Pembuatan Sediaan Larutan Na CMC-Na 5%	39
3.7.2.3	Pembuatan Ekstrak Jintan Hitam	40
3.7.2.4	Penentuan Dosis Metformin.....	40
3.7.3	Tahap Pengambilan Data	40
3.7.3.1	Pengukuran Kadar MDA	40
3.7.3.1.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	41
3.7.3.1.2	Pembuatan Kurva Standar.....	41
3.7.3.1.3	Pengukuran Kadar MDA.....	41-42
3.7.3.2	Pengukuran Kadar SOD.....	42
3.8	Analisis Data.....	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Hasil Penelitian	43
4.1.1	SOD	44-46
4.1.2	MDA	46-48
4.2	Pembahasan	48-63
BAB V PENUTUP		
5.1	Kesimpulan	64
5.2	Saran	64
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Mekanisme Peroksidasi PUFA menjadi MDA	14
Gambar 2.2 Reaksi Kondensasi Antara Satu Molekul MDA dengan Dua Molekul TBA pada Kondisi Asam	16
Gambar 2.3 Jalur Metabolisme Glukosa yang Dapat Menghasilkan ROS	16
Gambar 2.4 Peningkatan Kadar Glukosa Darah yang Menyebabkan Resistensi dan Pengurangan Jumlah Insulin	18
Gambar 2.5 Jintan Hitam	22
Gambar 2.6 Biji Jintan Hitam Indonesia	26
Gambar 2.7 Skema Mekanisme Umum dari Stres Oksidatif pada Hepar	31
Gambar 4.1 Diagram Aktivitas SOD	44
Gambar 4.2 Diagram Aktivitas MDA	46
Gambar 4.3 Mekanisme Peningkatan ROS pada Penderita DM 2	55
Gambar 4.4 Bagan Proses Pembentukan MDA	59

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi <i>Volatile Oil Nigella sativa</i> L.	24
Tabel 2.2 Komposisi Minyak dalam <i>Nigella sativa</i> L	25
Tabel 4.1 Hasil Uji <i>Duncan</i> Terhadap Rata-rata Kadar SOD	44
Tabel 4.2 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Terhadap Rata-rata Kadar MDA	46



ABSTRAK

Diana, Amalia Rizka. 2016. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 80% Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia Terhadap Kadar SOD dan MDA Tikus (*Rattus norvegicus*) Model DM Tipe 2**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I) Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si. (II) Umairatus Syarifah, M.A.

Kata Kunci: etanol 80%, biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia, SOD, MDA, DM Tipe 2.

Jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia merupakan tanaman herba berkhasiat obat, satu diantaranya yaitu sebagai antidiabetik. Biji jintan hitam Indonesia diketahui banyak mengandung antioksidan dari golongan terpen. Senyawa dari golongan terpen diduga dapat memperbaiki kondisi stres oksidatif pada DM 2 ditandai dengan peningkatan SOD dan penurunan MDA. Diharapkan ekstrak biji jintan hitam Indonesia menghasilkan dosis dengan efek yang menguntungkan bagi kondisi DM tipe 2.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan digunakan ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia dengan P1 (DM + ekstrak biji jintan hitam 24 mg/kgBB), P2 (DM + ekstrak biji jintan hitam 48 mg/kgBB), P4 (DM+ekstrak biji jintan hitam 72 mg/kgBB), K- (kontrol negatif, normal) dan K+ (kontrol positif, metformin). Hewan yang digunakan adalah tikus jantan galur wistar berumur 3-4 bulan dengan berat badan 150-200 g. Parameter dalam penelitian ini meliputi kadar SOD dan MDA hepar. Data yang memenuhi asumsi parametrik dianalisis dengan *Anova One Way* dan jika terdapat pengaruh maka dilanjutkan dengan uji *Duncan* sedangkan data yang tidak memenuhi asumsi parametrik dianalisis dengan *Kruskall-Wallis* dan jika terdapat pengaruh maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

Berdasarkan hasil analisis *Anova* menunjukkan ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia berpengaruh nyata terhadap kadar SOD dan uji *Kruskall-Wallis* menunjukkan ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia berpengaruh nyata terhadap kadar MDA. Dosis yang menunjukkan kadar SOD tertinggi dan kadar MDA terendah yaitu dosis 48 mg/kgBB, sedangkan dosis efektif yaitu dosis 24 mg/kgBB.

ABSTRACT

Diana, Amalia Rizka. 2016. **THE EFFECT OF 80% ETHANOL EXTRACT OF INDONESIAN BLACK CUMIN SEED (*Nigella sativa* L.) FOR SOD AND MDA LEVELS OF RATS (*Rattus norvegicus*) MODELS OF DM TYPE 2**. Thesis. Department of Biology Faculty of Science and Technology State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Preceptor: (1) Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si. (2) Umaiatus Syarifah, M.A.

Keywords: ethanol 80%, Indonesian black cumin seed (*Nigella sativa* L.), SOD, MDA, DM type 2.

Indonesian black cumin seed (*Nigella sativa* L.) is medicinal herb plant, one benefit of them is as antidiabetic. Indonesian black cumin seed known as rich in antioxidant from the class of terpenes. Compounds from the class of terpenes could be expected to improve the conditions of oxidative stress in DM 2 is marked by an increase in SOD and decrease MDA. Expected extract of black cumin seeds Indonesia produces dose with a beneficial effect on DM type 2 condition.

This research is an experimental research using complete random design (RAL) with 6 treatment and 4 repetition, treatment with 80% ethanol extract of Indonesian black cumin seed (*Nigella sativa* L.) with P1 (DM + extract of black cumin seeds 24 mg/kgBB), P2 (DM + extract of black cumin seeds 48 mg/kgBB), P4 (DM+ extract of black cumin seeds 72 mg/kgBB), K- (negatif control, normal) dan K+ (positif control, metformin). Animals used are Wistar strain male rats aged 3-4 months with weight 150-200 g. The parameters in this research include the levels of SOD and MDA of the liver. Data in accordance with the rules of parametric analyzed by One Way Anova and if there is influence then continued with Duncan test, while the data is not in accordance with the rules of parametric, analyzed with the Kruskal-Wallis and and if there is influence then continued with Mann-Whitney test.

Based on the test results of Annova show the 80% ethanol extract of Indonesian black cumin seeds (*Nigella sativa* L.) are significantly affected SOD levels. and the Kruskal-Wallis test showed 80% ethanol extract of Indonesian black cumin seeds (*Nigella sativa* L.) are significantly affected MDA levels. Dose that showed the highest SOD and lowest MDA levels are dose 48 mg/kgBB, while the effective dose is a dose of 24 mg/kgBB.

ملخص البحث

دياني, عمليا رزقي, 2016, تأثير الإيثانول 80% استخراج بذور الكمون الأسود الإندونيسيا (*Nigella sativa*) لمستويات SOD و MDA في الفئران (*Rattus Norvegicus*) بنموذج للمرض السكري الثاني (DM2). البحث الجامعي, قسم علم الحياة, كلية العلوم والتكنولوجيا, جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية. المشرفتان: الدكتور ريتنو سوسيلو واتي الماجستير وأمية الشريفة الماجستير. الكلمات الرئيسية: المرض السكري الثاني, ROS, بذرة الكمون الأسود إندونيسيا (*Nigella sativa*), SOD, MDA.

الكمون الأسود الإندونيسيا (*Nigella sativa*) هو مغذية النباتات العشبية للعلاج, أحد منافعه هي مكافحة السكري. كانت بذرة الكمون الأسود الإندونيسيا المعروفة لأنها تحتوي على المواد المضادة للأكسدة من قسم تارفان. المركبات من قسم تارفان يشتهر أنه يمكن تحسين حالة الأكسدة الإجمالية على 2 مارك ألماني ويتسم بزيادة SOD في والنقصان MDA. استخراج بذور الكمون الأسود الإندونيسيا المتوقعة إنتاج جرعة مع تأثير مفيد للمرض السكري الثاني (DM2).

يستخدم البحث عن النوع التجريبي باستخدام تصميم كاملة معشاة ذات شواهد (راؤول) مع ستة علاجات وأربعة تكرار. تشمل مجموعة التحكم K- (التحكم الفئران), K+ (DM2 + ekstras), metformin 45 mg/kg BB, معالجة مجموعات P1 (DM2 + ekstras 0 mg/kg BB), P2 (DM2 + ekstras 24 mg/kg BB), P3 (DM2 + ekstras 48 mmg/kg BB), P4 (DM2 + ekstras 72 mg/kg BB). صنع نموذج الفئران DM2 يتم عن طريق التغذية HFD قدر تسعة أسابيع وحقن 30 STZ ملغ/كغ داخلية مرتين في أسبوعين, ثم العلاج خارجية استخراج الإيثانول 80% بذور الكمون الأسود إندونيسيا (*Nigella sativa*) لمدة أربعة أسابيع. وكان المعلمات لنوعية المني تشمل غن التركيز والبقاء والحركية والشذوذ. كانت قاعدة البيانات وفقا لقواعد تحليل المعلمية One-way Anova واختبار ثم مع اختبار *Duncan*, بينما البيانات التي لا تمتثل لحدود المعلمية سيحللها كروسكال-واليس مع تحليلها واختبارها مع مان-ويتني.

استناداً إلى نتائج تحليل Anova يظهر أن الإيثانول 80% مستخرج بذور الكمون الأسود الإندونيسيا (*Nigella sativa*) إعطاء تأثير حقيقي في مستويات SOD واختبار كروسكال-واليس يظهر استخراج الإيثانول 80% من بذور الكمون الأسود الإندونيسيا (*Nigella sativa*) تأثير حقيقي في مستويات MDA. الجرعة التي أظهرت مستويات أعلى SOD ومستويات أدنى MDA يعني 48 ملغ/جرعة, و أما جرعة فعالية حين هي جرعة من 24 ملغ/كج.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan penyakit yang umum diderita oleh masyarakat negara maju maupun berkembang. Diabetes Melitus sendiri dibagi menjadi dua tipe, yaitu Diabetes Melitus tipe 1 (DM 1) dan Diabetes Melitus tipe 2 (DM 2). DM 1 merupakan penyakit degeneratif yang disebabkan oleh adanya kerusakan pada sel β pankreas, sedangkan DM 2 merupakan penyakit diabetes yang disebabkan oleh gaya hidup masyarakat dengan konsumsi makanan tinggi lemak kurang serat serta kurangnya olahraga (Posdatin, 2014).

Di seluruh penjuru dunia jumlah penyandang DM terus mengalami peningkatan, terutama DM 2. Menurut *International Diabetes Federation (IDF)* pada tahun 2012 angka kejadian DM di dunia sebanyak 371 juta jiwa dimana proporsi kejadian DM 2 adalah 95% dari populasi dunia yang menderita DM (Fatimah, 2015). Selanjutnya data Riset Kesehatan Dasar (Riset Kesehatan Dasar) juga menyebutkan bahwa pada tahun 2013 diperkirakan jumlah absolut penderita DM di Indonesia sebesar \pm 12 juta jiwa (Posdatin, 2014).

Angka penderita DM 2 yang terus meningkat menyebabkan penanganan penyakit lebih ditingkatkan baik berupa terapi maupun obat. Akan tetapi, fakta di pasaran menunjukkan bahwa obat untuk penyakit DM 2 cenderung mahal sehingga membutuhkan alternatif pengobatan lain untuk penyakit tersebut. Alternatif pengobatan penyakit ini dapat berupa model terapi baru maupun

pengobatan tradisional dengan menggunakan tanaman berkhasiat obat. Hakekatnya setiap penyakit yang ditimpakan pada hamba Allah pasti ada jalan penyembuhannya, dengan kata lain tidak ada penyakit yang tidak dapat disembuhkan. Hadits yang diriwayatkan oleh Abu Hurairah dalam *Shahihain* (Al-Jauziyah, 2008):

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنْ دَاءٍ إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tidak menurunkan penyakit, melainkan telah pula menurunkan obatnya*” (HR. Bukhari dan Muslim: 5678).

Hadis di atas mengandung makna bahwa segala sesuatu yang terjadi di dunia ada sebab dan cara penanganannya. Hadist tersebut memerintahkan kepada manusia untuk melakukan upaya yang tidak bertentangan dengan kodrat manusia, dimana manusia pasti bergantung kepada Allah SWT. Satu diantara tindakan yang tidak bertentangan dengan kodrat manusia menurut hadis di atas yaitu mencari obat yang sesuai dengan penyakit yang diderita. Keyakinan kepada keesaan Allah SWT hanya dapat direalisasikan dengan berupaya melakukan yang terbaik termasuk menghilangkan unsur-unsur yang merugikan dengan cara dan metode yang diperintahkan Allah SWT (Al-Jauziyah, 2008).

Obat yang banyak digunakan oleh masyarakat adalah obat sintetis. Obat sintetis biasa digunakan masyarakat untuk mengatasi berbagai penyakit satu diantaranya adalah diabetes. Obat untuk mengurangi efek dari diabetes yang sudah beredar di pasar bebas cukup banyak, akan tetapi masalah yang ada berkaitan dengan penggunaan obat adalah reaksi obat yang tidak dikehendaki

(ROTD/*adverse drug reaction*). ROTD adalah respons terhadap obat yang membahayakan atau tidak diharapkan yang terjadi pada dosis lazim dan dipakai oleh manusia (Trisna, 2000).

Di negara-negara barat, ROTD menyebabkan 3% sampai 12% dirawatnya pasien di rumah sakit dan mengalami peningkatan hingga 20% pada seluruh pasien selama dirawat di rumah sakit. Pada penelitian yang dilakukan di Swiss terdapat 2,8 % kejadian ROTD dengan manifestasi hipoglikemi yang terjadi karena penggunaan insulin dan glibenklamid. Obat hipoglikemi oral yang menyebabkan ROTD diantaranya adalah metformin (Onder, 2008).

Efek samping penggunaan obat sintetis seperti metformin memang banyak terjadi. Oleh karena itu masyarakat cenderung menggunakan obat herbal disebabkan harganya yang murah, mudah didapatkan dan rendah efek samping serta aman digunakan dalam jangka waktu yang lama (Suharmiati dan Roosihermiatie, 2012).

Allah SWT menjelaskan dalam firmanNya dalam Surat Asy-Syu'araa' (26): 7,

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”

Kata (زوج كريم) bermakna “tumbuh-tumbuhan yang baik”. Menurut tafsir Jalalain kata tumbuhan-tumbuhan yang baik berupa tanaman, buah-buahan dan

hewan. Tanaman yang dimaksud dalam tafsir tersebut berupa tanaman yang bermanfaat bagi makhluk hidup dan tidak bersifat merugikan, termasuk di dalamnya adalah tanaman yang dimanfaatkan sebagai pengobatan. Sebagian besar tanaman mengandung ratusan jenis senyawa kimia, baik yang telah diketahui jenis dan khasiatnya ataupun yang belum diketahui jenis dan khasiatnya. Senyawa kimia merupakan salah satu bahan dasar dalam pembuatan obat dari berbagai hasil pengkajian menunjukkan bahwa tanaman daerah tropis mempunyai potensi yang cukup besar untuk dikembangkan sebagai obat (Al-Qarni, 2008).

Satu diantara tanaman yang berpotensi sebagai obat yaitu jintan hitam (*Nigella sativa* L) Indonesia. Jintan hitam banyak diteliti dan kandungan kimiawinya telah banyak dianalisis termasuk aktifitas farmakologisnya terhadap penyakit pada hewan maupun manusia, akan tetapi jintan hitam hasil budidaya yang dilakukan di Indonesia belum banyak diteliti. Aktivitas farmakologi jintan hitam sendiri sebagian besar disumbangkan oleh *thymoquinone* (Mozaffari *et al.*, 2000).

Thymoquinone merupakan senyawa non polar yang terdapat dalam minyak atsiri jintan hitam. Penelitian El-Taher *et al* (1993) menyatakan bahwa kandungan minyak atsiri dalam biji jintan hitam adalah 0,40-0,45% dengan kandungan *thymoquinone* mencapai 27,8% dan kandungan monoterpen lain sebesar 46% seperti *p*-simen dan α -pinen. Penelitian lain menyebutkan kandungan *thymoquinone* dalam minyak atsiri jintan hitam sekitar 1,65% (Claudia *et al*, 2010).

Pemilihan pelarut dan tingkat kepolaran pelarut yang tepat diperlukan untuk memperoleh kandungan antioksidan seperti *thymoquinone* serta kandungan lain dari bahan yang diekstrak secara maksimal. Setiap bahan memerlukan pemilihan pelarut dan tingkat kepolaran pelarut yang berbeda. Macam pelarut dan tingkat kepolaran pelarut yang dipakai dalam proses ekstraksi dapat mempengaruhi proporsi senyawa-senyawa kandungan yang tersari yang akan mempengaruhi antioksidan ekstrak yang didapat (Markham, 1988).

Pernyataan ini sejalan dengan hasil penelitian Arista (2013) bahwa ekstrak etanol 80% memiliki kemampuan lebih baik dalam meredam radikal bebas dibanding ekstrak etanol 96%. Hal ini dikarenakan karena senyawa yang berperan sebagai antioksidan lebih bersifat polar sehingga lebih banyak terekstrak pada pelarut etanol 80%.

Proses ekstraksi biji jintan hitam dengan pelarut etanol 80% dapat membuat kandungan dari biji jintan hitam terekstrak lebih tinggi. Kandungan antioksidan dan asam lemak tidak jenuh yang tinggi dalam biji jintan hitam membuat tanaman ini potensial sebagai terapi untuk pengobatan penyakit DM 2 dengan karakteristik hiperglikemia. Hiperglikemia ini dapat menyebabkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau radikal bebas yang berlebihan dan akan memicu terjadinya stress oksidatif, yaitu suatu keadaan dimana jumlah radikal bebas yang diproduksi melebihi kapasitas tubuh untuk menangkalnya (Tsalisavrina, 2006).

Radikal bebas yang berlebihan dapat membahayakan tubuh karena dapat merusak makromolekul dalam sel seperti karbohidrat, protein, DNA dan

sebagainya. Kerusakan makromolekul umumnya terjadi di hepar yang selanjutnya dapat mengakibatkan kematian sel serta meningkatkan kadar malondialdehid (MDA) (Halliwell and Gutteridge, 1999). Malondialdehid (MDA) adalah senyawa yang bersifat toksik terhadap sel yang merupakan hasil dari reaksi radikal bebas berupa terputusnya rantai asam lemak (Sukmawati, 2005).

Secara normal, tubuh mempunyai strategi yang sistematis untuk memerangi pembentukan radikal bebas atau untuk mempercepat degradasi senyawa MDA. Sistem ini dapat berupa sistem enzimatik seperti peningkatan enzim superoksida dismutase (SOD) (Fridovich, 1975).

Superoxide dismutase (SOD) merupakan salah satu antioksidan endogen yang amat berperan dalam mengkatalisasi radikal bebas *anion superoxide* menjadi *hidrogen peroksida* dan molekul oksigen (Mates *et al.*, 1999). SOD sebagai antioksidan endogen akan meningkatkan aktivitasnya untuk meredam stres oksidatif, sehingga dapat melindungi sel-sel β pankreas (Arkhesi, 2008).

Berdasarkan pemaparan sebelumnya maka diperlukan penelitian mengenai potensi tanaman jintan hitam hasil budidaya Indonesia untuk pengobatan DM 2 dilihat dari kadar SOD dan MDA hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, karena salah satu indikasi berhasilnya terapi pengobatan penyakit diabetes melitus adalah peningkatan kadar SOD dan penurunan MDA (Suarsana, 2011). Selanjutnya dalam penelitian ini digunakan pemilihan dosis rendah sampai tinggi agar dapat digunakan sebagai terapi jika sesuai dengan dosis yang efektif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan dari latar belakang di atas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah:

1. Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia terhadap kenaikan kadar SOD dan penurunan kadar MDA tikus putih (*Rattus norvegicus*) DM tipe 2?
2. Berapa dosis pemberian ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia yang berpengaruh terhadap kenaikan kadar SOD dan penurunan kadar MDA tikus putih (*Rattus norvegicus*) DM tipe 2?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia terhadap kenaikan kadar SOD dan penurunan kadar MDA tikus *Rattus norvegicus* DM tipe 2.
2. Untuk mengetahui dosis pemberian ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia yang berpengaruh terhadap kadar SOD dan MDA tikus (*Rattus norvegicus*) DM tipe 2.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Ada pengaruh pemberian ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia terhadap kenaikan kadar SOD dan penurunan kadar MDA tikus (*Rattus norvegicus*) DM tipe 2.

2. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia terhadap kenaikan kadar SOD dan penurunan kadar MDA tikus (*Rattus norvegicus*) DM tipe 2.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang didapat dari penelitian ini adalah :

1. Secara teoritis, penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah mengenai kadar SOD dan MDA setelah pemberian ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.).
2. Secara aplikatif, penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan *adjuvant* terapi pada penderita diabetes melitus.

1.6. Batasan Penelitian

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Ekstrak etanol 80% yang digunakan berasal dari bagian biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang dibuat dalam 4 dosis perlakuan dengan 4 ulangan.
2. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, umur berumur 6-8 minggu dengan berat badan rata-rata 150-200 g.
3. Hewan coba DM tipe 2 didapatkan dengan perlakuan injeksi STZ dengan dosis 30 mg/kgBB.
4. Biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) diperoleh dari BALITRO Bogor.
5. Ekstrak jintan hitam diperoleh dengan metode maserasi dengan perbandingan 1 gr biji jintan hitam dengan 3 ml pelarut etanol 80%.
6. Pengukuran kadar SOD dan MDA dilakukan pada organ hepar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

2.1.1 Patofisiologi Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) merupakan kelainan metabolisme yang disebabkan oleh terjadinya kerusakan pada sel-sel β pulau Langerhans dalam kelenjar pankreas, sehingga hormon insulin disekresikan dalam jumlah yang sedikit, bahkan tidak sama sekali (Price dan Wilson, 2005). Diabetes melitus juga dapat disebabkan oleh terjadinya penurunan sensitifitas reseptor hormon insulin pada sel (Arulsevan dkk., 2006).

Pada DM tipe 2 terjadi 2 defek fisiologi yaitu abnormalitas sekresi insulin, dan resistensi kerjanya pada jaringan sasaran. Pada DM tipe 2 terjadi 3 fase urutan klinis. Pertama, glukosa plasma tetap normal meski pun terjadi resistensi insulin karena insulin meningkat. Pada fase kedua, resistensi insulin cenderung memburuk sehingga meski pun terjadi peningkatan konsentrasi insulin, tetap terjadi intoleransi glukosa dalam bentuk hiperglikemia setelah makan. Pada fase ketiga, resistensi insulin tidak berubah, tetapi sekresi insulin menurun, sehingga menyebabkan hiperglikemia puasa dan DM yang nyata (Foster, 2000).

Hipotesis menjelaskan adanya keterlibatan sintesis lemak terstimulasi insulin dalam hati dengan transpor lemak melalui VLDL menyebabkan penyimpanan lemak sekunder dalam otot. Peningkatan oksidasi lemak akan mengganggu ambilan glukosa dan sintesis glikogen. Keterlambatan penurunan

pelepasan insulin dapat disebabkan oleh efek toksik glukosa terhadap pulau Langerhans atau akibat defek genetik. Sebagian besar pasien DM tipe 2 mengalami obesitas, dan hal itu sendiri yang menyebabkan resistensi insulin (Foster, 2000).

Namun penderita DM tipe 2 yang relatif tidak obesitas dapat mengalami hiperinsulinemia dan pengurangan kepekaan insulin. Hal ini membuktikan bahwa obesitas bukan penyebab resistensi satu-satunya DM tipe 2 (Foster, 2000). Pada DM tipe 2, massa sel β utuh, sedangkan populasi sel α meningkat, sehingga menyebabkan peningkatan rasio sel α dan β . Hal ini menyebabkan kelebihan relatif glukagon dibanding insulin (Foster, 2000).

Sudah lama diketahui bahwa endapan amiloid ditemukan dalam pankreas pasien DM tipe 2, namun peranan amilin terkait dengan DM belum dapat dibuktikan. Amilin merupakan suatu peptida asam amino. Pada keadaan normal, amilin terbungkus bersama-sama insulin dalam granula sekretori dan dikeluarkan bersama-sama sebagai respons terhadap pengeluaran insulin (Dipiro dkk., 2005).

Penumpukan amilin dalam pulau Langerhans kemungkinan merupakan akibat kelebihan produksi sekunder karena resistensi insulin. Kemungkinan lain, penumpukan amilin dalam pulau Langerhans menyebabkan kegagalan lambatnya produksi insulin pada pasien yang sudah lama menderita DM tipe 2 (Foster, 2000).

2.1.2 Klasifikasi Diabetes Melitus

Klasifikasi Diabetes Melitus yang diperkenalkan oleh American Diabetes Association (ADA) dan disahkan oleh WHO (2008) adalah sebagai berikut:

1. Diabetes melitus tipe 1

Diabetes tipe 1 merupakan diabetes yang disebabkan oleh destruksi autoimun pada sel β pankreas. Hal ini mengakibatkan defisiensi sekresi insulin sehingga terjadi gangguan metabolisme (Dipiro dkk., 2005).

2. Diabetes melitus tipe 2

Diabetes tipe 2 merupakan diabetes yang terjadi karena insulin dalam tubuh tidak dapat berfungsi. Hal itu dapat disebabkan berbagai kemungkinan seperti kecacatan dalam produksi insulin, resistensi terhadap insulin atau berkurangnya sensitifitas (respon) sel dan jaringan tubuh terhadap insulin yang ditandai dengan meningkatnya kadar insulin di dalam darah. Selain itu juga dapat menimbulkan gangguan sekresi insulin dan produksi glukosa hepatic yang berlebihan. Pada awal perkembangan DM Tipe 2, sel-sel β menunjukkan gangguan dimana sekresi insulin gagal mengkompensasi resistensi insulin. Apabila tidak ditangani dengan baik, kerusakan sel-sel β pankreas akan terjadi secara progresif yang dapat mengakibatkan defisiensi insulin (Underwood, 1999).

3. Diabetes Gestational

DM ini terjadi akibat kenaikan kadar gula darah pada kehamilan (WHO, 2008). Wanita hamil yang belum pernah mengalami DM sebelumnya namun memiliki kadar gula yang tinggi ketika hamil dikatakan menderita DM gestational. DM gestational biasanya terdeteksi pertama kali pada usia kehamilan trimester II atau III (setelah usia kehamilan 3 atau 6 bulan) dan umumnya hilang dengan sendirinya setelah melahirkan. Diabetes gestational terjadi pada 3-5% wanita hamil (American Diabetes Association, 2015).

Mekanisme DM gestational belum diketahui secara pasti. Namun, besar kemungkinan terjadi akibat hambatan kerja insulin oleh hormon plasenta sehingga terjadi resistensi insulin. Resistensi insulin ini membuat tubuh bekerja keras untuk menghasilkan insulin sebanyak 3 kali dari normal. DM gestational terjadi ketika tubuh tidak dapat membuat dan menggunakan seluruh insulin yang digunakan selama kehamilan. Tanpa insulin, glukosa tidak dihantarkan ke jaringan untuk dirubah menjadi energi, sehingga glukosa meningkat dalam darah yang disebut dengan hiperglikemia (American Diabetes Association, 2015).

2.1.3. Hewan Model Diabetes Melitus Tipe 2

Hewan model diabetes melitus tipe 2 merupakan hewan model yang dirancang untuk dipergunakan dalam percobaan diabetes melitus. Tikus model dapat dibuat dengan pemberian diet tinggi lemak yang terdiri dari lemak, karbohidrat dan protein dengan konsentrasi lemak lebih banyak. Selanjutnya hewan diinjeksi *streptozotocin* dosis rendah (30 mg/kgBB). Kemudian setelah satu minggu diberikan lagi injeksi *streptozotocin* dosis rendah (Zhang *et al.*, 2008).

Diet tinggi lemak (HFD) berperan dalam perkembangan resistensi insulin yang mana merupakan satu diantara penanda penting dari DM tipe 2. Sedangkan di saat yang sama, injeksi STZ dosis rendah berperan dalam pengurangan sekresi insulin yang sesuai dengan tahap lanjut dari DM tipe 2 (Zhang *et al.*, 2008).

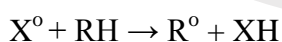
Kriteria hewan model yang dinyatakan berhasil jika kadar glukosa plasma 2 jam pada TTGO ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/L) (Purnamasari, 2009). Selanjutnya dalam penelitian Zhang *et al.* (2008) juga dinyatakan bahwa pembuatan tikus

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan sekelompok zat kimia yang sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas adalah oksidan, tetapi tidak semua oksidan merupakan radikal bebas. Oksidan merupakan senyawa yang dapat menerima elektron dan radikal bebas merupakan atom atau gugus yang orbital luarnya memiliki elektron yang tidak berpasangan (Fessenden, 1994).

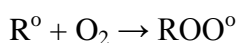
Stres oksidatif menyebabkan ketidakseimbangan dalam sistem pembentukan dan penangkapan radikal bebas sehingga menurunkan aktivitas antioksidan. (Kaleem dkk., 2006; Pari dkk., 2002). Peroksidasi lipid sebagai akibat dari stress oksidatif yang terjadi melalui tiga tahap merupakan reaksi berantai yang terus menghasilkan pasokan radikal bebas yang dapat merusak jaringan dan dapat menyebabkan penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit inflamasi, diabetes, penuaan dan lain-lain. Peroksidasi lipid terjadi melalui tiga tahap reaksi berantai, yaitu (Murray dkk., 2000):

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.

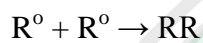
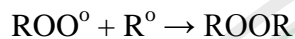
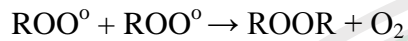
2. Propagasi





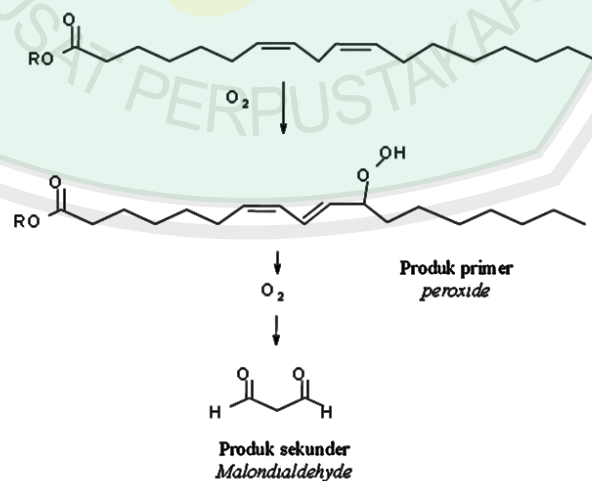
Hasil dari reaksi ini akan menjadi inisiator baru untuk bereaksi dengan PUFA yang lain sehingga menghasilkan produk radikal baru.

3. Terminasi



Tahap ini mengombinasikan dua radikal menjadi suatu produk non radikal.

Pengukuran tingkat peroksidasi lipid diukur dengan mengukur produk akhirnya, yaitu *malondialdehyde* (MDA), yang merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh dan yang bersifat toksik terhadap sel. Pengukuran kadar MDA merupakan pengukuran aktivitas radikal bebas secara tidak langsung sebagai indikator stres oksidatif. Pengukuran ini dilakukan dengan tes *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS test) (Slater, 1984; Powers and Jackson, 2008).

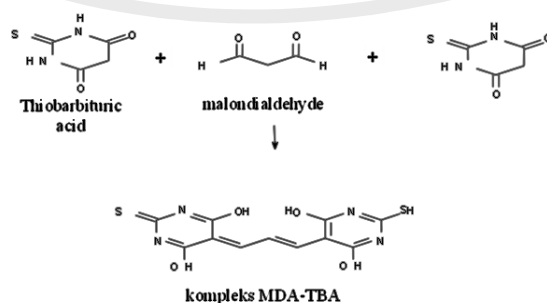


Gambar 2.1. Mekanisme Peroksidasi PUFA menjadi MDA (Murray dkk., 2000)

Tes ini didasarkan pada reaksi kondensasi antara satu molekul MDA dengan dua molekul TBA pada kondisi asam. Hasilnya adalah pigmen berwarna merah yang dapat diukur pada panjang gelombang 532 nm. Jumlah MDA yang terdeteksi menggambarkan banyaknya peroksidasi lipid yang terjadi (Josephy, 1997).

Proses peroksidasi lipid yang menyebabkan eliminasi MDA dari sirkulasi dengan bantuan enzim aldehyd dehidrogenase dan thiokinasi yang terjadi di hepar terjadi dalam waktu 2 jam pada tikus namun 10-30% melekat semi permanen pada protein dan dieliminasi dalam waktu 12 jam. Toksisitas MDA meningkat karena reaktivitasnya yang tinggi terutama terhadap protein dan DNA (Suarsana *et al.*, 2013).

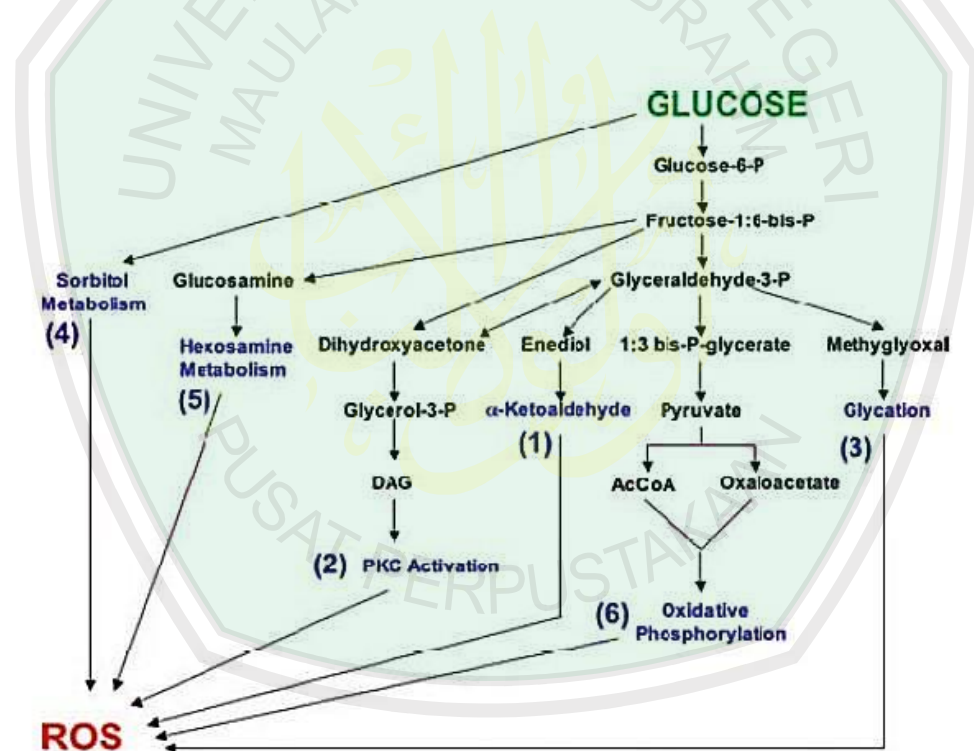
Kadar MDA telah digunakan secara luas sebagai indikator stres oksidatif pada lemak tak jenuh sekaligus merupakan indikator keberadaan radikal bebas. MDA merupakan senyawa berbentuk kristal putih yang higroskopis diperoleh dari hidrolisis asam 1,1,3,3 tetraethoxypropane. Radioaktif C-MDA dapat dibuat dari propanediol menggunakan alkohol dehidrogenase. MDA lebih stabil dalam plasma dan reaktivitasnya sangat tergantung pada pH (Robertson, 2004).



Gambar 2.2 Reaksi Kondensasi Antara Satu Molekul MDA dengan Dua Molekul TBA pada Kondisi Asam (Murray dkk., 2000)

2.3 Hubungan Antara Diabetes Melitus dengan Radikal Bebas

Pada diabetes melitus, pertahanan antioksidan dan sistem perbaikan seluler yang akan terangsang sebagai respon oksidatif (Nuttal *et al.*, 1999). Peningkatan kadar glukosa dapat menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) pada sel β melalui jalur autooksidasi glukosa, aktivasi protein kinase C (PKC), pembentukan metilglioksal dan glikasi, metabolisme heksosamin, pembentukan sorbitol, dan fosforilasi oksidatif (Robertson, 2004).



Gambar 2.3. Jalur metabolisme glukosa yang dapat menghasilkan ROS (Algameta, 2009)

1. Autooksidasi glukosa

Gliceraldehyde-3-Phospat dapat terenolisasi dan akan terbentuk ketonaldehid (jalur 1) (Wolff dan Dean, 1987).

2. Aktivasi protein kinase (PKC)

Dihidroksiaseton dapat mengalami reduksi menjadi gliserol 3-fosfat dan asilasi yang dapat meningkatkan pembentukan diasilgliserol (DAG). Pembentukan DAG dapat mengaktivasi PKC (jalur 2) (Robertson, 2004).

3. Pembentukan metil glioksal dan glikasi

Apabila pembentukan gliseraldehid 3-fosfat yang dikatalisasi gliseraldehid – fosfat dehidrogenase (GAPDH) mengalami kegagalan akibat tingginya kadar glukosa, akumulasi gliseraldehid 3-fosfat dan dihidroksiaseton mendorong pembentukan metilglioksal (jalur 3) (Robertson, 2004).

4. Pembentukan sorbitol

Jalur poliol – sorbitol pada hiperglikemia dapat mereduksi glukosa dan menghasilkan sorbitol dengan mediasi aldosa reduktase. Kemudian sorbitol dikonversi menjadi fruktosa oleh sorbitol dehidrogenase (jalur 4) (Chung dkk., 2003).

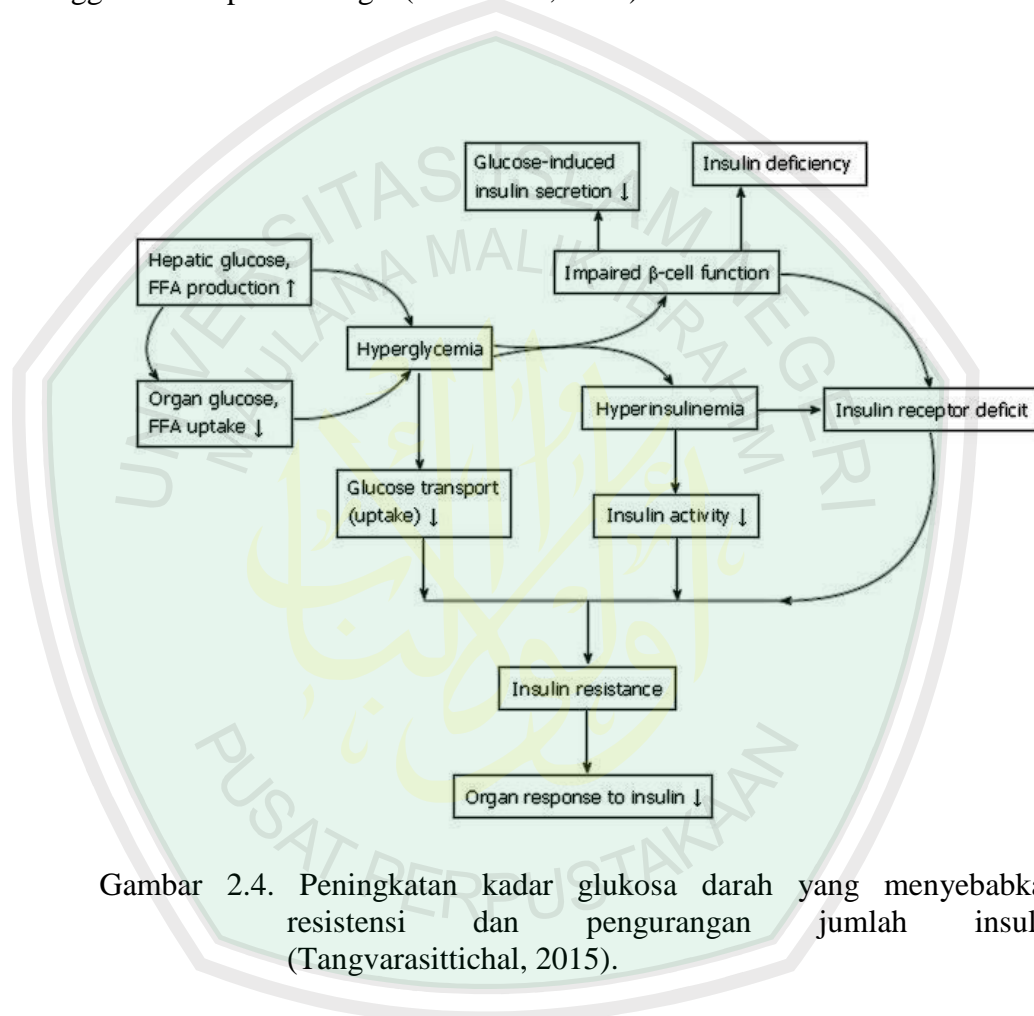
5. Metabolisme heksosamin

Pada kadar glukosa tinggi, fruktosa 6-fosfat melalui glutamine: fruktosa 6-fosfat aminotransferase (GFAT) akan membentuk glukosamin 6-fosfat (jalur 5) (Nishimura, 1998).

6. Fosforilasi oksidatif

Peningkatan kadar glukosa dapat meningkatkan proton mitokondria karena terlalu banyak donor elektron melalui siklus asam trikarboksilat. Hal ini dapat meningkatkan produksi superoksida mitokondria dan kegagalan pengeluaran insulin dari sel β pankreas (Robertson, 2004).

Peningkatan kadar glukosa dalam darah disebabkan oleh kerusakan pankreas sehingga tidak dapat menghasilkan insulin. Kerusakan pankreas ini dapat disebabkan oleh senyawa radikal bebas yang merusak sel-sel pada pankreas sehingga tidak dapat berfungsi (Studiawan, 2005).



Gambar 2.4. Peningkatan kadar glukosa darah yang menyebabkan resistensi dan pengurangan jumlah insulin (Tangvarasittichal, 2015).

Peningkatan radikal bebas secara umum menyebabkan gangguan fungsi sel dan kerusakan oksidatif pada membran. Pada kondisi tertentu antioksidan mempertahankan sistem perlindungan tubuh melalui efek penghambat pembentukan radikal bebas. Efisiensi mekanisme pertahanan tersebut mengalami perubahan pada diabetes mellitus. Penangkapan radikal bebas yang tidak efektif

dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Rajasekaran dkk., 2005; Kaleem dkk., 2006).

2.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi atau suatu zat yang dapat menetralkan atau menangkap radikal bebas (Murray dkk., 2000) dan melindungi jaringan biologis dari kerusakan akibat radikal bebas. Antioksidan berperan dalam pengobatan diabetes mellitus untuk memperbaiki sel β pankreas yang rusak sehingga dapat meningkatkan sekresi insulin (Chauhan dkk., 2010).

Atas dasar mekanisme kerjanya antioksidan dapat dibedakan menjadi 3 yaitu (Simanjuntak dan Sudaryati, 1998):

a. Antioksidan primer

Antioksidan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena dapat merubah radikal bebas menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum sempat bereaksi (Winarsi, 2005). Tubuh dapat menghasilkan antioksidan berupa enzim yang aktif bila didukung oleh nutrisi pendukung atau mineral yang disebut juga ko-faktor. Antioksidan primer yang berperan sebagai kofaktor yaitu (Algameta, 2009):

1. *Superoksida dismutase (SOD)*

Antioksidan ini merupakan enzim yang bekerja bila ada mineral-mineral seperti tembaga, mangan yang bersumber pada kacang-kacangan, padi-padian.

2. *Glutathione peroksidase*

Enzim tersebut mendukung aktivitas enzim SOD bersama-sama dengan enzim katalase dan menjaga konsentrasi oksigen akhir agar stabil dan tidak berubah menjadi pro-oksidan. *Glutathione* sangat penting sekali melindungi selaput-selaput sel.

3. Katalase

Enzim katalase di samping mendukung aktivitas enzim SOD juga dapat mengkatalisa perubahan berbagai macam peroksida dan radikal bebas menjadi oksigen dan air (Arulselvan dan Subramanian, 2007).

b. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

c. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah enzim (Winarsi, 2005).

Stres oksidatif menyebabkan ketidakseimbangan dalam sistem pembentukan dan penangkapan radikal bebas sehingga menurunkan aktivitas antioksidan (Kaleem dkk., 2006; Pari dan Latha, 2002). Secara umum reaktivitas oksigen pada sel ditangkap oleh enzim antioksidan. Penyakit diabetes melitus dapat menginduksi perubahan jaringan dan aktivitas enzim antioksidan. Agen

hipoglikemik herbal beraksi pada penangkapan metabolit oksigen atau meningkatkan sintesis molekul antioksidan (Mahdi dkk., 2003).

2.5 *Nigella sativa* L.

2.5.1 Deskripsi

Jintan Hitam, *Habattussauda*, *Black Seed*, *Black Cumin*, *Kalunji*, *Nutmeg Flower*, *Kalajira*, *Fennel flower*, and *Roman Coriander* adalah nama-nama yang umum dipakai untuk *Nigella sativa* L. Tanaman ini termasuk famili *Ranunculaceae* dan genus *Nigella* seperti yang terlihat pada gambar 2.5. Jintan hitam merupakan tanaman yang berasal dari Mediterania dan Asia Timur, bijinya digunakan sebagai stimulan meningkatkan produksi susu di India dan pada jaman kerajaan Romawi digunakan sebagai bumbu masak dan di Prancis digunakan sebagai pengganti merica (Ash-shayim, 2012).

Al-Bukhari dalam Shahih-nya menyatakan bahwa (An-Najjar, 2011):

أَنَّ أَبَا هُرَيْرَةَ أَخْبَرَهُمَا أَنَّ سَمِعَ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ فِي الْحَبَّةِ
السَّوْدَاءِ شِفَاءٌ مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ قَالَ ابْنُ شِهَابٍ وَالسَّامُ الْمَوْتُ وَالْحَبَّةُ
السَّوْدَاءُ الشُّونِيزُ

Artinya:dari abu hurairoh sesungguhnya beliau mendengar Rasulullah SAW bersabda : " Dalam habbatus sauda' (jintan hitam) terdapat obat dari segala penyakit kecuali al sam." Ibnu Syihab berkata; Maksud dari al sam adalah maut sedangkan habbatus sauda' adl syuniz" (HR. Bukhari: 5256).

Hadis di atas menjelaskan bahwa *habattussauda* merupakan tanaman yang dapat mengobati berbagai macam penyakit kecuali kematian. Lafal syifa' (obat) dalam hadis ini berbentuk umum (tidak spesifik). Sehingga ada sebagian

kalangan berpendapat bahwa biji ini berlaku umum untuk segala penyembuhan, dan tingkat kesembuhan dengan biji ini pun bisa bertambah dan berkurang tergantung jenis sakit dan parah tidaknya. Penelitian Prof. Dr. Ahmad Al-Qadhi menunjukkan bahwa *habattussauda* memiliki hubungan yang erat dengan imunitas (An-Najjar, 2011).



Gambar 2.5. Gambar Jintan Hitam (A dan B Tanaman Jintan Hitam, C Biji Jintan Hitam) (Yusuf, 2014).

2.5.2 Klasifikasi

Menurut *United State Department of Agriculture* (2007) dalam Savitri (2010), klasifikasi jintan hitam dalam sistematika tumbuhan sebagai berikut:

Kerajaan *Plantae*

Divisi *Magnoliophyta*

Kelas *Magnoliopsida*

Subkelas *Magnoliidae*

Bangsa *Ranunculales*

Famili *Ranunculaceae*

Genus *Nigella*

Spesies *Nigella sativa* L.

2.5.3 Morfologi

Satu diantara tanda-tanda bagi orang yang beriman yaitu diciptakan-Nya berbagai jenis tanaman. Satu diantara tanaman yang bermacam-macam yaitu *Nigella sativa* L. atau jintan hitam. Tanaman ini merupakan jenis tanaman perdu, tumbuh setinggi 35-50 cm, berbatang tegak, berkayu dan berbentuk bulat menusuk. Jintan hitam memiliki akar tunggang dan berwarna coklat. Berbunga pada bulan Juli, kemudian bijinya matang pada bulan September (Mc Gee, 2003; Hendrik, 2007).

Allah SWT telah menjelaskan dalam Surat Al-An'am (6): 99 sebagai berikut:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman”.

Ayat di atas tidak menyebutkan kata morfologi secara langsung, tetapi ayat tersebut cukup menjelaskan karakteristik dari aspek morfologi suatu tumbuhan. Hal tersebut dijelaskan dengan adanya kata “hijau” (خضرا), “biji-bijian” yang banyak (حبا) dan “tangkai-tangkai” yang menjulang (قنوان). Kata “hijau” (خضرا), pada ayat tersebut secara morfologi menunjukkan warna daun yang mayoritas berwarna hijau (Al-Mahally, 1990). Satu diantara daun yang berwarna hijau yaitu daun jintan hitam (*Nigella sativa* L.). Warna hijau yang terdapat pada daun jintan hitam menunjukkan adanya kandungan klorofil yang berperan dalam proses fotosintesis. Walaupun hampir semua daun berwarna hijau, tetapi secara morfologi masing-masing daun berbeda baik itu dalam bentuk, bagian-bagian daun, susunan tulang daun, warna maupun susunan daun itu sendiri (Tjitrosoepomo, 1992). Hal tersebut terlihat pada bentuk daun jintan hitam yang bulat telur berujung lancip, di bagian permukaan daunnya terdapat bulu halus, daunnya kadang-kadang tunggal atau bisa juga majemuk dengan posisi tersebar atau berhadapan (Setyaningrum, 2007).

Selanjutnya pada kalimat (حبا), bermakna “biji-bijian yang banyak”. Biji sebagai bentuk morfologi suatu tanaman juga memiliki perbedaan yang menjadi ciri khas suatu tanaman. Perbedaan tersebut dapat diketahui dengan adanya perbedaan warna, bentuk biji serta susunan biji tersebut (Al-Mahally, 1990). Pada umumnya biji terdiri dari kulit biji (*spermodermis*), tali pusar (*feniculus*) dan isi biji (*nucleus seminis*) (Tjitrosoepomo, 1992). Perbedaan pada karakteristik biji ini juga terlihat pada biji jintan hitam. Biji jintan hitam berwarna hitam pekat, agak keras, berbentuk limas ganda dengan kedua ujungnya meruncing. Limas yang satu

lebih pendek dari yang lain, bersudut 3 sampai 4, panjang 1,5 mm sampai 2 mm, lebar lebih kurang 1 mm, permukaan luar berwarna hitam kecoklatan, hitam kelabu sampai hitam, berbintik-bintik, kasar, berkerut, kadang-kadang dengan beberapa rusuk membujur atau melintang (Setyaningrum, 2007). Akan tetapi, Mahfur (2012) menyatakan bahwa biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia memiliki ukuran yang lebih kecil dan warna yang lebih terang dibandingkan dengan biji jintan hitam Habasyah dan India, seperti yang terlihat pada gambar 2.2.

Selain kedua kata pada ayat tersebut, karakteristik morfologi juga ditunjukkan pada kata (قنوان) yang memiliki arti tangkai-tangkai. Kata tersebut dalam kitab tafsir *Jalalain* diartikan sebagai tunas-tunas buah yang tumbuh dari pucuknya (Al-mahally, 1990). Tunas-tunas buah yang dimaksud dalam ayat tersebut yaitu bunga sebagai alat reproduksi tumbuhan. Bunga merupakan salah satu bentuk luar dari suatu tumbuhan yang terdiri dari mahkota, kelopak, putih dan benang sari. Morfologi tumbuhan yang beranekaragam tidak hanya menjadi pembeda antar setiap tumbuhan, tetapi juga menentukan fungsi masing-masing dalam kehidupan tumbuhan tersebut serta untuk mengetahui dari mana asal bentuk dan susunannya (Tjitrosoepomo, 1992). Bunga jintan hitam sendiri menarik dengan warna biru pucat atau putih, dengan 5-10 mahkota bunga, buahnya keras seperti buah buni, berbentuk besar, menggembung, berisi 3-7 unit folikel, masing-masing berisi banyak biji atau benih (Mc Gee, 2003; Hutapea, 1994).



Gambar 2.6. Biji Jintan Hitam Indonesia (Dokumentasi Pribadi)

Morfologi setiap tanaman menunjukkan ciri khas dan kekerabatan dari setiap tanaman tersebut. Selanjutnya, kegunaan dari tanaman tersebut dapat diketahui termasuk biji jintan hitam. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam Surat Thaha (20): 53 sebagai berikut:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً
فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya: “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”.

Kata (نبات شتى) dilihat dari manfaat, warna, aroma dan bentuk (struktur morfologi). Satu diantara tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam tersebut adalah jintan hitam (*Nigella sativa* L.). Perbedaan pada struktur morfologi dari jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dengan tumbuhan lain juga menunjukkan perbedaan pada kandungan zat bioaktif yang ada pada jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dengan tumbuhan lain (Al-Maraghi, 1987).

2.5.4 Kandungan Kimia *Nigella sativa* L.

Kandungan kimia yang terdapat pada biji jintan hitam terdiri dari *volatile* dan *fixed oil* (Mozaffari *et al.*, 2000). Komponen *volatile oil* *Nigella sativa* L. dapat dilihat pada tabel 2.2 (Nickavar *et al.*, 2003).

Tabel 2.1. Komposisi *volatile oil* *Nigella sativa* L. Indonesia

No.	Komposisi	Persentase (%)
1.	n-Nonane	1.7
2.	3-Methyl nonane	0.3
3.	1,3,3-Trimetyl benzene	0.5
4.	n-Decane	0.4
5.	1-Methyl-3-Prophyl benzene	0.5
6.	1-Ethyl-2,3-Dimethyl benzene	0.2
7.	n-Tetradecane	0.2
8.	n-Hexadecane	0.2
Nonterpenoid hydrocarbones		0.4
9.	α -Thujene	2.4
10.	α -Pinene	1.2
11.	Sabinene	1.4
12.	β -Pinene	1.3
13.	Myrcene	0.4
14.	α -Phellandrene	0.6
15.	ρ -Cymene	14.8
16.	Limonene	4.3
17.	γ -Terpinene	0.5
Monoterpenoid Hydrocarbons		26.9
18.	Fenchone	1.1
19.	Dihydrocarvone	0.3
20.	Carvone	4.0
21.	Thymoquinone	0.6
Monoterpenoid ketones		6.0
22.	Terpinen-4-ol	0.7
23.	ρ -Cymene-8-ol	0.4
24.	Carvacrol	1.6
Monoterpenoid alcohols		2.7
25.	α -Longipinene	0.3
26.	Longifolene	0.7
Sesquiterpenoid hydrocarbons		1.0
27.	Estragole	1.9
28.	Anissaldehyde	1.7

29.	<i>trans</i> -Anethole	38.3
30.	Myristicin	1.4
31.	Dillapiole	1.8
32.	Apiole	1.0
Komposisi Phenyl propanoid		46.1
Komposisi Total		38.7

(Nickavar *et al.*, 2003)

Penelitian-penelitian selanjutnya tentang *timoquinon* sebagai komponen terbesar minyak *volatil* menunjukkan bahwa zat ini mempunyai efek anti bakterial, antioksidan, antihistamin, anti inflamasi, antidiabetik, analgesik, anti piretik dan anti neoplastik. *Nigella sativa* L. juga mengandung asam lemak yang tinggi yaitu asam linoleat atau omega 6 dalam *fixed oil* sebagai zat aktif lain selain *timoquinon* (Nickavar *et al.*, 2003).

Tabel 2.2. Komposisi Minyak dalam *Nigella sativa* L.

No.	Asam Lemak	Persentase (%)
1.	Asam Laurat	0.6
2.	Asam Myristic	0.5
3.	Asam Palmitat	12.5
4.	Asam Stearat	3.4
5.	Asam Oleat	23.4
6.	Asam linoleat	55.6
7.	Asam Linoleanat	0.4
8.	Asam Eicosadienoic	3.1
Asam Lemak Total		99.5

(Nickavar *et al.*, 2003)

2.6 Hubungan Jintan Hitam dengan Diabetes Melitus

Jintan hitam merupakan salah satu tumbuhan yang tinggi serat dan memiliki indeks glikemik yang rendah. Di dalam jintan hitam mengandung nilai

gizi yang tinggi diantaranya monosakarida, rhamnosa, xilosa, arabinosa, dan juga mengandung komponen polisakarida non-pati (Anonymous, 2007).

Jintan hitam yang merupakan biji-bijian dapat diolah menjadi serbuk ataupun ekstrak/minyak jintan hitam. Minyak jintan hitam merupakan saripati (ekstrak) dari biji jintan hitam. Minyak jintan hitam dapat diserap lebih cepat oleh tubuh dibandingkan dengan serbuk maupun biji jintan hitam karena sifatnya yang liquid. Perbandingan rata-rata untuk setiap 1 (satu) kapsul minyak jintan hitam sebanding dengan lima kapsul serbuk. Minyak jintan hitam memiliki efek antihiperlikemi dan hipolipidemik sekaligus aktivitas antioksidan (Anonymous, 2009).

Kandungan minyak jintan hitam yang kaya akan asam lemak-tidak jenuh, sangat dibutuhkan dalam proses penurunan kadar gula darah. Sebuah penelitian pada tahun 2008 telah membuktikan bahwa minyak jintan hitam dapat menghambat aktivitas enzim glukosa-6-phosphatase yang berperan dalam metabolisme produksi glukosa dalam darah. Jika kerja enzim ini berhenti maka kadar glukosa darah menurun (Najmi, 2008).

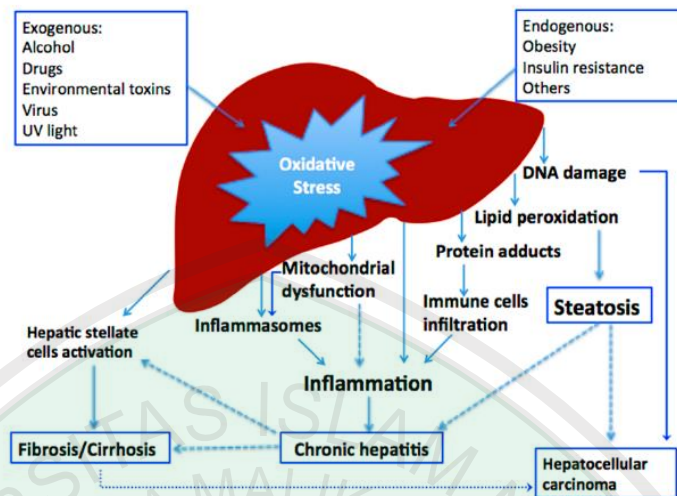
Zat bioaktif yang terdapat dalam minyak jintan hitam yang mempunyai efek hipoglikemik/antidiabetik adalah *nigellone* dan *thymoquinone*. Suatu penelitian yang dilakukan pada tikus diabetes yang diberi minyak jintan hitam dengan volume yang berbeda-beda yaitu sebesar 0,1 ml, 0,2 ml dan 0,3 ml dapat menurunkan kadar gula darah secara signifikan dalam waktu 2 minggu (El-Dakhkhny, 2002).

2.7 Hepar dan Stres Oksidatif

Hepar memiliki fungsi vital dalam detoksikasi bahan toksik. Hal ini menyebabkan hepar menjadi sering terpapar dengan zat-zat toksik yang mengakibatkan kerusakan sel hepar (Anshor dkk., 2013). Zat-zat toksik seperti STZ dan sulfazaline menyebabkan kerusakan hepar dengan menaikkan ROS yang menyebabkan stres oksidatif. Pada hewan model DM tipe 2 kerusakan hepar disebabkan gabungan induksi STZ dosis rendah dan diet tinggi lemak (Zhang *et al.*, 2008). Gabungan induksi STZ dosis rendah dan diet tinggi lemak merupakan manifestasi keadaan stres oksidatif pada DM tipe 2. Hepar merupakan organ utama yang diserang oleh ROS. Sel-sel parenkim merupakan sel utama yang mengalami kerusakan saat terjadi stres oksidatif di hati (Li *et al.*, 2015).

Satu diantara penyebab stres oksidatif adalah superoksida radikal (O_2^-). Tangvarasittichal (2015) menyatakan bahwa jantung, otak, ginjal, hati dan otot rangka adalah organ yang efektif mengkonsumsi oksigen menjadi O_2^- . Selanjutnya Tangvarasittichal (2015) menambahkan hati kira-kira mengeluarkan 0,1%-0,2% O_2 menjadi O_2^- .

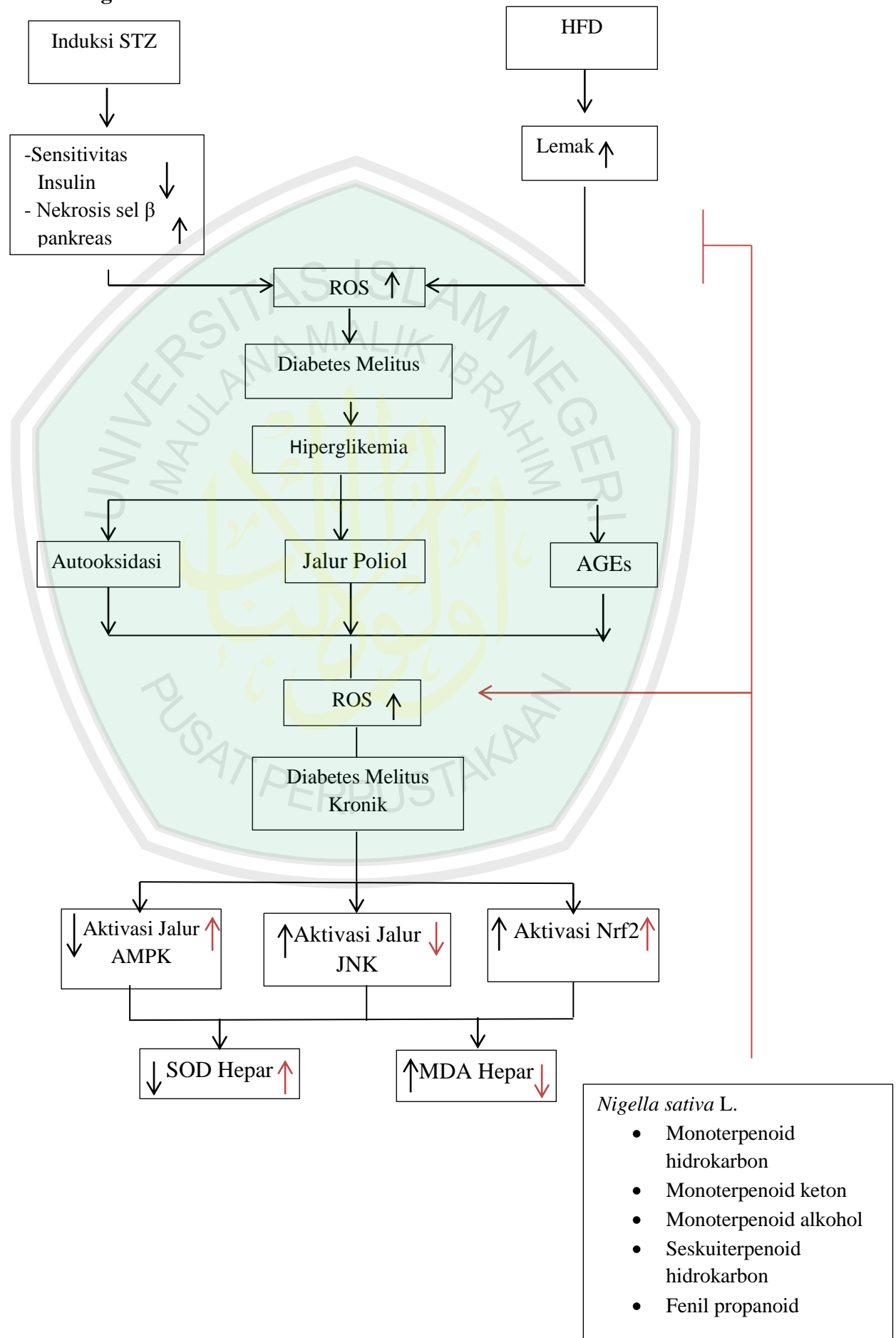
Superoksida radikal (O_2^-) merupakan "*parent ROS molecule*". ROS mempengaruhi protein-protein hepar, lemak dan DNA di sekitar struktur seluler. Proses ini mengasilkan abnormalitas fungsional dan struktural di hepar. Penyakit hepar kronis hampir selalu disebabkan oleh adanya stres oksidatif. Hal ini seperti yang terlihat pada gambar 2.6 (Lach dan Michalak, 2014).



Gambar 2.7. Skema mekanisme umum dari stres oksidatif pada hepar (Li *et al.*, 2015).

Stres oksidatif berbahaya bagi mitokondria hepar, menyebabkan kerusakan yang menghasilkan ekspresi gen yang tidak berpasangan. Stres oksidatif di hati diawali dengan aktivasi CYP2E1 menyebabkan pengeluaran ROS (khususnya superoksida dan radikal hidroksil) membawa pada stress oksidatif dan kematian sel (Lach dan Michalak, 2014). Selanjutnya sumber dari *non-alcoholic fatty liver acid* (NAFLD), yaitu ekspresi *2E1 isoform of cytochrome P450* (CYP2E1) menyebabkan *redox state* (Santos *et al.*, 2013; Kathirvell *et al.*, 2013).

2.8 Kerangka Pemikiran



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan, bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia terhadap kadar SOD dan MDA tikus (*Rattus norvegicus*) model diabetes melitus tipe 2.

3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas : ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia dengan dosis yang berbeda, perlakuan yang digunakan adalah kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+) (metformin 45 mg/Kg BB), P1 (dosis 0 mg/Kg BB), P2 (dosis 24 mg/Kg BB), P3 (dosis 48 mg/Kg BB), P4 (dosis 72 mg/Kg BB).
2. Variabel terikat : kadar SOD dan MDA tikus (*Rattus norvegicus*) diabetes melitus tipe 2.
3. Variabel kendali : tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar, jenis kelamin jantan umur 3-4 bulan dengan berat badan antara 150-200 gram yang diaklimatisasi kandang selama 1 minggu pada

minggu pertama dengan diberi makan pelet BR1 serta diaklimatisasi pakan *High Fat Diet* (HFD) selama 1 minggu pada minggu kedua dan diberi minum secara *ad libitum*.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2015 sampai Februari 2016 di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Biosistem Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar, jenis kelamin jantan, umur 3-4 bulan dengan berat badan antara 150-200 gram sebanyak 24 ekor.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan meliputi kandang hewan coba (bak plastik dengan panjang 35 cm, lebar 28 cm, dan tinggi 11 cm dengan volume 10780 cm^3), tempat makan dan minum, timbangan analitik, alat pencekok oral (*gavage*), timbangan analitik, *rotary evaporator*, seperangkat alat bedah, *beaker glass*, *erlenmeyer*, gelas ukur, gelas ukur, pipet tetes, spektrofotometer, *vortex*, *hot plate*, *stirrer*,

Gluko Dr (Accu Cek), Strip Gluko Test, Blood lancet, incubator, micropipette, tube 1ml, spuit 1cc, dan centrifuge.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* strain wistar) jenis kelamin jantan yang berumur 3-4 bulan dengan berat badan 150-200 gram yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada Yogyakarta, metformin, asam sitrat, NaOH, *Phosphate Buffer Saline* (PBS), pakan tikus BR 1, minyak sapi, *Streptozotocin* (STZ), larutan xanthin, xanthin oksidase, larutan sitokrom c, Na-Thio 1%, TCA, HCL dan aquades.

3.6. Waktu dan Pelaksanaan Kegiatan

	Minggu ke-				
	1-2	3-11	12	13-16	17
Kegiatan Penelitian	Aklimatisasi	Pembuatan tikus model DM 2 (terdiri dari pemberian diet tinggi lemak dan injeksi STZ pada minggu ke-9 dan 11).	Inklusi dengan TTGO	Pemberian terapi ekstrak biji jintan hitam	Pengukuran kadar SOD dan MDA

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Pembuatan Hewan Model DM Tipe 2

3.7.1.1 Aklimatisasi Hewan Coba

Sebelum dilakukan penelitian, terlebih dahulu mempersiapkan tempat pemeliharaan hewan coba yang meliputi kandang, sekam, tempat makan dan minum tikus, pakan tikus. Hewan coba yang berjumlah 24 ekor selanjutnya diaklimatisasi kandang selama 1 minggu di minggu pertama dengan diberi makan BR1 dan diaklimatisasi pakan HFD secara bertahap di minggu kedua dan minum secara *ad libitum*.

3.7.1.2 Prosedur Pembuatan Tikus Model Diabetes Mellitus Tipe II

1. Dipersiapkan hewan uji dengan cara diadaptasi pada kondisi laboratorium tempat penelitian, dilakukan selama 14 hari dan diberi pakan normal dan minum *ad-libitum*, tikus ditempatkan dengan jumlah 1 ekor tiap kandang pada ruangan dengan suhu 22-25⁰C dan siklus terang gelap 12/12 jam. Tikus diberi pakan normal berupa pakan BR-1.
2. Hewan uji (kecuali kontrol negatif) diberi perlakuan pakan diet tinggi lemak (*high fat diet*) dan minum *ad-libitum* selama 9 minggu setelah aklimatisasi, setiap tikus mendapatkan 40 gram pakan diet tinggi lemak, Setelah 9 minggu pemberian diet tinggi lemak, tikus dipuaskan semalam.
3. Tiap 1 minggu sekali hewan coba di cek kadar glukosa darahnya. Pengukuran Glukosa darah menggunakan alat *Blood Glucose Test Meter GlucoDr (Accu Check)*. Alat diset kodenya sesuai dengan kode GlucoDrTM Test Strip yang digunakan, selanjutnya darah dari ekor tikus ditetaskan pada strip yang terhubung dengan kemudian dibiarkan selama 6 detik dan dibaca skala yang terlihat pada layar, dimana satuan skala pengukuran yang terbaca mg/dl. Sebelum dilakukan pengambilan darah, tikus dipuaskan terlebih dahulu selama 8 jam, karena kadar glukosa darah

yang diukur adalah kadar glukosa darah puasa. Kadar Glukosa darah puasa normal pada tikus adalah 100 mg/dl.

- a. Hewan uji kadar glukosa darah < 200 mg/dl dieksklusi dari populasi sampel.
 - b. Hewan uji yang glukosa darahnya > 200 mg/dl dikelompokkan secara acak menjadi 6 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus putih.
4. Hewan uji (kecuali kontrol negatif) diinduksi *streptozotocin* (STZ) secara intraperitoneal dengan dosis rendah yaitu 30 mg/kgBB dalam 0,1 citrate-buffered saline pH 4,5 pada hari pertama di minggu ke-10 dan 11 waktu pemberian diet tinggi lemak. Tikus diposisikan menghadap kearah atas hingga terlihat bagian abdomennya. Pada bagian atas abdomen tikus disemprot dengan ethanol 70 %, kemudian kulit dicubit hingga terasa bagian ototnya, jarum dimasukkan pada bagian abdomen dan dicoba digerakkan, apabila terasa berat maka sudah masuk pada daerah intraperitoneal. Setelah yakin pada daerah intraperitoneal, maka STZ segera di masukkan secara perlahan. Selanjutnya abdomen tikus disemprot dengan ethanol 70% kembali.
5. Setelah 5 hari dari pemberian STZ dilakukan tes toleransi glukosa darah untuk membuktikan keberhasilan pembuatan hewan coba model diabetes melitus tipe 2. Tes ini dilakukan dengan cara hewan coba diinduksi glukosa, kemudian kadar glukosa darahnya diukur pada menit ke- 30, 60, 90 dan 120. Dosis glukosa yang diberikan sebesar 606,06 mg/kgBB.

Hewan coba dikatakan sudah mengalami diabetes mellitus tipe 2 apabila rata-rata glukosa darah tiap pengukuran > 200 mg/dl.

3.7.1.1.3 Pembuatan *High Fat Diet* (HFD)

Pembuatan tikus model diabetes tipe 2 diawali dengan pembuatan model tikus hiperlipidemia dengan perlakuan *High Fat Diet* (HFD) merujuk pada Zhang *et al.* (2008) terdiri dari 650 gram lemak sapi kemudian dipanaskan hingga mencair dengan api kecil kemudian ditimbang hingga mencapai 400 gram, selanjutnya dicampur dengan pakan BR1 sebanyak 800 gram. Masing-masing tikus mendapatkan pakan diet tinggi lemak 40 gram perhari.

3.7.1.1.4 Pembuatan *Streptozotocin* (STZ)

Pembuatan larutan *streptozotocin* dilakukan dengan menimbang 279,16 gr sediaan *streptozotocin* (STZ) dan dilarutkan ke dalam 15,51 cc aquabides dengan pH 4,5 kemudian divortex hingga homogen. Selanjutnya diukur pH larutan, jika kurang dari 4 maka ditambah dengan larutan NaOH, dan sebaliknya jika pH lebih dari 4 ditambah dengan asam sitrat hingga pH mencapai 4.

3.7.2 Pemberian Terapi Ekstrak Etanol 80% Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia.

3.7.2.1 Prosedur Pemberian Terapi

1. Perhitungan dosis :

Ekstrak Jintan hitam untuk pengobatan dalam penelitian ini diberikan secara peroral dengan dosis : 24 mg/kg BB (0,5 x dosis terapi), 48 mg/200 gram BB (dosis terapi) dan 72 mg/kg BB (1,5 x dosis terapi).

2. Dalam penelitian terdapat 6 kelompok perlakuan meliputi:

- a. Kelompok P1 (DM 2) diberi Na CMC 0,5% (tanpa ekstrak etanol 80 % biji jintan hitam).
- b. Kelompok P2 (DM 2) diberi ekstrak etanol 80 % biji jintan hitam secara peroral dosis 24 mg /kg BB + Na CMC 0,5%.
- c. Kelompok P3 (DM 2) diberi ekstrak etanol 80 % biji jintan hitam secara peroral dosis 48 mg/kg BB + Na CMC 0,5%.
- d. Kelompok P4 (DM 2) diberi ekstrak etanol 80 % biji jintan hitam secara peroral dosis 72 mg/kg BB + Na CMC 0,5%.
- e. Kelompok K (+) (DM 2) diberi metformin secara peroral dosis 0,045 mg/g BB + Na CMC 0,5%.
- f. Kelompok K (-) (Tikus sehat) diberi Na CMC 0,5%

3. Cara Pemberian Terapi Pada Hewan Coba

Ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dengan dosis berbeda dan metformin dengan dosis yang sudah ditentukan, dilarutkan dengan Na CMC 0,5% diberikan secara oral sebanyak 2,5 ml/tikus setiap hari. Untuk tikus kelompok K(-) hanya diberi Na CMC 0,5% sebanyak 2,5 ml/tikus setiap hari. Pemberian dilakukan selama selama 28 hari.

3.7.2.2 Pembuatan Sediaan Larutan Na CMC 0,5%

Sediaan larutan Na CMC 0,5% dibuat dengan menaburkan 500 mg Na CMC kedalam 10 ml aquadest panas, kemudian dibiarkan selama kurang lebih 15 menit sampai berwarna bening dan berbentuk menyerupai jel. Selanjutnya diaduk hingga menjadi massa yang homogen dan diencerkan dalam labu ukur dengan aquadest hingga volume 100 ml.

3.7.2.3 Pembuatan Ekstrak Etanol 80% Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia.

Sampel biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia sebanyak 120 gram dikeringkan dengan menggunakan oven yang bersuhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 2x24 jam sehingga menjadi simplisia, kemudian dihaluskan dengan blender hingga halus dan diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh. Setelah diperoleh serbuk jintan hitam yang halus dan seragam, selanjutnya masuk pada proses ekstraksi, diawali dengan proses maserasi dengan pelarut etanol 80%.

Masing-masing 60 gram serbuk biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) direndam menggunakan 300 ml pelarut etanol 80% selama 24 jam dan diaduk menggunakan shaker selama 3 jam, kemudian disaring. Proses tersebut diulangi hingga diperoleh filtrat yang bening. Filtrat ekstrak yang diperoleh dipekatan dengan *rotary evaporator* hingga menjadi ekstrak pekat. Kemudian ekstrak pekat ditimbang sampai diperoleh berat konstan untuk meyakinkan bahwa pelarut telah menguap dan didiamkan selama minimal 2 hari dengan ditutup aluminium foil yang dilubangi.

3.7.2.4 Penentuan Dosis metformin

Dosis pemberian metformin pada tikus didapat sebesar 0,045 mg/g BB.

3.7.2 Tahap Pengambilan Data

Tikus dibedah setelah dilakukan terapi menggunakan ekstrak biji jintan hitam selama 28 hari. Selanjutnya organ hepar diambil dan dibuat lisat hepar dengan digerus menggunakan mortar. Kemudian tahap selanjutnya, lisat hepar diukur kadar SOD dan MDA.

3.7.3.1 Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA)

3.7.3.1.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan standar MDA 4 ppm 100 μ l, ditambahkan aquades 550 μ l, 100 μ l TCA 10%, 250 μ l HCL 1N, 100 μ l Na-Thio 1% dan dihomogenkan. Setelah itu direndam dalam *water bath* pada suhu 100°C selama 30 menit, kemudian didiamkan pada suhu ruang (26-27°C) dan selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada λ 500-600 nm.

3.7.3.1.2 Pembuatan Kurva Standar

Larutan stok kit MDA dengan konsentrasi 1,2,3,4,5,6,7 dan 8 μ g/mL diambil masing-masing 100 μ L, dimasukkan dalam *microtube* yang berbeda, ditambahkan 550 μ L aquades, 100 μ L TCA 10%, 250 μ L HCl 1 N dan 100 μ L Na-Thio 1%. Setelah itu dihomogenkan. Kemudian disentrifus 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil, dipanaskan dalam *water bath* suhu 100°C selama 30 menit. Kemudian didiamkan pada suhu ruang 26-27 °C dan selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 530 nm. Hasil absorbansi kemudian dibuat kurva standar MDA dan dihasilkan persamaan linear (Aulanni'am dkk., 2011).

3.7.3.1.3 Pengukuran Kadar MDA Organ Hepar Metode Thiobarbituric Acid (TBA)

Penentuan kadar MDA dilakukan dengan metode TBA. Hepar 0,1 gram digerus hingga halus, ditambahkan 1ml NaCl 0,9%, *homogenate* dipindahkan ke *microtube*, disentrifus 8.000 rpm selama 20 menit, supernatan 100 μ L dimasukkan dalam *microtube* baru, ditambahkan 550 μ L aquades, 100 μ l TCA 10%, 250 μ l HCl 1 N dan 100 μ l Na-Thio 1%. Setelah itu dihomogenkan dan disentrifus 500

rpm selama 10 menit. Supernatan dipindahkan ke microtube baru dan direndam dalam water bath pada suhu 100°C selama 30 menit. Supernatan didinginkan pada suhu ruang 26-27 °C, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 530 nm. Absorbansi yang diperoleh kemudian diplotkan pada persamaan linear sehingga diperoleh nilai kadar MDA (Aulanni'am dkk., 2011).

3.7.3.2 Pengukuran Kadar SOD

Sebanyak 400 µl larutan etanol dingin 37, 5/62,5 (v/v) ditambahkan ke dalam 150 µl lisat hepar. Kemudian divorteks selama 3 detik dan disentrifus pada kecepatan 4.400 rpm suhu 4°C selama 10 menit. Sebanyak 2,9 ml larutan A (campuran larutan xantin dan larutan sitokrom c) ditambah 50 µl larutan baku (kontrol) atau sampel dan divorteks secara perlahan. Reaksi dimulai dengan menambahkan 50 µl larutan B (xantin oksidase) dan divorteks secara perlahan. Pengamatan terhadap perubahan absorbansi yang terjadi dilakukan dengan spektrofotometer (Chen *et al.*, 1996).

3.8 Analisis Data

Data hasil pengujian kadar SOD dan MDA hepar yang memenuhi syarat parametrik dianalisis dengan menggunakan uji *One Way Anova* sedangkan data yang tidak memenuhi syarat parametrik (nonparametrik) dianalisis dengan menggunakan uji *Kruskall-Wallis*. Jika $F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$ maka H_0 ditolak. Apabila terjadi perbedaan yang signifikan pada data parametrik, maka dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan* sedangkan untuk data nonparametrik dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dengan taraf signifikansi 5%.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit yang disebabkan terjadinya kerusakan pada sel-sel β pulau Langerhans dalam kelenjar pankreas atau hormon insulin disekresikan dalam jumlah yang sedikit, bahkan tidak sama sekali (Price dan Wilson, 2005). Diabetes melitus juga dapat disebabkan terjadinya penurunan sensitifitas reseptor hormon insulin pada sel (Arulselvan dkk., 2006).

Penyakit diabetes terbagi menjadi 2, yaitu diabetes melitus tipe satu (DM 1) dan diabetes melitus tipe dua (DM 2) (Foster, 2000). DM 2 dapat disebabkan stres oksidatif yang disebabkan oleh molekul-molekul ROS (Tangvarasittichal, 2015).

Hati merupakan organ utama yang diserang ROS. Sel-sel parenkim adalah sel utama yang terkena stres oksidatif yang menyebabkan luka pada hati. Lebih lanjut sel-sel kupffer, sel-sel *stellate* dan sel-sel endotelial hati merupakan jaringan yang lebih sensitif pada molekul-molekul penyebab stres oksidatif (Lach and Michalak, 2014).

Satu diantara antioksidan enzim yaitu superoksida dismutase (SOD) dan hasil samping dari peroksidasi lipid yaitu malondialdehid (MDA) merupakan indikator terjadinya stres oksidatif, sehingga pengukuran keduanya sering digunakan untuk mengetahui keadaan stres oksidatif (Held, 2015). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap kadar SOD dan MDA hepar tikus putih

setelah pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam dapat diuraikan sebagai berikut:

4.1.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia Terhadap Kadar SOD Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) DM Tipe 2.

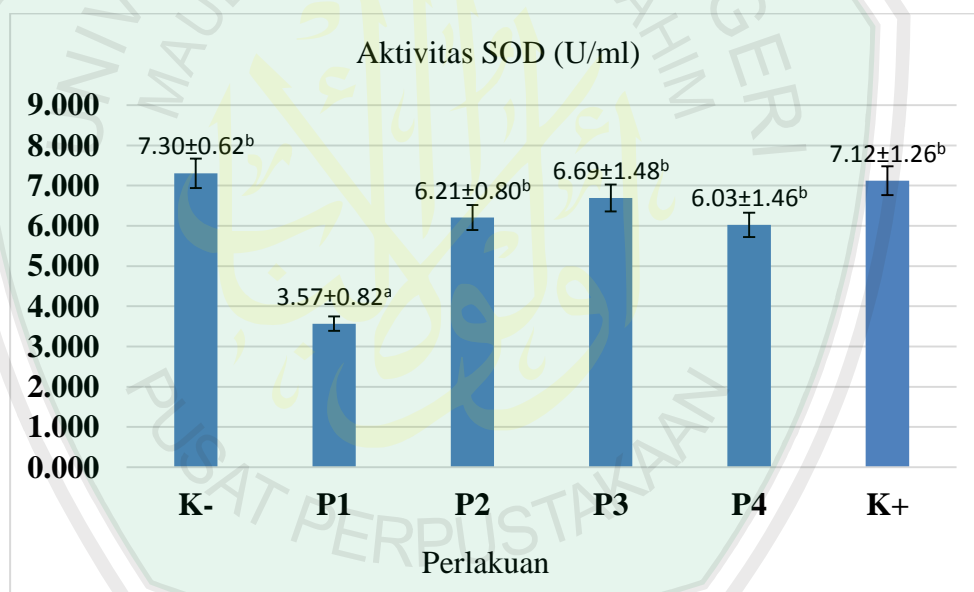
Berdasarkan data rata-rata pengukuran kadar SOD pada hepar tikus DM 2 dengan pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia setelah diuji normalitasnya dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* Test diperoleh signifikansi > 0.05 ($0.859 > 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Kemudian dilakukan uji homogenitas dengan uji Homogenitas Levene. Hasil uji homogenitas menunjukkan signifikansi > 0.05 ($0.176 > 0.05$). Hal ini menunjukkan data yang diperoleh telah homogen. Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan uji *ANOVA One-Way* dengan taraf signifikansi 5%.

Hasil uji *ANOVA One-Way* menunjukkan nilai signifikansi < 0.05 ($0.02 < 0.05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa hipotesa nol (H_0) ditolak dan hipotesa 1 (H_1) diterima. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia secara signifikan dapat mempengaruhi kadar SOD pada hepar tikus DM 2, seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.1. Setelah dilakukan uji *ANOVA One-Way* selanjutnya dilakukan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh terhadap kadar SOD hepar. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang nyata ($P > 0.05$) antar perlakuan, seperti yang terlihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil Uji Duncan Rata-Rata Kadar SOD Hepar Tikus

Kelompok Perlakuan	N	Rata-rata \pm SD
P1 (dosis 0 mg/kgBB)	4	3.57 \pm 0.82 ^a
P4 (dosis 72 mg/kgBB)	4	6.03 \pm 1.46 ^b
P2 (dosis 24 mg/kgBB)	4	6.21 \pm 0.80 ^b
P3 (dosis 48 mg/kgBB)	4	6.69 \pm 1.48 ^b
K+ (kontrol positif)	4	7.12 \pm 1.26 ^b
K- (kontrol negatif)	4	7.30 \pm 0.62 ^b

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan, P= nilai signifikansi.



Gambar 4.1. Diagram nilai rata-rata perubahan kadar SOD pada hepar tikus DM 2 setelah pemberian terapi ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia.

Keterangan:

- (K-) = tikus (pembanding) tanpa perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) dan tanpa pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia, dan dengan pemberian CMC Na 0,5%.
- (K+) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) dengan dosis 30 mg/Kg BB dan pemberian metformin 0,045 mg/g BB.
- (P1) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) 30 mg/Kg BB dan tanpa pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia (dosis 0 mg/Kg BB per hari).

- (P2) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) 30 mg/Kg BB dan pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia dosis 24 mg/Kg BB per hari.
- (P3) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) 30 mg/Kg BB dan pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia dosis 48 mg/Kg BB per hari.
- (P4) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) 30 mg/Kg BB dan pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia dosis 72 mg/Kg BB per hari.

4.1.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia Terhadap Kadar MDA Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) DM Tipe 2.

Berdasarkan data rata-rata pengukuran kadar MDA pada hepar tikus DM 2 dengan pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia setelah diuji normalitasnya dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* Test, signifikansi (P) > 0.05 (0.167 > 0.05). Hal ini menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Kemudian dilakukan uji homogenitas dengan uji Homogenitas *Levene*. Hasil uji homogenitas menunjukkan signifikansi (P) < 0.05 (0.00 < 0.05). Hal ini menunjukkan data yang diperoleh tidak homogen, sehingga syarat untuk menggunakan analisis parametrik dengan *One Way ANOVA* tidak terpenuhi, sehingga dilakukan alternatif uji lain yaitu non parametrik *Kruskall-Wallis* (Petrie dan Sabin, 2000).

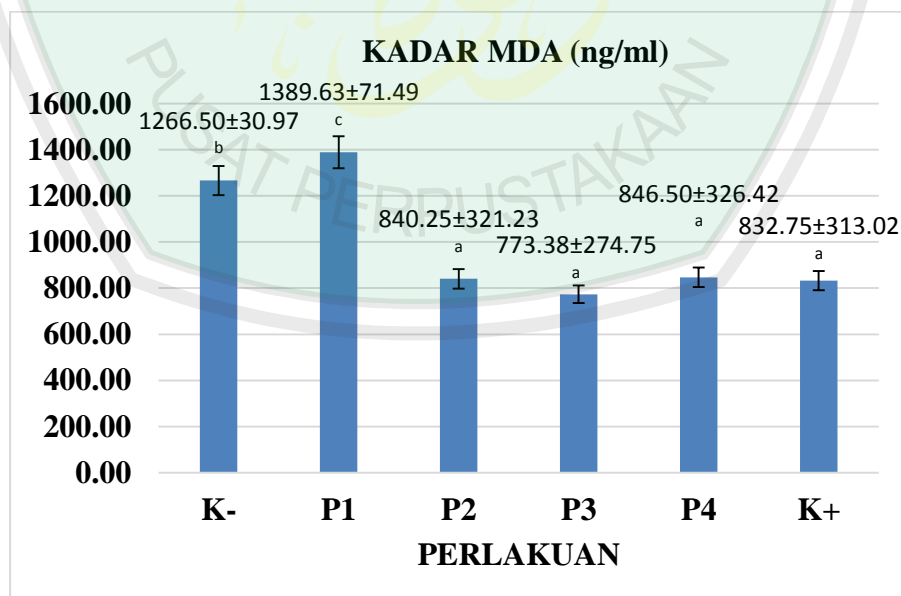
Uji *Kruskal-Wallis* merupakan uji statistik yang digunakan untuk membandingkan lebih dari dua variabel yang tidak berpasangan (Dahlan 2009). Perhitungan uji *Kruskall-Wallis* seperti yang terlihat pada lampiran 4 menunjukkan signifikansi sebesar $0.005 < 0.05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa hipotesa nol (H_0) ditolak dan hipotesa 1 (H_1) diterima. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia secara signifikan dapat mempengaruhi kadar MDA pada hepar tikus DM 2, seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.2.

Hipotesa nol (H_0) yang ditolak dan hipotesa 1 (H_1) yang diterima menyebabkan dilakukan uji lanjut yaitu uji *Post Hoc Multiple Comparisons* dengan metode *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh terhadap kadar MDA hepar. Hasil *Post Hoc Multiple Comparisons* dengan metode *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang nyata ($P < 0.05$) antar perlakuan, seperti yang terlihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil Uji *Mann-Whitney* Rata-Rata Kadar MDA Hepar Tikus

Kelompok Perlakuan	N	Rata-rata \pm SD
dosis 48 mg/kgBB (P3)	4	773.38 \pm 274.75 ^a
kontrol positif (K+)	4	832.75 \pm 313.02 ^a
dosis 24 mg/kgBB (P2)	4	840.25 \pm 321.23 ^a
dosis 72 mg/kgBB (P4)	4	846.50 \pm 326.42 ^a
kontrol negatif (K-)	4	1266.50 \pm 30.97 ^b
dosis 0 mg/kgBB (P1)	4	1389.63 \pm 71.49 ^c

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan, P= nilai signifikansi.



Gambar 4.2. Diagram nilai rata-rata perubahan kadar MDA pada hepar tikus DM 2 setelah pemberian terapi ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia.

Keterangan:

- (K-) = tikus (pembanding) tanpa perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) dan tanpa pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia, dan dengan pemberian CMC Na 0,5%.
- (K+) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) dengan dosis 30 mg/Kg BB dan pemberian metformin 0,045 mg/g BB.
- (P1) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) 30 mg/Kg BB dan tanpa pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia (dosis 0 mg/Kg BB per hari).
- (P2) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) 30 mg/Kg BB dan pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia dosis 24 mg/Kg BB per hari.
- (P3) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) 30 mg/Kg BB dan pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia dosis 48 mg/Kg BB per hari.
- (P4) = tikus dengan perlakuan injeksi *streptozotocin* (STZ) 30 mg/Kg BB dan pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia dosis 72 mg/Kg BB per hari.

4.2 Pembahasan

Reactive oxygenated species (ROS) merupakan suatu molekul yang selalu diproduksi sebagai hasil dari metabolisme secara umum (Cossarizza *et al.*, 2009). Kadar ROS di dalam tubuh pada kondisi fisiologi normal diseimbangkan oleh aktivitas antioksidan enzimatik, satu diantaranya yaitu Superoksida dismutase (SOD) (Turrens *et al.*, 1980). Hal ini seperti yang terlihat pada kontrol negatif. Hewan model tikus DM 2 pada kontrol negatif menunjukkan kadar SOD yang berbeda nyata dengan perlakuan 1, yaitu hewan model tikus DM 2 tanpa pemberian ekstrak seperti yang terlihat pada tabel 4.1. Hasil uji *Duncan* juga menunjukkan perbedaan nyata diantara keduanya. Hal ini ditunjukkan pada notasi yang berbeda pada uji *Duncan*, seperti yang terlihat pada tabel 4.1.

SOD pada perlakuan kontrol negatif dapat melakukan perannya secara normal yaitu mengkatalisis anion superoksida menjadi H_2O_2 . H_2O_2 selanjutnya

didekomposisi menjadi H_2O dan O_2 oleh enzim *gluthation peroxidase* (GPx) dan katalase (El-missyri, 2012).

SOD merupakan antioksidan primer yang berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena dapat merubah radikal bebas menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum sempat bereaksi (Winarsi, 2005). SOD merupakan enzim yang berada dalam cairan intraseluler yang berpartisipasi pada proses degradasi senyawa radikal bebas intraseluler. Superoksida dismutase mengkatalisis dismutasi O_2^- menjadi H_2O_2 , hal ini menyebabkan SOD menjadi satu diantara indikator yang digunakan untuk mengetahui pembentukan senyawa radikal atau reaksi antara senyawa radikal atau oksida lain dengan molekul tubuh (Wresdiyati, 2006). Kadar SOD yang menurun menunjukkan terjadinya stres oksidatif yang disebabkan ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas (Harjanto, 2003).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar SOD terendah terdapat pada perlakuan 1 (P1) dengan dosis 0 mg/kgBB atau tikus DM 2 tanpa perlakuan terapi ekstrak etanol 80% biji jintan hitam seperti yang terlihat pada tabel 4.1. Kadar SOD yang rendah pada perlakuan 1 menunjukkan tingginya stres oksidatif yang terjadi pada tikus DM 2 tanpa terapi. Hal ini disebabkan penyakit diabetes melitus meningkatkan *Reactive Oxygenated Species* (ROS) sehingga memperparah terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan ketidakseimbangan dalam sistem pembentukan dan penangkapan radikal bebas sehingga menurunkan aktivitas antioksidan, termasuk antioksidan enzimatik seperti SOD (Kaleem dkk., 2006; Pari dan Latha, 2002).

Aktivitas SOD dapat berubah akibat adanya perubahan pada kadar ROS. ROS yang semakin meningkat pada perlakuan 1 disebabkan peningkatan ekspresi mRNA dari subunit NADPH oksidase, sebuah kompleks enzim penghasil ROS yang menghambat ekspresi dan regulasi dari antioksidan enzimatik (Okuno *et al.*, 2008).

Peningkatan kadar SOD sejalan dengan peningkatan dosis yang diberikan kecuali pada perlakuan 4 (dosis 72 mg/kgBB) seperti yang terlihat pada gambar 4.1. Kadar SOD pada perlakuan 4 (dosis 72 mg/kgBB) lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan 3 (dosis 48 mg/kgBB), akan tetapi notasi pada uji *Duncan* belum menunjukkan perbedaan secara nyata diantara perlakuan terapi. Hal ini seperti yang ditunjukkan pada tabel 4.1.

Kadar SOD tertinggi yaitu pada perlakuan 3 (dosis 48 mg/kgBB) akan tetapi hasil uji *Duncan* menunjukkan bahwa dosis efektif pemberian ekstrak biji jintan hitam untuk menaikkan kadar SOD yaitu perlakuan 2 (24 mg/kgBB) dikarenakan tidak adanya perbedaan notasi diantara perlakuan 3 (dosis 48 mg/kgBB) dengan perlakuan 2 (dosis 24 mg/kgBB) seperti yang terlihat pada tabel 4.1. Penelitian Pari *et al.* (2009) juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji jintan hitam dengan dosis 20 mg/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah dan menaikkan kadar SOD di hepar tikus yang diinduksi STZ dosis tunggal.

Peningkatan kadar SOD pada perlakuan terapi ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia disebabkan zat bioaktif yang terkandung dalam biji jintan hitam Indonesia. Zat bioaktif yang terkandung dalam minyak biji jintan hitam

yang mempunyai efek hipoglikemik/antidiabetik adalah senyawa senyawa dari golongan terpenoid diantaranya *thymoquinone* (El-Dakhkhny, 2002). Penelitian-penelitian selanjutnya tentang *thymoquinone* sebagai komponen terbesar minyak *volatil* menunjukkan bahwa zat ini mempunyai efek antibakterial, antioksidan, antihistamin, anti inflamasi, analgesik, anti piretik dan antidiabetik (Nickavar *et al.*, 2003).

Sebagai antidiabetik dan antioksidan, *thymoquinone* dalam minyak jintan hitam berperan sebagai antioksidan sekunder yang dapat mengikat radikal bebas dan mencegah amplifikasi senyawa radikal bebas (Kartikawati, 1999). Amplifikasi senyawa radikal bebas yang dicegah menyebabkan pengambatan aktivitas enzim glukosa-6-phosphatase yang berperan dalam metabolisme produksi glukosa dalam darah. Jika kerja enzim ini berhenti maka kadar glukosa darah menurun (Najmi, 2008).

Secara garis besar mekanisme kerja antioksidan sendiri terdiri dari dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibandingkan radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon, 1990).

Pengaruh pemberian antioksidan terhadap tikus diabetes juga terlihat pada penelitian Naziroglu *et. al* (2011) dimana dalam penelitian tersebut menunjukkan bahwa pemberian tanaman acai, yaitu suatu tanaman yang mengandung antioksidan, terhadap tikus diabetes yang diinduksi STZ dapat menaikkan tingkat mRNA dari *gamma-glutamylcysteinsynthetase* di jaringan hati serta menurunkan produksi ROS. Penurunan ROS menyebabkan terjadinya peningkatan SOD.

Andaloussi *et al.* (2011) menyatakan bahwa mekanisme *thymoquinon* dalam menurunkan kadar glukosa darah yang selanjutnya meningkatkan produksi SOD pada tikus DM tipe 2 dengan menaikkan aktivasi jalur *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK), yaitu suatu enzim pada otot dan hati. Aktivasi jalur AMPK dapat menghambat jalur glukoneogenesis di hati, sehingga menaikkan sintesis Glut 4. Glut 4 merupakan protein yang berperan sebagai transporter di otot, yang memainkan peran penting dalam mengontrol hiperglikemia. Perbaikan kondisi hiperglikemia selanjutnya akan memperbaiki kondisi stres oksidatif kemudian meningkatkan kadar SOD.

Mekanisme peningkatan kadar SOD melalui perbaikan kondisi stres oksidatif juga dapat terjadi dengan mekanisme penghambatan *Nuclear Respiratory Factor 2* (Nrf2) sistein 151 dan fosforilasi yang dimediasi PKC dan Serine 40 Nrf2 untuk mengeluarkan Nrf2 dari *Inhibitory Nuclear Respiratory Factor 2* (INrf2). Aktifasi dari Nrf2 kemudian ditranslokasi pada nukleus, berikatan pada *Antioxidant Respond Element* (ARE) dan meregulasi kembali ekspresi gen antioksidan enzimatik, diantaranya SOD, yang mana melindungi sel

dan memperbaiki kerusakan yang diakibatkan oleh stres oksidatif (Niture *et al.*, 2009).

Data hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak biji jintan hitam dengan dosis 24 mg/kgBB, 48 mg/kgBB dan 72 mg/kgBB memiliki kadar SOD sama dengan perlakuan kontrol (+) yaitu metformin dengan dosis 0,045 mg/gBB atau sama dengan 500 mg/kgBB pada manusia. Hasil ini sesuai dengan uji *Duncan* yang menunjukkan notasi yang sama antara perlakuan pemberian ekstrak biji jintan hitam dengan dosis 24 mg/kgBB, 48 mg/kgBB dan 72 mg/kgBB dengan perlakuan kontrol (+) yaitu metformin dengan dosis 500 mg/kgBB, seperti yang terlihat pada tabel 4.1. Mekanisme metformin dalam menaikkan kadar SOD sama dengan mekanisme jintan hitam dalam menaikkan SOD yaitu dengan mengurangi oksidasi asam lemak di jaringan adiposa, menaikkan translokasi GLUT4 di jaringan otot dan adiposa dengan mengaktifkan enzim adenosin monofosfat kinase dan mengurangi glukoneogenesis di hati (Zhou *et al.*, 2011).

Persamaan notasi dalam hasil uji *Duncan* juga terjadi pada perlakuan pemberian ekstrak biji jintan hitam dengan dosis 24 mg/kgBB, 48 mg/kgBB dan 72 mg/kgBB dengan perlakuan kontrol (-) seperti yang terlihat pada tabel 4.1. Hal ini menunjukkan telah terjadi proses perbaikan stres oksidatif pada tikus DM 2 akibat pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis 24 mg/kgBB, 48 mg/kgBB dan 72 mg/kgBB sehingga kadar SOD mendekati normal. Penelitian Andaloussi *et al.* (2011) menunjukkan perbaikan kondisi diabetes pada tikus mendekati normal dengan pemberian ekstrak biji jintan hitam melalui aktivasi

jalur AMPK dan kenaikan GLUT 4 di otot. Jingbo *et al.* (2007) menambahkan bahwa antioksidan dapat memperbaiki stres oksidatif yang selanjutnya dapat menaikkan ekspresi Nrf2 kemudian menaikkan ekspresi antioksidan enzimatik.

Selain dengan pengukuran kadar SOD, kondisi stres oksidatif juga dapat dilakukan dengan pengukuran malondialdehid. Malondialdehid (MDA) merupakan produk akhir dari oksidasi lipid yang bersifat toksik terhadap sel dan merupakan senyawa dialdehid yang memiliki tiga rantai karbon serta memiliki berat molekul (BM) rendah dan dapat diproduksi oleh mekanisme yang berbeda-beda (Denise *et al.*, 2009). MDA merupakan senyawa berbentuk kristal putih yang higroskopis diperoleh dari hidrolisis asam 1,1,3,3 tetraethoxypropane. Kadar MDA telah digunakan secara luas sebagai indikator stres oksidatif pada lemak tak jenuh sekaligus merupakan indikator keberadaan radikal bebas (Robertson, 2004).

. Peran MDA sebagai indikator stres oksidatif menjadi alasan banyaknya dilakukan pengukuran MDA. Pengukuran kadar MDA merupakan pengukuran aktivitas radikal bebas secara tidak langsung sebagai indikator stres oksidatif. Pengukuran ini dilakukan dengan tes *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS *test*) (Slater, 1984; Powers and Jackson, 2008).

Produksi dan metabolisme MDA terjadi saat radikal bebas oksigen (O_2^*) diproduksi melalui proses enzimatik dan non enzimatik. Sel-sel tubuh yang dapat membentuk radikal bebas oksigen dan H_2O_2 adalah sel polimorfonuklear, monosit dan makrofag. Radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan SOD dan ion Cu^{2+} menjadi H_2O_2 . H_2O_2 ini banyak diproduksi di mitokondria dan mikrosom. H_2O_2 ini dapat menembus membran sel sedangkan superoksida anion (O_2^*) tidak.

Hidrogen peroksida ini merupakan oksidan yang kuat oleh karena dapat bereaksi dengan berbagai senyawa (Slater, 1984).

Sebagai sistem pertahanan tubuh, H_2O_2 oleh katalase dapat diubah menjadi H_2O dan O_2^* . Selain itu H_2O_2 oleh enzim glutation peroksidase diubah pula menjadi H_2O . Pada stres oksidatif, radikal bebas oksigen dan H_2O_2 yang terbentuk akan berlebihan, sehingga sistem proteksi tubuh seperti enzim katalase dan glutation peroksidase tidak dapat lagi menetralkan semua radikal bebas oksigen yang terbentuk. Selanjutnya jika H_2O_2 bereaksi dengan dengan Fe^{+2} dan Cu^{+2} maka terbentuklah radikal bebas hidroksil melalui reaksi Fenton dan Haber-Weiss. Radikal hidroksil adalah spesies yang sangat reaktif. Sedangkan membran sel terdiri dari banyak komponen penting yaitu fosfolipid dan glikolipid dimana keduanya mengandung asam lemak tak jenuh dan kolesterol. Asam lemak tak jenuh ini sangat peka terhadap radikal hidroksil (Robertson, 2004).

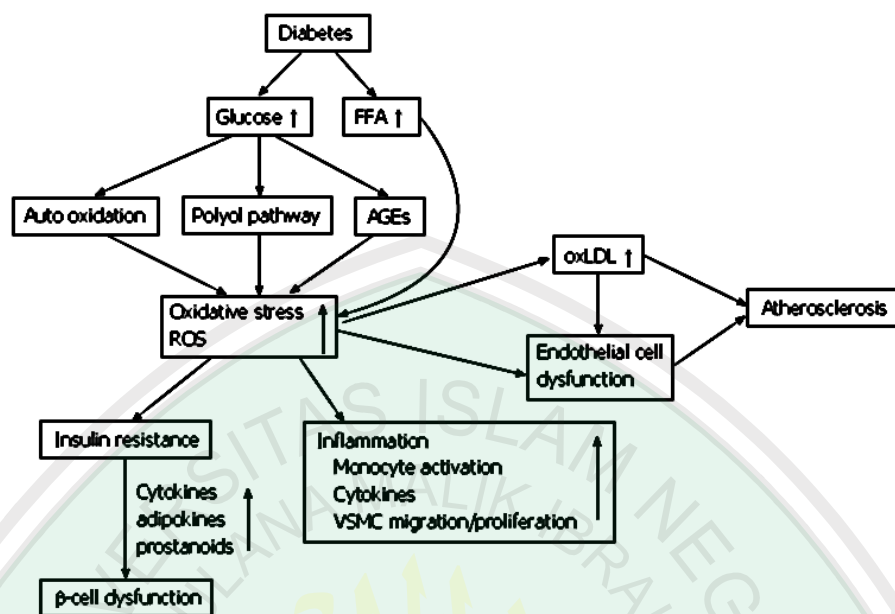
Radikal hidroksil ini akan membentuk reaksi rantai dengan satu atom hidrogen dari membran sel dan terbentuk peroksida lipid. Kelanjutan dari reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa aldehid yang memiliki daya perusak yang tinggi terhadap sel-sel tubuh antara lain 4-hidroksinenal, etana, pentana dan MDA (Pari *et al.*, 2009).

Hasil pengukuran kadar MDA pada kontrol (-) menunjukkan kadar MDA lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan 1 (dosis 0 mg/kgBB), notasi pada hasil uji *Mann-Whitney* juga menunjukkan ada perbedaan yang nyata antara kontrol (-) dengan perlakuan 1 (dosis 0 mg/kgBB) seperti yang terlihat pada tabel 4.2. Hasil pengukuran kadar MDA yang tinggi pada perlakuan 1 (tikus

DM 2) menunjukkan terjadinya stres oksidatif pada tikus DM 2 (Okuno et al., 2008).

Stres oksidatif yang terjadi pada tikus DM 2 dapat terjadi melalui pengaktifan beberapa jalur, diantaranya pembentukan *advanced glycation end-products* (AGEs), dan PKC β 1/2 (Okuno et al., 2008). Kondisi hiperglikemia dapat menginduksi stres oksidatif dengan beberapa mekanisme seperti autooksidasi glukosa, jalur poliol, pembentukan AGE dan PKC β 1/2 kinase, seperti yang terlihat pada gambar 4.3 (Tangvarasittichal, 2015). Tahap pembentukan MDA selanjutnya setelah terjadinya stress oksidatif yaitu dengan melalui proses non-enzimatik dengan *bicyclic endoperoxidase* yang diproduksi melalui peroksidasi lipid seperti yang terlihat pada gambar 4.4. (Ayala, 2014).

Penurunan kadar MDA juga terjadi pada pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia dengan dosis 24 mg/kgBB, 48 mg/kgBB, dan 72 mg/kgBB serta perlakuan kontrol (+) yaitu metformin dengan dosis 0,045 mg/gBB jika dibandingkan dengan perlakuan dosis 0 mg/kgBB. Kadar MDA menurun sejalan dengan peningkatan dosis pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia, akan tetapi pada dosis 72 mg/kgBB kadar MDA mengalami kenaikan, akan tetapi notasi pada uji *Mann-Whitney* menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata antara perlakuan dosis 24 mg/kgBB, 48 mg/kgBB, dengan dosis 72 mg/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa dosis efektif dalam menurunkan kadar MDA sama dengan dosis efektif dalam menaikkan kadar SOD yaitu dosis 24 mg/kgBB.



Gambar 4.3. Mekanisme peningkatan ROS pada penderita DM 2 (Tangvarasittichal, 2015)

Pemberian perlakuan ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia dengan dosis 24 mg/kgBB, 48 mg/kgBB, dan dosis 72 mg/kgBB dibandingkan dengan dosis 0 mg/kgBB pada hasil notasi uji *Mann-Whitney* menunjukkan perbedaan yang nyata, akan tetapi dosis 48 mg/kgBB merupakan dosis dengan kadar MDA terendah, meski dosis efektif dalam menurunkan kadar MDA yaitu dosis 24 mg/kgBB seperti yang terlihat pada tabel 4.2. Andaloussi *et al.* (2011) menyatakan bahwa perlakuan terapi menggunakan jintan hitam dosis 48 mg/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus DM tipe 2 yang selanjutnya dapat menurunkan kadar MDA.

Penurunan kadar MDA terjadi karena ekstrak biji jintan hitam Indonesia dapat menaikkan aktivasi jalur *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK), yaitu suatu enzim pada otot dan hati. Mekanisme aktivasi

jalur *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK) juga merupakan mekanisme perbaikan kondisi stres oksidatif pada pengobatan menggunakan metformin. Aktivasi jalur AMPK dapat menghambat jalur glukoneogenesis di hati, sehingga menaikkan sintesis Glut 4. Glut 4 merupakan protein yang berperan sebagai transporter di otot, yang memainkan peran penting dalam mengontrol hiperglikemia. Perbaikan kondisi hiperglikemia selanjutnya akan memperbaiki kondisi stres oksidatif yang menyebabkan penurunan kadar MDA. H. Erchid (2004) dalam Andaloussi *et al.* (2011) juga menyatakan bahwa perlakuan pemberian ekstrak biji jintan hitam dapat meningkatkan proliferasi pada kultur sel β pankreas.

Mekanisme penurunan kadar MDA melalui pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia melalui tahapan yang panjang. Allah SWT menjelaskan dalam firman-Nya Surat Al-An'am (6):59,

﴿ وَعِنْدَهُ مَفَاتِحُ الْغَيْبِ لَا يَعْلَمُهَا إِلَّا هُوَ وَيَعْلَمُ مَا فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ وَمَا تَسْقُطُ
مِنَ وَرَقَةٍ إِلَّا يَعْلَمُهَا وَلَا حَبَّةٍ فِي ظُلْمَتِ الْأَرْضِ وَلَا رَطْبٍ وَلَا يَابِسٍ إِلَّا فِي كِتَابٍ

مُسْتَبِينِ ﴿٥٩﴾

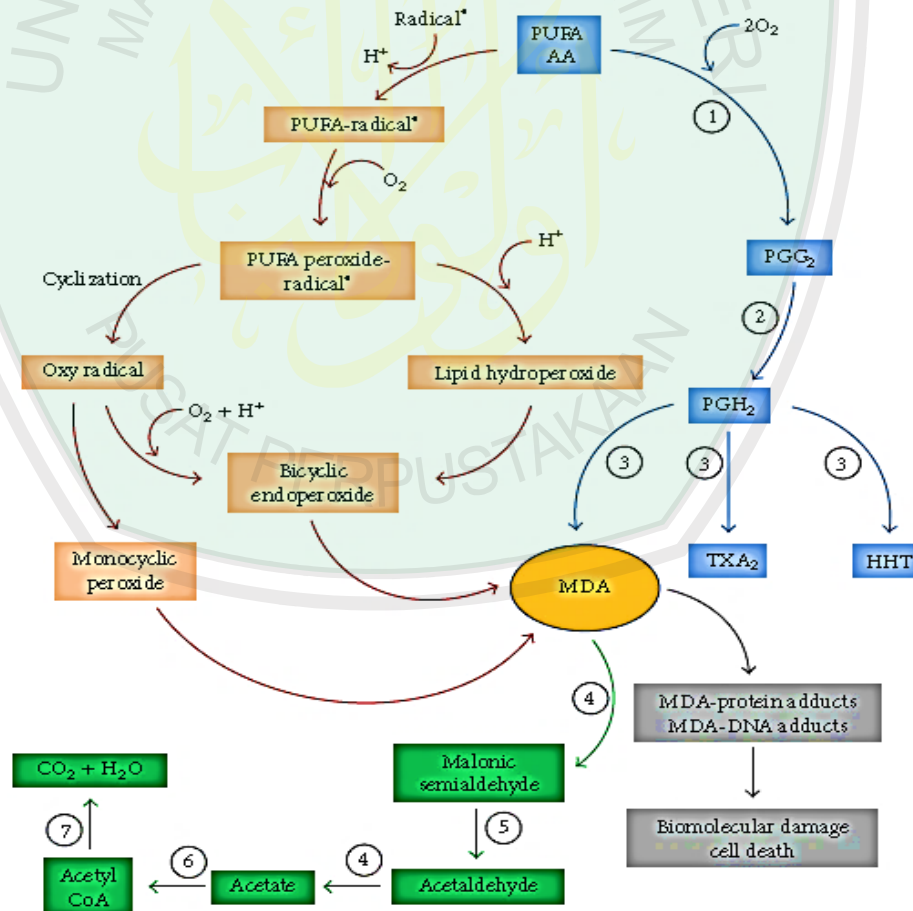
Artinya: "Dan pada sisi Allah-lah kunci-kunci semua yang ghaib; tidak ada yang mengetahuinya kecuali Dia sendiri, dan Dia mengetahui apa yang di daratan dan di lautan, dan tiada sehelai daun pun yang gugur melainkan Dia mengetahuinya (pula), dan tidak jatuh sebutir biji-pun dalam kegelapan bumi, dan tidak sesuatu yang basah atau yang kering, melainkan tertulis dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfudz)".

Ayat ini menunjukkan bahwa Allah SWT mengetahui segala proses keseluruhan yang terjadi di dunia ini, termasuk peristiwa perbaikan stres oksidatif pada penderita DM 2 yang ditandai dengan penurunan kadar MDA. Meski hanya Allah SWT yang tahu dengan pasti setiap proses yang terjadi di semesta ini, akan tetapi manusia wajib mencari tahu dan mempelajari setiap proses penciptaan yang terjadi di semesta (Al-Mahally, 1990).

Hasil uji *Mann-Whitney* pada kontrol (+), dosis 24 mg/kgBB, dosis 48 mg/kgBB, dan dosis 72 mg/kgBB menunjukkan perbedaan yang nyata pada kadar MDA jika dibandingkan dengan kontrol (-) seperti notasi yang ditunjukkan pada tabel 4.2. Hal ini menunjukkan pemberian ekstrak biji jintan hitam Indonesia dapat memperbaiki kondisi stres oksidatif yang terjadi pada tikus DM 2, bahkan kadar MDA pada perlakuan pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia dengan dosis 24 mg/kgBB, dosis 48 mg/kgBB, dan dosis 72 mg/kgBB lebih rendah dari kontrol (-).

Kadar MDA perlakuan pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol (-) dapat disebabkan ekstrak etanol 80% biji jintan hitam yang telah memperbaiki kondisi oksidatif pada tikus perlakuan disebabkan kandungan antioksidan yang terkandung pada biji jintan hitam. Selain itu pembentukan MDA juga dipengaruhi banyak faktor. Secara normal seperti pada kontrol (-), MDA dapat dibentuk secara enzimatik sebagai produk samping dari biosintesis *thromboxane A₂* (TXA₂) dan *12-1-hydroxy-5,8,10-heptadecatrienoic acid* (HHT) dengan dekomposisi dari asam arachnoid (AA) dan PUFA (Ayala, 2014).

Proses biosintesis *thromboxane A₂* (TXA₂) dan *12-1-hydroxy-5,8,10-heptadecatrienoic acid* (HHT) dengan dekomposisi dari asam arachnoid (AA) dan PUFA melibatkan kerja dari banyak enzim maupun antioksidan enzimatis (selain SOD). Enzim-enzim utama yang terlibat pada proses tersebut yaitu siklooksigenase, *prostacyclin hydroperoxidase*, *thromboxane synthase*, *aldehyde dehydrogenase*, *decarboxylase*, *acetyl CoA synthase* dan *tricarboxylic acid*, seperti yang terlihat pada gambar 4.4. Jika kerja satu diantara enzim tersebut terganggu, maka proses pembentukan maupun metabolisme MDA juga akan terganggu. Hal ini dapat menyebabkan peningkatan kadar MDA (Ayala, 2014).



Gambar 4.4. Bagan proses pembentukan MDA (Ayala, 2014).

Efek anti diabetik disertai dengan penurunan kadar MDA terjadi saat senyawa-senyawa antioksidan dari biji jantan hitam Indonesia terutama dari golongan terpen menghambat aktivitas dari TNF- α (Li *et al*, 2015). TNF- α merupakan sitokin proinflamatori yang memainkan peran penting dalam inisiasi kerusakan hati. Peningkatan TNF- α menstimulasi reseptor TNF- α di permukaan membran sel, yang mengaktifasi stres yang berhubungan dengan protein kinase c-Jun N-Terminal kinase (JNK) dan I κ B kinase β (IKK β), menghasilkan kenaikan produksi dari sitokin proinflamatori dan mengurangi sensitivitas insulin yang kemudian menaikkan MDA (Li *et al*, 2015). Aktivasi dari jalur JNK menurunkan aktivitas PDX-1 dan Mafa, yaitu dua faktor transkripsi pankreas yang penting (Kaneto dan Matsuoka, 2012).

Yi *et al* (2015) dalam Li *et al* (2015) melaporkan bahwa perlakuan dengan *betulinic acid* dapat secara signifikan meningkatkan level Glutathione (GSH), SOD, Glutathione peroxidase (GSH-Px) dan Catalase (CAT) ketika MDA hati berkurang. Hal tersebut menunjukkan efek hepatoprotektif dari *betulinic acid* yang berhubungan dengan perbaikan kapasitas antioksidan enzimatik.

Berdasarkan hasil pengamatan pada kadar SOD dan MDA diketahui bahwa kadar SOD tertinggi yaitu 6.69 ± 1.48 U/ml dan kadar MDA terendah yaitu 773.38 ± 274.75 ng/ml pada perlakuan pemberian ekstrak etanol 80% biji jantan hitam dengan dosis 48 mg/kgBB, akan tetapi hasil uji *Duncan* dan *Mann-Whitney* belum menunjukkan perbedaan yang nyata diantara perlakuan dosis 48 mg/kgBB dengan perlakuan dosis 24 mg/kgBB, sehingga dosis efektif pemberian ekstrak

etanol 80% biji jintan hitam Indonesia dalam meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA yaitu dosis 24 mg/kgBB. Perlakuan dengan dosis 24 mg/kgBB memiliki kadar SOD sebesar 6.21 ± 0.80 U/ml dan MDA sebesar 840.25 ± 321.23 ng/ml.

Setiap obat memiliki dosis efektif dalam penggunaannya sehingga dapat melakukan fungsinya secara optimal, sebagaimana dikaji dalam Surat Al-Qamar (54):49,

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya : “*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*”.

Berdasarkan ayat ini dijelaskan bahwa sesungguhnya Allah SWT menciptakan segala sesuatu menurut ukuran (بِقَدَرٍ) yang sesuai dengan hikmah (Shihab, 2002). Ukuran yang sesuai dengan hikmah juga dapat diartikan sebagai dosis yang sesuai menurut Allah SWT. Dosis yang sesuai menurut Allah SWT juga dapat berarti dosis yang tidak berlebih-lebihan atau sesuai dengan ukuran. Dosis yang sesuai dengan ukuran pada penelitian ini yaitu dosis 24 mg/kgBB. Hal ini ditunjukkan dengan hasil uji *Duncan* dan *Mann-Whitney* yang menyatakan bahwa dosis pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia sebesar 24 mg/kg BB telah berpengaruh secara nyata dalam menaikkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA jika dibandingkan dengan dosis yang lebih tinggi, yaitu dosis 48 mg/kgBB dan dosis 72 mg/kgBB. Penelitian Pari dan Sankaranaryana

(2009) juga menunjukkan perbaikan kondisi diabetic setelah pemberian *thymoquinone* pada jintan hitam dengan dosis 20 mg/kgBB.

Semua penyakit pada dasarnya berasal dari Allah SWT, maka yang dapat menyembuhkan juga Allah SWT semata, akan tetapi untuk mencapai kesembuhan tersebut tentunya dengan melakukan usaha yang diridhai Allah SWT (Al-Jauziyah, 2008). Satu diantara usaha tersebut yaitu mencari obat dengan dosis yang sesuai. Obat dengan dosis yang sesuai pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol 80% biji jintan hitam Indonesia yang dapat meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Ada pengaruh ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia terhadap kenaikan kadar SOD dan penurunan kadar MDA tikus (*Rattus norvegicus*) model DM 2.
2. Dosis pemberian ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia yang optimal pada kenaikan kadar SOD dan penurunan kadar MDA tikus (*Rattus norvegicus*) model DM 2 yaitu dosis 24 mg/kgBB.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka disarankan perlu dilakukan penelitian lanjutan dan penelitian keamanan tentang potensi ekstrak etanol 80% biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia dengan dosis 24 mg/kgBB terkait dengan dosis optimal pemberian terapi serta dilakukan penelitian sejenis dengan desain pengukuran kadar SOD dan MDA pada organ target diabetes, yaitu pankreas.

DAFTAR PUSTAKA

- Algameta, Elfara Diaz. 2009. Uji Aktivitas Antioksidan Tablet Everescent Dewandaru (*Eugenia unifolia* L.) dan Sambiloto (*Andrographis paniculata* L.) pada Tikus yang Dibebeani Glukosa. *Skripsi*. Solo: UMS.
- American Diabetes Association. 2015. Diabetes Care. *The Journal of Clinical and Applied Research and Education*. Vol 38.
- Andaloussi, Ali Benhaddou, Louis Martineau, Tri Vuong, Bouchra Meddah, PadmaMadiraju, Abdellatif Settaf, and Pierre S. Haddad. 2011. The In Vivo Antidiabetic Activity of *Nigella sativa* is Mediated through Activation of The AMPK Pathway and Increased Muscle Glut4 Content. *Hindawi Journal*.
- Anonimous. 2007. Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian. *bb_pascapanen@litbang.Beptan.go.id*. Diakses: 6 Februari 2016.
- Anonimous. 2009. Glikemiks Indeks: Cara Baru Penatalaksanaan Makan bagi Penderita Diabetes, Olah Ragawan, dan Orang yang sedang Berupaya Menurunkan Bobot Badan. <http://www.wikipedia.org>. Diakses: 1 Februari 2016.
- Anshor T, Dominius A, Irwanda, Imiawan M. 2013. Supresi Ekspresi CYP1A1 dan CYP1A2 pada Hepatoceluller Carcinoma Melalui Potensi Formula Herbal Rekombinasi *Gynura Procumbens* dan Kulit Jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) sebagai Agen Kempreventif Keganasan Hepar. *IMKU2* (1): 1-1.
- Arista, Mega. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan 96% Daun Katuk (*Saoropus androgynous* L.) Merr.). *Jurnal ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*.
- Arkhaesi, N. 2008. Kadar Malondialdehyde (MDA) Serum Sebagai Indikator Prognosis Keluaran Pada Sepsis Neonatorum. *Tesis*. Program Pascasarjana Magister Ilmu Biomedik dan Program Pendidikan Dokter Spesialis-I Ilmu Kesehatan Anak Universitas Diponegoro Semarang.
- Arulselvan, S., Perumal Pillai, E.B., Subramanian, K. and Santhakumar, A.R. 2006. "Strength Behaviour in Brick Joints". *Proceedings of National Conference on 2006 Coimbatore Institute of Technology*.
- Astrup, A. 2005. *Obesity in Human Nutrition 11th ed*. London : Elsevier Churchil
- Aulanni'am, A, Rosdiana dan N.L. Rahma. 2011. Potensi Fraksi Etanol dan Etil Asetat Rumput Laut Coklat (*Sargassum duplicatum* Borry) Terhadap Penurunan Kadar Malondialdehyd dan Perbaikan Gambaran

Histopatologi Jejunum Usus Halus Tikus IBD (*Inflammatory Bowel Disease*). *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan* 4 (1): 57-64.

- Ayala Antonio, Mario F. Muñoz, and Sandro Argüelles. 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Hindawi Journal*.
- Basir A, Aman M, Adam FM, Adam JMF. 2010. Resistensi Insulin dan Disfungsi Sel Beta Pada Subyek Obesitas dengan Dysglycemia. *Scientific Journal of Pharmaceutical Development and Medical Application*. Vol 22: 4.
- Chauhan, V.S., Chauhan, R.S., Devikar, N., Vibhute, A., dan More, S. 2012. Gingival and Periodontal Disease in Children and Adolescents. *Dental Allied Sciences*. 1(1):26-29.
- Chen HM, Muramoto K, Yamauchi F. 1996. Structural Analysis of Anti-oxidative Peptides from Soybean β -Conglicinin. *J. Agric Food Chem* 43:574-578.
- Chung, S. K. 2003. Contribution of Polyol Pathways to Diabetes Induced Oxidative Stress. *J. Am. Soc. Nephrol*.
- Claudia. C., Maria. G., Hanganu. D., Olah. N., Maria. F., Hammam. C., Hammam M. 2010. Chemical Composition Of The Tunisian *Nigella sativa*. *Farmacia*.
- Cossarizza A, Ferraresi R, Troiano L, Rosi E, Gibellini L, Bertoncelli L, Nasi M, Pinti M. Simultaneous Analysis of Reactive Oxygen Species and Reduced Glutathione Content in Living Cells by Polychromatic Flowcytometry. 2009. *Nat protoc*. Vol 4.
- Dahlan, M.S. 2009. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Medika.
- El-Dakhakhny M, Mady N, Lembert N, Ammon HP. 2002. The Hypoglycemic Effect of *Nigella sativa* Oil is Mediated by Extrapancreatic Actions. *Planta Med*.
- Dean C.M, Shepherd R.B. 1997. Task-Related Training Improves Performance of Seated Reaching Tasks After Stroke: A Randomized Controlled Trial. *Stroke*.
- Denise, Grotto; Lucas Santa Maria; Juliana Valentini; Clóvis Paniz; Gabriela Schmitt; Solange Cristina Garcia; Valdeci Juarez Pomblum; João Batista T. Rocha; Marcelo Farina. 2009. Importance of The Lipid Peroxidation Biomarkers and Methodological Aspects for Malondialdehyde Qualification. *Quimnova*. 169-174.
- Dipiro, J.T., et al. 2005. *Pharmacotherapy Handbook Sixth edition*. USA: The Mc.Graw Hill Company.

- Fessenden, R. J., dan Fessenden, J. 1994. *Kimia Organik Jilid 2 Edisi ke-3*. Jakarta: Erlangga.
- Foster, D.W. 2000. *Diabetes Mellitus: Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York: McGraw-Hill Companies.
- Fridovich I. 1975. Superoxide Dismutases. *Ann Rev Biochem*. 44:147-159.
- Ganong, WF. 2008, *Fisiologi Kedokteran Edisi 22*. Jakarta : EGC.
- Gordon, M.H. 1990. *The Mechanism of Antioxidants Action In Vitro*. Di dalam : B.J.F. Hudson, editor. *Food Antioxidants*. London: Elsevier Applied Sciences.
- Hadisaputro S, Setiyawan H. 2007. *Epidemiologi dan Faktor-Faktor Risiko Terjadinya Diabetes Melitus Tipe 2*. Semarang : Badan Penerbit UNDIP PERKENI.
- Haffner, SM. 1999. The Importance of Hyperglycemia in The Non Fasting State to The Development Cardiovascular State. *Endocrine Review*.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. *Free Radical in Biology and Medicine 3rd ed*. New York: Oxford University Press.
- Halliwell, B. 2006. Reactive Species and Anti-oxidants: Redox Biology is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiol*.
- Harjanto, 2003. Petanda biologis dan faktor yang mempengaruhi derajat stres oksidatif pada latihan olahraga aerobik sesaat. Disertasi. Surabaya. Program Pascasarjana. Universitas Airlangga.
- Held, Paul. 2015. An Introduction to Reactive Oxygen Species, Measurement of ROS in Cells. *Biotek*.
- Hendrik. 2007. Habbatus sauda' Thibbun Nabawiy Dalam Menangani Berbagai Penyakit. http://toi.usd.multiply.com/journal/item/95/Nigella_sativa_Jintan_Hitam. Diakses: 1 Februari 2016.
- Hutapea, Johnny Ria. 1994. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Depkes.
- IDF (International Diabetes Federation). 2009. The IDF Consensus Worldwide Definition of the Metabolik Syndrome. <http://www.idf.org>. Diakses tanggal 1 Maret 2016.
- Al-Jauziyah, Ibnu Qayyim. 2008. *Praktek Kedokteran Nabi SAW*. Yogyakarta: Hikam Pustaka Abdollahi.
- Jingbo Pi, Yushi Bai, Qiang Zhang, Victoria Wong, Lisa M. Floering, Kiefer Daniel, Jeffrey M. Reece, Jude T. Deeney, Melvin E. Andersen, Barbara

- E. Corkey, and Sheila Collins. 2007. Reactive Oxygen Species as a Signal in Glucose-Stimulated Insulin Secretion. *Diabetes*. 56:1783–1791.
- Kaleem, M. 2006. *Antidiabetic and Antioxidant Activity of Annona squamosa Extract in Streptozotocin-induced Diabetic Rats*. Aligarh: Aligarh Muslim.
- Kaneto, Hideaki dan Taka-aki Matsuoka. 2012. Involvement of Oxidative Stress in Suppression Biosynthesis under Diabetic Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol 13. 1368-13690.
- Kartikawati, D. 1999. Studi Efek Protektif Vitamin C dan E Terhadap Respon Imun dan Enzim Antioksidan pada Mencit yang Dipapar Paraquat. *Tesis*. Bogor. IPB
- Kathirvel E, Chen P, Morgan K, French SW, Morgan TR. 2010. Oxidative Stress and Regulation of Anti-oxidant Enzymes in Cytochrome P450E1 Transgenic Mouse Model of Non-alcoholic Fatty Liver. *J Gastroenterol Hepatol*.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kusumawati, Diah. (2004). *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Lach, Halina Cichoż and Michalak, Agata. 2014. Oxidative Stress as A Crucial Factor in Liver Diseases. *World Journal of Gastroenterology*.
- Li, Sha, Hor-Yue Tan, Ning Wang, Zhang-jin Zhang, Lixing Lao, Chi-woon Wong and Yibin Feng. 2015. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Disease. *J. Mol. Sci*. Vol:16. 26087-26124.
- Li, Sha, Hor-Yue Tan, Ning Wang, Zhang-Jin Zhang, Lixing Lao, Chi-Woon Wong dan Yibin Feng. 2015. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol 16.
- Livingstone.
- Al-Mahally, Jalaluddin. Imam As-Sayuthi. 1990. *Tafsir Jalalain*. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Mahfur. 2012. Perbandingan Profil Kromatogram Minyak Atsiri Jinten Hitam (*Nigella sativa* L.) yang berasal dari Habasyah, India, dan Indonesia dengan Metode Kromatografi Gas. *Skripsi*. Solo: UMS.
- Manaf, Asman. 2009. The FDC of Glimpiride and Metformin : Its Cardioprotective Properties and Evidence Based Data. *Prosiding Fakultas Kedokteran*. Universitas Andalas.

- Al-Maraghi, Ahmad Mustofa. 1987. *Terjemah Tafsir Al-Maraghi 19*. Semarang: Tohapatra.
- Maretnowati, Nuke. 2004. Uji Toksisitas Akut dan Subakut Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Kulit Batang Artocarpus Champeden Sperng Dengan Parameter Histopatologi Hepar Mencit. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Markham, KR. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB.
- Mates JM, Gomez CP, Castro IN. 1999. Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clin Biochem*. 32(8):595-603.
- McGee. 2007. *Nigella*. <http://www.theepicentre.com/Spices/nigella.html>. Diakses : 27 Februari 2016.
- Mozaffari, F.S., Ghorbanli M., Babai A., and Farzami Sepehr M. 2000. The Effect of Water Stress on The Seed Oil of *Nigella sativa* L. *J. Essent*.
- Ash-shayim, Syaikh Muhammad. 2012. *Sehat dengan Herbal Pilihan*. Solo: Pustaka Arafah.
- Murray, R.K., Mays P.A., Garnar D.K., Rodwell V.W. 1992. *Biokimia*. Jakarta: EGC.
- An-Najjar, Prof. Dr. Zaghlul. 2011. *Sains dalam Hadis*. Jakarta: AMZAH
- Najmi A, Nasiruddin M, Khan RA, Haque SF. Effect of *Nigella sativa* Oil on Various Clinical and Biochemical Parameters of Insulin Resistance Syndrome. *Int. J. Diab*.
- Naziroglu, M.; Butterworth, P.J.; Sonmez, T.T. 2011. Dietary vitamin C and E modulates antioxidant levels in blood, brain, liver, muscle, and testes in diabetic aged rats.. *Int. J. Vitam. Nutr. Res*. Vol 81. 347–357.
- Nickavar, Bahmen, Faraz Mojab, Katayoun Javionia dan Mohammad Ali Roodgar Amoli. 2003. Chemical Composition of The Fixed and Volatile Oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Natanforchs*. 629-631.
- Nishimura CY, 1998. Aldose Reductase in Glucose Toxicity: A Potential Targets for There Vention of Diabetic Complications. *Pharmacological Reviews*. 1998;50 (1):21-33.
- Niture, S.K.; Jain, A.K.; Jaiswal, A.K. 2009. Antioxidant-Induced Modification Of Inrf2 Cysteine 151 And PKC Mediated Phosphorylation Of Nrf2 Serine 40 Are Both Required For Stabilization And Nuclear Translocation Of Nrf2 And Increased Drug Resistance. *J. Cell Sci*. Vol 122. 4452–4464.

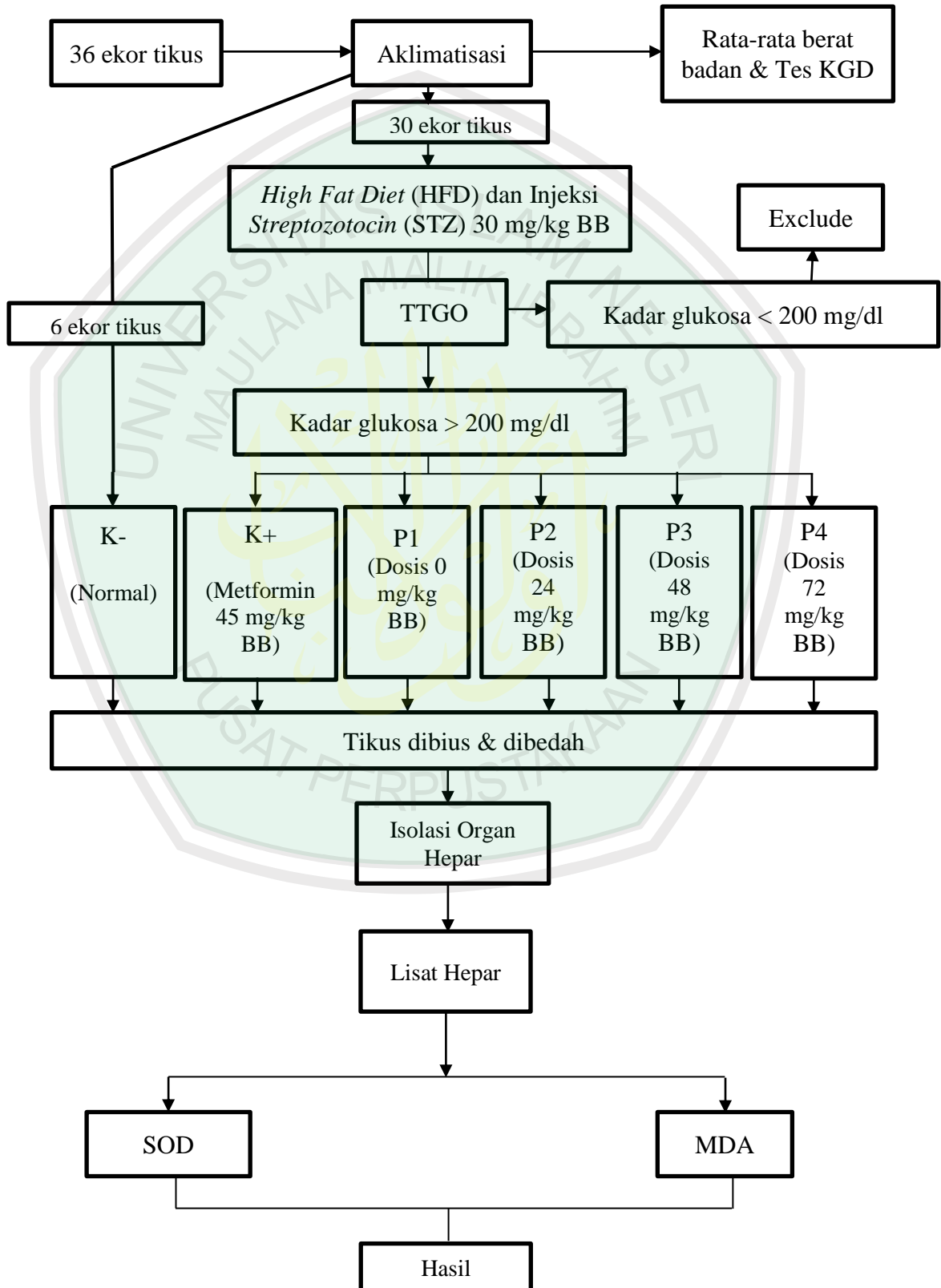
- Novrial, Dody, Hidayat Sulistyono dan Setiawati. 2012. Comparison Of Antidiabetic Effects Of Honey, Glibenclamide, Metformin And Their Combination In The Streptozotocin Induced Diabetic Rat. *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan*. Jurusan Kesehatan Masyarakat FKIK UNSOED Purwokerto.
- Nuttall SL, Dunne F, Kendal MJ, Martin U. 1999. Age-independent Oxidative Stress in Elderly Patients with Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus. *Q J Med.*;92:33-8.
- Onder G, and C Pedone. 2008. Adverse Drug Reactions as Cause of Hospital Admissions: Result from The Italian Group of Pharmacoepidemiology in The Elderly (GIFA). *Journal of American Geriatrics Society*; 50:1962-8.
- Padilah, Irfanudin. 2009. Uji Efek Hiperglikemia Fraksi Etil Asetat Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* Linn.) pada Tikus Putih Jantan dengan Metode Induksi Aloksan dan Toleransi Glukosa. *Skripsi*. Jakarta: UIN syarif Hidayatullah.
- Pari L, Latha M. 2002. Effect of Cassia Auriculata Flowers on Blood Sugar Levels, Serum and Tissue Lipids in Streptozotocin Diabetic Rats. *Singapore Med Journal*.
- Pari L, Sankaranarayanan C. 2009. Beneficial Effects Of Thymoquinone On Hepatic Key Enzymes In Streptozotocin-Nicotinamide Induced Diabetic Rats. *Life Sci*: 85 (23-26): 830-834.
- Petrie dan Sabin. 2000. *Medical Statistic at A Glance*. USA: Blackwell Sciences.
- Posdatin. 2014. *Waspada Diabetes "Eat Well Live Well"*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Powers, S.K. & Jackson, M.J. (2008) Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiological Reviews*.
- Price, S and Wilson, L. 2005. *Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 6*. Jakarta: EGC.
- Purnamasari, P. 2009. Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Melitus dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Al-Qarni, Dr. 'Aidh. 2008. *Tafsir Muyassar*. Jakarta: Qisthi Press.
- Rajasekaran S, Kasiappan R, Karuran S, Sorimuthu S. (2006). Beneficial Effects of *Aloe vera* Leaf Gel Extract on Lipid Profile Status In Rats with Streptozotocin Diabetes. *Journal of Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*.
- Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Poitout V. 2004. β -cell Glucose Toxicity, Lipotoxicity, and Chronic Oxidative Stress in Type 2 Diabetes. *Diabetes*.

- Santos JC, Valentim IB, de Araújo OR, Ataíde Tda R, Goulart MO. 2013. Development of Nonalcoholic Hepatopathy: Contributions of Oxidative Stress and Advanced Glycation end Products. *Int J Mol Sci*.
- Setyaningrum, Fitriana Annisa. 2007. *Nigella sativa (Jinten Hitam Pahit). Penyakit dan Memelihara Kesehatan tubuh*. Surakarta: Pustaka Al-Ummat.
- Shihab, M Quraish. 2002. *Wawasan Al-Qur'an*. Bandung: Mizan.
- Simanjuntak D, Sudaryati E. 1998. Aspek Pencegahan Radikal Bebas Melalui Antioksidan. *Maj Kedokt Indon*.
- Slater, T. F. 1984. Free-Radical Mechanisms in Tissue Injury. *Biochemical Journal*.
- Studiawan, H., dan Santoso, M.H. 2005. Uji Aktivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Ekstrak Daun Eugenia Polyantha Pada Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Media Kedokteran Hewan*.
- Suharmiati dan Roosihermiatie, B. 2012. Pengobatan Diabetes Mellitus Menggunakan Kombinasi Metformin dengan Ekstrak Campuran *Andrographis paniculata* dan *Syzygiumpolyanthum*. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*, 15 (2): 110–119.
- Sukara, E., 2000. Sumber daya alam hayati dan pencarian bahan baku obat (Bioprospekting). *Prosiding Simposium Nasional II Tumbuhan Obat dan Aromatik. Puslitbang Biologi-LIPI, Bogor* : 31- 37.
- Sukmawati, D. 2005. Stress Oksidatif, Antioksidan Vitamin dan Kesehatan. *Saintika medika*. 2: 239-253.
- El-Taher, K.E., Ashour MM, Al-Harbi MM. 1993. The Respiratory Effects of The Volatile Oil of The Black Seed (*Nigella sativa*) in Guinea-Pigs: Elucidation of The Mechanism of Action. *Gen Pharmacol*.
- Tangvarasittichal, Surapon. 2015. Oxidative Stress, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Type 2 Diabetes Mellitus. *World Journal of Diabetes*. 6(3): 456-480.
- Tjitrosoepomo, G. 1992. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Tsalissavrina I, Wahono D, handayani D. 2006. Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Karbohidrat Dibandingkan Diet Tinggi Lemak Terhadap Kadar Trigliserida dan HDL Darah pada *Rattus novergicus* galur wistar. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 22(2):81-90.
- Turrens JF, Boveris A. Generation of Superoxide Anion by NADH Dehydrogenase of Bovine Heart Mitochondria. *Biochem J*.

- Underwood, J.C.1999. *General and Systematic Pathology 2nd Edition Vol 1 Diterjemahkan oleh Sardjadi*. Jakarta : EGC.
- United State Department of Agriculture. 2007. *Nigella sativa*. <http://plants.usdagov/java/profile?symbol=NISA2>. Diakses tanggal 27 Februari 2016.
- Winarsi H, Hernayanti, Purwanto A, Sukanto. 2006. Profil dan Status Antioksidan Wanita Penderita Candidiasis di Purwokerto. *M Med Indones*. 41:108–12.
- Wolf P.A, Albers G, Higashida RT, Grotta J. 2000. Stroke In New Mileniumm. 73rd. *Scientific session of the American Heart Association*.
- Wresdiyati T, Astawan M, Hastanti L Y. 2006. Profil Imunohistokimia Antioksidan Superoksida Dismutase (SOD) pada Jaringan Hati Tikus di Bawah Kondisi Hiperkolesterolemia. *Hayati*.
- Yusuf, Mentari Syahriah. 2014. Efektivitas Penggunaan Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) dalam Proses Percepatan Penyembuhan Luka Setelah Pencabutan Gigi. *Skripsi*. Makassar: UNHAS.
- Zhang, Ming, Lv, Xiao-Yan, Li, Jing, Xu, Zhi-Gang, and Chen, Li. 2008. The Characterization of High-Fat Diet and Multiple Low-Dose Streptozotocin Induced Type 2 Diabetes Rat Model. *Experimental Diabetes Research*. Volume 2008.
- Zhou, J.Y.; Zhou, S.W. 2011. Protective Effect of Berberine on Antioxidant Enzymes and Positive Transcription Elongation Factor b Expression in Diabetic Rat Liver. *Fitoterapia*. Vol 82. 184–189.
- Zubaedah, Alatas. 1994. Distribusi dan Dekontaminasi Thorium-232 Pada Tikus Putih Pasca Pemberian Thorium Nitrat Melalui Mulut. *Presentasi Ilmiah dan Keselamatan Radiasi dan Lingkungan*.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2: Data Kadar SOD Hepar Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) DM 2 Setelah Perlakuan Ekstrak Ethanol 80% Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Perlakuan	Kadar SOD				Jumlah	Rata-Rata
	1	2	3	4		
K(-)	7.844	6.456	7.678	7.233	29.211	7.303
P1	4.122	3.956	2.344	3.844	14.266	3.567
P2	5.456	7.344	6.011	6.011	24.822	6.206
P3	7.956	7.900	4.956	5.956	26.768	6.692
P4	6.344	7.956	5.067	4.733	24.100	6.025
K(+)	7.956	8.233	5.456	6.844	28.489	7.122



Lampiran 3: Data Kadar MDA Hepar Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) DM 2 Setelah Perlakuan Ekstrak Ethanol 80% Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Perlakuan	Kadar MDA (ng/ml)				Jumlah	Rata-Rata
	1	2	3	4		
K(-)	1256.50	1304.00	1284.00	1221.50	5066	1266.50
P1	1474.00	1446.50	1326.50	1311.50	5558.5	1389.63
P2	1196.50	1124.00	536.50	504.00	3361	840.25
P3	1061.50	1034.50	484.00	514.00	3094	773.38
P4	1159.00	1186.50	526.50	514.00	3386	846.50
K(+)	1124.00	1164.00	479.00	564.00	3331	832.75



Lampiran 4: Perhitungan Statistik Hasil Penelitian Kadar SOD dengan SPSS One Way Anova dan Uji Lanjut Duncan

1. UJI NORMALITAS

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perlakuan	ulangan	kadar_SOD
N		24	24	24
Normal Parameters ^a	Mean	3.50	2.50	6.15233
	Std. Deviation	1.745	1.142	1.614845
Most Extreme Differences	Absolute	.138	.169	.123
	Positive	.138	.169	.099
	Negative	-.138	-.169	-.123
Kolmogorov-Smirnov Z		.678	.829	.604
Asymp. Sig. (2-tailed)		.748	.498	.859
a. Test distribution is Normal.				

Descriptives

kadar_SOD	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol (-)	4	7.30275	.620649	.310324	6.31516	8.29034	6.456	7.844
dosis 0 mg/kgBB	4	3.56650	.822963	.411481	2.25698	4.87602	2.344	4.122
dosis 24 mg/kgBB	4	6.20550	.802827	.401413	4.92802	7.48298	5.456	7.344
dosis 48 mg/kgBB	4	6.69200	1.484627	.742314	4.32963	9.05437	4.956	7.956
dosis 72 mg/kgBB	4	6.02500	1.462595	.731297	3.69769	8.35231	4.733	7.956
kontrol (+)	4	7.12225	1.262632	.631316	5.11312	9.13138	5.456	8.233
Total	24	6.15233	1.614845	.329629	5.47044	6.83422	2.344	8.233

2. UJI HOMOGENITAS

Test of Homogeneity of Variances

kadar_SOD

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.742	5	18	.176

3. UJI *One Way ANOVA*

kadar_SOD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	37.044	5	7.409	5.815	.002
Within Groups	22.934	18	1.274		
Total	59.978	23			

4. UJI *DUNCAN*

kadar_SOD

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a dosis 0 mg/kgBB	4	3.56650	
dosis 72 mg/kgBB	4		6.02500
dosis 24 mg/kgBB	4		6.20550
dosis 48 mg/kgBB	4		6.69200
kontrol (+)	4		7.12225
kontrol (-)	4		7.30275
Sig.		1.000	.166

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Lampiran 5: Perhitungan Statistik Hasil Penelitian Kadar MDA dengan SPSS Non

Parametric Test Kruskal-Wallis dan Uji Lanjut Mann-Whitney

1. Uji Kruskal-Wallis

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kadar_MDA	24	9.9150E2	358.76373	479.00	1474.00
perlakuan	24	3.5000	1.74456	1.00	6.00

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank
kadar_MDA	1	4	18.50
	2	4	22.50
	3	4	9.38
	4	4	6.38
	5	4	9.62
	6	4	8.62
Total		24	

Test Statistics^{a,b}

	kadar_MDA
Chi-Square	16.539
df	5
Asymp. Sig.	.005

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
perlakuan

2. Mann-Whitney Test K(-) dengan P1

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	1.3281E3	88.31698	1221.50	1474.00
perlakuan	8	1.5000	.53452	1.00	2.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	1	4	2.50	10.00
	2	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

3. Mann-Whitney Test K (-) dengan P2

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	1.0534E3	333.80317	504.00	1304.00
perlakuan	8	2.0000	1.06904	1.00	3.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	1	4	6.50	26.00
	3	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

4. Mann-Whitney Test K(-) dengan P3**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	1.0199E3	336.39618	484.00	1304.00
perlakuan	8	2.5000	1.60357	1.00	4.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	1	4	6.50	26.00
	4	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

5. Mann-Whitney Test K(-) dengan P4

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	1.0565E3	334.41847	514.00	1304.00
perlakuan	8	3.0000	2.13809	1.00	5.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	1	4	6.50	26.00
	5	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

6. Mann-Whitney Test K (-) dengan K (+)

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	1.0496E3	332.10032	479.00	1304.00
perlakuan	8	3.5000	2.67261	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	1	4	6.50	26.00
	6	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

7. Mann-Whitney Test P1 dengan P2**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	1.1149E3	384.86068	504.00	1474.00
perlakuan	8	2.5000	.53452	2.00	3.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	2	4	6.50	26.00
	3	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

8. Mann-Whitney Test P1 dengan P3

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	1.0815E3	393.14210	484.00	1474.00
perlakuan	8	3.0000	1.06904	2.00	4.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	2	4	6.50	26.00
	4	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

9. Mann-Whitney Test P1 dengan P4

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	1.1181E3	384.82356	514.00	1474.00
perlakuan	8	3.5000	1.60357	2.00	5.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	2	4	6.50	26.00
	5	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

10. Mann-Whitney Test P1 dengan K(+)**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	1.1112E3	384.07225	479.00	1474.00
perlakuan	8	4.0000	2.13809	2.00	6.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	2	4	6.50	26.00
	6	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

11. Mann-Whitney Test P2 dengan P3

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	8.0681E2	321.52660	484.00	1196.50
perlakuan	8	3.5000	.53452	3.00	4.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	3	4	5.25	21.00
	4	4	3.75	15.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.866
Asymp. Sig. (2-tailed)	.386
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

12. Mann-Whitney Test P2 dengan P4

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	8.4338E2	346.21357	504.00	1196.50
perlakuan	8	4.0000	1.06904	3.00	5.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	3	4	4.50	18.00
	5	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

13. Mann-Whitney Test P2 dengan K(+)**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	8.3650E2	339.07174	479.00	1196.50
perlakuan	8	4.5000	1.60357	3.00	6.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	3	4	4.62	18.50
	6	4	4.38	17.50
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	7.500
Wilcoxon W	17.500
Z	-.145
Asymp. Sig. (2-tailed)	.885
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.886 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

14. Mann-Whitney Test P3 dengan P4

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	8.0994E2	324.88717	484.00	1186.50
perlakuan	8	4.5000	.53452	4.00	5.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	4	4	3.62	14.50
	5	4	5.38	21.50
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	14.500
Z	-1.016
Asymp. Sig. (2-tailed)	.309
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

15. Mann-Whitney Test P3 dengan K (+)

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	8.0306E2	316.43646	479.00	1164.00
perlakuan	8	5.0000	1.06904	4.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	4	4	4.00	16.00
	6	4	5.00	20.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.577
Asymp. Sig. (2-tailed)	.564
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

16. Mann-Whitney Test P4 dengan K (+)**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kadar_MDA	8	8.3962E2	341.95016	479.00	1186.50
perlakuan	8	5.5000	.53452	5.00	6.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar_MDA	5	4	4.75	19.00
	6	4	4.25	17.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Kadar_MDA
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-.289
Asymp. Sig. (2-tailed)	.773
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.886 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Lampiran 5: Penentuan dan Perhitungan Dosis

1. Dosis Ekstrak Etanol 80% Biji Jintan Hitam Indonesia

Penentuan dosis ekstrak etanol biji jintan hitam Indonesia untuk tikus adalah sebagai berikut:

Misalnya berat badan manusia = 70 Kg, maka dosis tikus adalah:

$$\begin{aligned} \text{Dosis 1} &= 24 \text{ mg/Kg BB} \times 70 \text{ kg} \times 0,018 = 30,24 \text{ mg/200 g BB} \\ &= 0,1512 \text{ mg/g BB} \end{aligned}$$

0,018 diperoleh dari tabel perbandingan luas permukaan antar manusia dengan berat badan 70 kg dan tikus dengan berat badan 200 g.

$$\begin{aligned} \text{Dosis 2} &= 48 \text{ mg/Kg BB} \times 70 \text{ kg} \times 0,018 = 60,48 \text{ mg/200 g BB} \\ &= 0,3024 \text{ mg/g BB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis 3} &= 72 \text{ mg/Kg BB} \times 70 \text{ kg} \times 0,018 = 90,72 \text{ mg/200 g BB} \\ &= 0,4536 \text{ mg/g BB} \end{aligned}$$

2. Dosis Metformin

Dosis Metformin untuk manusia adalah 500 mg/Kg BB

$$\text{Maka: } 500 \div 70 \text{ mg/Kg} \times 70 \text{ Kg} = 500 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis untuk tikus} = 500 \text{ mg} \times 0,018$$

$$= 9 \text{ mg/200 g BB}$$

$$= 0,045 \text{ mg/g BB}$$

Jumlah Metformin yang dibutuhkan = Dosis x jumlah tikus

$$= 3,15 \text{ mg/ tikus} \times 24$$

$$= 75,6 \text{ mg}$$

3. STZ

$$\text{Dosis pemberian STZ} = 30 \text{ mg/kgBB}$$

$$\text{Dosis tiap tikus} = (\text{BB tikus} \div 1000\text{gr}) \times 30 \text{ mg/kgBB}$$

$$\text{Dosis injeksi tiap tikus} = (\text{dosis tiap tikus} \div \text{dosis seluruh tikus}) \times 0,5 \text{ cc}$$

4. Ekstrak etanol 80% biji jintan hitam

$$\text{Rumus} = \text{Dosis} \times \text{berat badan mencit}$$

$$= \text{Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan} \times \text{dosis} \times 28 \text{ hari}$$

Keterangan: Berat badan mencit = 200 g

Jumlah sampel tiap kelompok = 4 ekor

Sehingga perhitungan tiap dosis adalah:

$$\text{Dosis 1} = 0,1512 \text{ mg/g BB} \times 200 \text{ g} = 30,24 \text{ mg}$$

$$= 4 \times 30,24 \text{ mg/ml} \times 28 = 3.386,88 \text{ mg/70ml}^2$$

70 ml adalah jumlah pengulangan x jumlah hari terapi x 2,5 ml = 4 x 28 x 2,5 ml = 70 ml

Maka, ekstrak ditimbang sebanyak 3.386,88 mg dan dilarutkan ke dalam 70 ml CMC-Na 0,5%

$$\text{Dosis 2} = 0,3024 \text{ mg/g BB} \times 200 \text{ g} = 60,48 \text{ mg}$$

$$= 4 \times 60,48/\text{ml} \times 28 = 6.773,76 \text{ mg/70 ml}$$

Maka, ekstrak ditimbang sebanyak 6.773,76 mg dan dilarutkan ke dalam 70 ml CMC-Na 0,5%

$$\text{Dosis 3} = 0,4536 \text{ mg/g BB} \times 200 \text{ g} = 90,72 \text{ mg}$$

$$= 4 \times 90,72 \text{ mg/ml} \times 28 = 10.160,64 \text{ mg/70 ml}$$

Maka, ekstrak ditimbang sebanyak 10.160,64 mg dan dilarutkan ke dalam 70 ml CMC-Na 0,5%

Sehingga total ekstrak biji jintan hitam yang dibutuhkan adalah 20.321,28 mg = 20,32128 g. Dan total CMC-Na 0,5% yang dibutuhkan adalah 210 ml.

Lampiran 6: Dokumentasi Penelitian



Biji Jintan Hitam
(*Nigella sativa* L.)
Indonesia



Lemak



Streptozotocin (STZ)



Proses Penimbangan
Hewan Coba



Proses Ekstaksi
Biji Jintan Hitam
Indonesia



Ekstrak Jintan dan
Metformin



Tes Kadar Gula Darah



HFD



Injeksi Intraperitoneal
Streptozotocin (STZ)



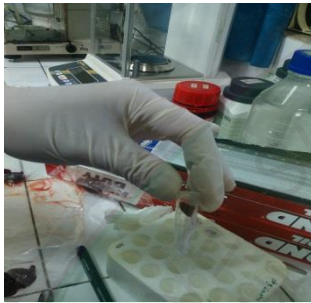
KGDP



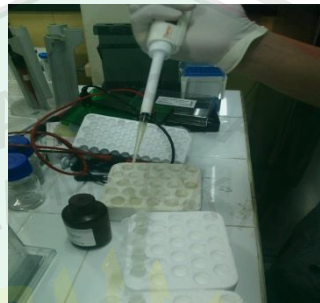
Proses Terapi Ekstrak
Etanol 80% Biji Jintan
Hitam Indonesia



Pengambilan Organ
Hepar



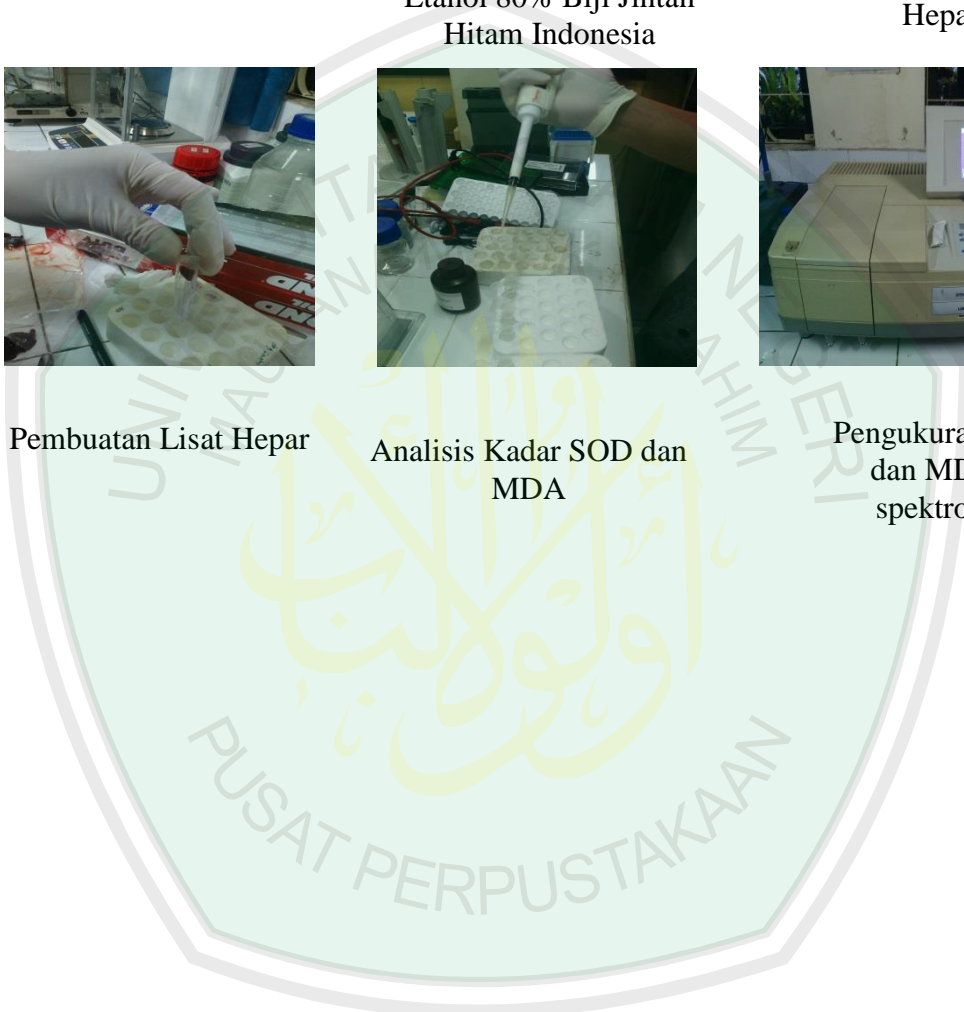
Pembuatan Lisat Hepar



Analisis Kadar SOD dan
MDA



Pengukuran kadar SOD
dan MDA dengan
spektrofotometer





KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Gajayana No.50 Malang (0341) 558933 Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Amalia Rizka Diana
NIM : 12620045
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 80% Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia Terhadap Kadar SOD dan MDA Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Melitus Tipe 2
Pembimbing : Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si

No.	Tanggal	Hal	Tanda Tangan
1.	2 Maret 2016	Konsultasi Judul	1.
2.	7 Maret 2016	Konsultasi Bab I	2.
3.	10 Maret 2016	Revisi Bab I	3.
4.	14 Maret 2016	Revisi Bab I, Konsultasi Bab III	4.
5.	17 Maret 2016	Konsultasi Bab II, dan III	5.
6.	21 Maret 2016	Revisi Bab II dan III	6.
7.	24 Maret 2016	Revisi Bab I, II, dan III	7.
8.	28 Maret 2016	ACC Bab I, II, dan III	8.
9.	18 Mei 2016	Konsultasi Data	9.
10.	25 Mei 2016	Revisi Data	10.
11.	30 Mei 2016	Konsultasi IV	11.
12.	06 Juni 2016	Revisi Bab IV	12.
13.	09 Juni 2016	Revisi Bab IV dan V	13.
14.	13 Juni 2016	ACC Keseluruhan	14.
15.	29 Juni 2016	Revisi Keseluruhan Hasil Sidang	15.

Malang, 01 Juli 2016
Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Gajayana No.50 Malang (0341) 558933 Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Amalia Rizka, Diana
NIM : 12620045
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 80% Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Indonesia Terhadap Kadar SOD dan MDA Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Melitus Tipe 2
Pembimbing : Umayyatus Syarifah, M.A

No.	Tanggal	Hal	Tanda Tangan
1	7 Maret 2016	Konsultasi Bab 1 Agama	1.
2	14 Maret 2016	Konsultasi Bab 1 dan 2 Agama	2.
3	21 Maret 2016	Revisi Bab 1 dan 2 Agama	3.
4	30 Mei 2016	Konsultasi Bab IV Agama	4.
5	09 Juni 2016	Revisi Bab IV Agama	5.
6	15 Juni 2016	ACC Keseluruhan Agama	6.

Malang, 01 Juli 2016
Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002