



**PENGARUH EKSTRAK BIJI *Nigella sativa*
(JINTAN HITAM) TERHADAP KADAR SERUM ALANIN
AMINOTRANSFERASE PADA TIKUS WISTAR YANG DIBERI
METOTREKSAT**

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh Program
Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Disusun oleh :

YOSSI NUR RAKHMAH

G2A 003 174

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2007

HALAMAN PENGESAHAN

Karya Tulis Ilmiah

Pengaruh Ekstrak Biji *Nigella sativa* (Jintan Hitam) terhadap Kadar Serum Alanin
Aminotransferase pada Tikus Wistar yang Diberi Metotreksat

Telah diseminarkan dan dipertahankan dihadapan tim penguji Karya Tulis Ilmiah
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal 24 Juli 2007 dan
telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan.

Tim Penguji

Ketua Penguji

Prof.dr.M.Sidhartani Z,M.Sc.Sp.A(K)
NIP.130.420.788

Penguji

Drs.Suhardjono,Apt.M.Si
NIP.130.037.451

Pembimbing

dr. Parno Wijoyo Sp.FK
NIP.130.354.873

The Effect of Nigella sativa (Black cumin) Seeds Extract on the Alanine Aminotransferase Serum Level in Wistar Rats Given Methotrexate

Yossi Nur Rakhmah*, Parno Wijoyo**

ABSTRACT

Background: Methotrexate, an antimetabolit, causes severe side effect such as hepatotoxicity and fibrosis. Alanin aminotransferase (ALT) is a relatively specific indicator of acute liver cell damage. Nigella sativa seeds extract had antioxidant effect. The aim of this study was to prove the ability of Nigella sativa in preventing increase of ALT induced by methotrexate.

Method: This study was a randomized controlled trial. The sample were 30 male wistar rats, aged 12-16 weeks, 180-200 grams in weight, divided randomly into 5 groups (K1, K2, P1, P2 and P3). K1 received standard diet only. K2 received 0,54 mg methotrexate orally from 16th-20th day. P1 received 0,54 mg methotrexate orally from 16th- 20th day and 0,008 ml Nigella sativa twice a day from 8th - 21th day. P2 received 0,54 mg methotrexate orally from 16th-20th day and Nigella sativa 0,08 ml twice a day from 8th-21th day. P3 received 0,54 mg methotrexate orally from 16th-20th day and 0,8 ml Nigella sativa twice a day from 8th-21th day . On the 22nd day blood sample was taken from wistar rats' retroorbital veins to measure the ALT level.

Result: The study showed that ALT level among the four groups are not significantly different ($p=0,196$).

Conclusion: Nigella sativa seeds extract at the 0,008 ml, 0,08 ml, and 0,8 ml doses are not proven to prevent mehtotreksat induced ALT level elevation, because the administration of methotrexate did not elevate ALT level.

Keyword: Nigella sativa, ALT, methotrexate.

* Medical student of Diponegoro University

** Lecture of Pharmacology Departement of Medical Faculty of Diponegoro University

Pengaruh Ekstrak Biji *Nigella sativa* (Jintan Hitam) Terhadap Kadar Serum Alanin Aminotransferase Pada Tikus Wistar Yang Diberi Metotreksat

Yossi Nur Rakhmah*, Parno Wijoyo**

ABSTRAK

Latar belakang: Metotreksat, antimetabolit, memiliki efek samping hepatotoksik dan fibrosis hepar. ALT merupakan indikator yang relatif spesifik pada kerusakan hepar akut. *Nigella sativa* berperan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak biji *Nigella sativa* dalam mencegah kenaikan kadar ALT akibat metotreksat.

Bahan dan metode: Penelitian ini menggunakan desain *randomized controlled trial*. Sampel penelitian adalah 30 ekor tikus wistar, berusia 12-16 minggu, berat badan 180-200 gram, dibagi secara acak menjadi 5 kelompok (K1, K2, P1, P2, dan P3). K1 hanya mendapatkan pakan standar. K2 mendapatkan 0,54 mg metotreksat peroral pada hari ke-16-20. P1 mendapatkan 0,54 mg metotreksat hari ke-16-20 dan *Nigella sativa* sehari dua kali 0,008 ml pada hari ke-8-21. P2 mendapatkan 0,54 mg hari ke-16-20 dan *Nigella sativa* sehari dua kali 0,08 ml pada hari ke-8-21. P3 mendapatkan 0,54 mg hari ke-16-20 dan *Nigella sativa* sehari dua kali 0,8 ml pada hari ke-8-21. Pada hari ke-22 dilakukan pengambilan sampel darah secara retroorbita untuk pemeriksaan kadar ALT.

Hasil : Penelitian ini menunjukkan tidak ada perbedaan kadar ALT yang bermakna ($p=0,196$) pada empat kelompok perlakuan.

Kesimpulan : Pemberian ekstrak biji *Nigella sativa* 0,008 ml, 0,08 ml, 0,8 ml tidak terbukti mencegah kenaikan kadar ALT akibat pemberian metotreksat 0,54 mg, karena metotreksat pada dosis tersebut tidak meningkatkan kadar ALT.

Kata Kunci: *Nigella sativa*, ALT, metotreksat.

* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

** Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyebab kematian kedua setelah kardiovaskuler. Obat anti kanker memiliki indeks terapi sempit. Metotreksat termasuk obat anti kanker golongan antimetabolit.¹

Metotreksat banyak digunakan dalam pengobatan kanker, psoriasis berat dan artritis reumatoid. Pada dosis tinggi sebagian dimetabolisme oleh hati menjadi 7-*hydroxymethotrexate*. Metabolit ini dapat merubah permeabilitas membran hepatosit sehingga kadar ALT meningkat. ALT sering dijadikan petanda adanya kerusakan hepatoseluler akut. Enzim ini banyak terdapat dalam hati dan dalam jumlah sedikit terdapat dalam ginjal, jantung dan otot rangka.²⁻¹²

Nigella sativa merupakan tanaman yang dapat melindungi hati dari toksisitas obat. Ekstrak *fixed oil* biji *Nigella sativa* memberikan perlindungan pada hepar yang diberikan *cisplatin*, *CCl₄*, dan *D-galactosamine*.¹³⁻²⁴

Berdasarkan uraian diatas dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut: Apakah ekstrak biji *Nigella sativa* dapat mencegah kenaikan kadar alanin amino transferase pada tikus wistar yang diberikan metotreksat ?

Penelitian ini diharapkan dapat membuktikan bahwa ekstrak biji *Nigella sativa* dapat mencegah kenaikan kadar alanin amino transferase akibat metotreksat.

MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan selama 22 hari di laboratorium Parasit Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan laboratorium Kimia Klinik Balai Laboratorium Kesehatan Semarang. Penelitian ini menggunakan desain *randomized controlled trial*.

Populasi penelitian adalah tikus wistar dengan kriteria inklusi jantan, usia 12-16 minggu, berat badan 180-200 gram dan kriteria eksklusi tikus wistar sakit sebelum perlakuan dan terdapat kelainan anatomi. Kriteria drop out tikus wistar mati selama adaptasi atau perlakuan.

Jumlah sampel yang digunakan adalah 30 yang terbagi secara acak dalam 5 kelompok yaitu: Kontrol (K1), kontrol 2 (K2), Perlakuan 1 (P1), Perlakuan 2 (P2), dan Perlakuan 3 (P3). Tikus tersebut diadaptasikan selama 1 minggu.

Ekstrak *fixed oil* biji *Nigella sativa* didapat dari laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. Dalam penelitian ini digunakan dosis 0,008 ml, 0,08 ml, 0,8 ml. Dosis metotreksat yang digunakan adalah 0,54 mg.

K1 hanya diberi pakan standar selama perlakuan. K2 diberi metotreksat peroral (0,54mg) pada hari ke-16-20. P1, P2 dan P3 diberikan ekstrak biji *Nigella sativa* sehari dua kali semenjak hari ke-8-21 dengan dosis 0,008 ml untuk P1, 0,08 ml untuk P2, dan 0,8 ml untuk P3. Pada hari ke-16-20 P1, P2 dan P3 diberikan metotreksat peroral (0,54 mg). Pada hari ke-22 dilakukan pengambilan sampel darah dari pleksus vena retroorbita dan dilakukan pengukuran kadar ALT menggunakan prinsip spektrofotometri dengan menggunakan alat *Stardust MC 15*.

Data yang didapat adalah data primer hasil pengukuran kadar ALT tikus wistar. Variabel bebas adalah *Nigella sativa*. Variabel tergantung adalah kadar ALT. Seluruh pengelolaan data menggunakan program *SPSS 15.0 for windows*. Untuk mengetahui sebaran data dilakukan uji *Shapiro Wilk*. Jika distribusi data normal dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova* tetapi jika tidak terdistribusi normal dilanjutkan dengan

uji non parametrik *Kruskal-Wallis*. Jika didapatkan perbedaan bermakna dilanjutkan dengan uji *posthoc*.

HASIL PENELITIAN

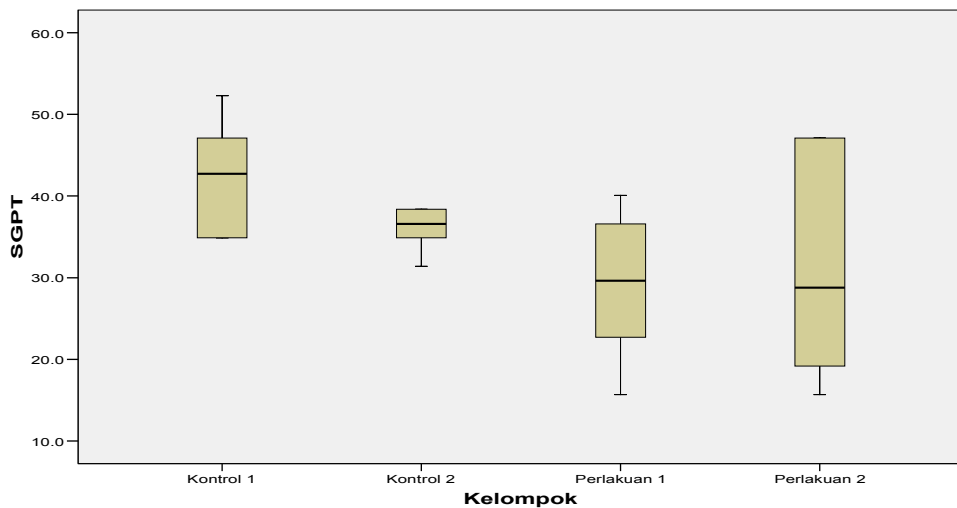
Jumlah sampel penelitian yang *drop out* adalah enam. Satu dari kelompok K2 dan lima dari kelompok P3. Hasil yang didapat pada kelompok P3 tidak dilakukan pengolahan data karena hanya satu sampel yang tersisa. Rerata pengukuran kadar ALT tikus wistar tiap kelompok ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1. Deskripsi hasil pengukuran kadar ALT

Kelompok	Rerat	Simpang
	a	baku
K1	42,45	7,026
K2	35,94	2,92
P1	29,06	9,94
P2	31,11	13,52

Kadar ALT pada kelompok K2, P1 dan P2 masih dalam batas normal jika dibandingkan dengan K1 .

Grafik 1. Box-Plot kadar ALT kelompok K1, K2, P1 dan P2



Berdasarkan uji *Shapiro Wilk*, didapatkan bahwa sebaran data pada penelitian ini adalah normal karena $p > 0,05$. Dan uji homogenitas variannya didapatkan bahwa data tersebut tidak homogen karena $p < 0,05$. Berdasarkan hal tersebut data penelitian diolah dengan uji non parametrik *Kruskall-Wallis* dan didapatkan $p = 0,196$ yang berarti tidak ada perbedaan kadar ALT yang bermakna ($p > 0,05$).

PEMBAHASAN

Metotreksat merupakan antagonis folat golongan antimetabolit. Mekanisme kerjanya menghambat reduksi asam folat menjadi tetrahidrofolat melalui pangikatan pada dihidrofolat reduktase.²⁻⁸ Pada dosis terapi metotreksat dieksresi tanpa melalui perubahan pada urin. Pada dosis tinggi sebagian dimetabolisir oleh hati menjadi metabolit toksik (*7-hydroxymethotrexate*) yang menyebabkan gangguan faal hati.^{3,5} ALT merupakan indikator yang cukup spesifik pada kerusakan akut hepatoseluler dan merupakan alat monitoring pada penggunaan metotreksat.¹³

Hasil analisis data menunjukkan tidak ada perbedaan kadar ALT yang bermakna antara kelompok perlakuan. Berdasarkan pustaka penggunaan metotreksat pada dosis 25-30 mg telah menimbulkan efek toksik pada tubuh.⁷ Pada penelitian ini menggunakan dosis 30 mg yang setelah dikonversikan pada tikus menjadi 0,54 mg karena pada penelitian sebelumnya menggunakan dosis 25 mg tidak terjadi peningkatan kadar ALT dan setelah dilakukan penelitian pendahuluan pada dosis 30 mg telah terjadi peningkatan kadar ALT. Pada K2 (kelompok yang diberi metotreksat) kadar ALT tidak lebih tinggi dibandingkan K1 (kelompok yang hanya diberikan pakan standar). Hal ini menunjukkan pemberian metotreksat 0,54 mg peroral selama 5 hari pada tikus wistar belum menimbulkan peningkatan kadar ALT atau kadarnya masih dalam batas normal. Perbedaan hasil ini dapat disebabkan oleh variasi biologis tikus wistar dan perbedaan jarak pemberian metotreksat dengan pengukuran kadar ALT. Pada penelitian pendahuluan pemberian metotreksat pada hari ke-1-5 dan pengukuran kadar ALT pada hari ke-6 sedangkan pada penelitian sebenarnya pemberian metotreksat dilakukan pada hari ke-16-20 dan pengukuran kadar ALT dilakukan pada hari ke-22. Toksisitas metotreksat dipengaruhi oleh dosis, lama dan frekuensi pemberian.^{1,3} Tidak terjadinya peningkatan kadar ALT

bisa disebabkan dosis, lama dan frekuensi pemberian metotreksat yang diberikan pada tikus wistar belum memberikan efek toksik pada hepar. Kadar serum ALT dapat rendah palsu pada keadaan defisiensi piridoksal fosfat dan uremia.^{9,13}

Kadar ALT pada kelompok P1 (diberikan metotreksat dan *Nigella sativa* 0,008 ml) dan P2 (diberikan metotreksat dan *Nigella sativa* 0,08 ml) masih dalam rentang nilai normal bila dibandingkan dengan kadar K1. Efek *Nigella sativa* dalam mencegah kenaikan kadar ALT belum terlihat karena ALT dari semua kelompok perlakuan masih dalam rentang nilai normal. Pada kelompok P3 (diberikan metotreksat dan *Nigella sativa* 0,8 ml) tidak dilakukan pengolahan data karena lima dari enam tikus mati . Tikus kelompok P3 mati pada hari ke-21 atau sehari sebelum pengambilan darah. Pada kelompok ini tikus terlihat lebih kurus dibandingkan kelompok lain dan tampak perdarahan pada mukosa hidung pada hari ke-20 . Diperkirakan penyebab kematian adalah efek samping dari metotreksat dan *Nigella sativa*. Metotreksat dapat menyebabkan anoreksia, kehilangan berat badan yang progresif, leukopeni dan trombositopeni.¹ *Nigella sativa* memiliki kandungan nutrisi yang tinggi. Ekstrak minyak *Nigella sativa* dan empat zat utamanya (*thymoquinone*, *carvacrol*, *t-anethol* dan *4-terpineol*) memiliki efek antioksidan namun pada penggunaan dosis tinggi memacu pembentukan radikal bebas. Efek samping lain yang dapat timbul pada penggunaan dosis tinggi antara lain trombositopeni, leukopeni, penurunan berat badan, penurunan glukosa, kolesterol dan trigliserid.^{15-17,23-26}

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak biji *Nigella sativa* 0,008ml, 0,08ml, 0,8ml tidak terbukti mencegah kenaikan kadar ALT akibat pemberian metotreksat 0,54mg, karena metotreksat pada dosis tersebut tidak meningkatkan kadar ALT.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan dosis metotreksat yang telah menimbulkan peningkatan kadar ALT pada tikus wistar.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mencari dosis *Nigella sativa* yang dapat mengurangi kerusakan hati akut akibat pemberian metotreksat secara bermakna tetapi belum mencapai dosis toksik dengan jumlah sampel yang lebih besar dan rentang antar dosis yang lebih pendek.
3. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan rancangan penelitian *pre and post test control group design*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji dan Syukur kepada ALLAH atas rahmat-Nya penelitian karya ilmiah ini dapat diselesaikan. Peneliti juga mengucapkan terimakasih kepada dr. Parno Wijoyo Sp.FK selaku dosen pembimbing, dr. Tri Nur Kristina, DMM,M.kes,PH.D atas revisi beliau terhadap proposal penelitian, Prof.dr.M.sidhartani Z,M.Sc,Sp.Ak, Drs.Suhardjono,Apt.Msi, staf Laboratorium Parasitologi, staf Laboratorium Dinas

Kesehatan , staf Laboratorium Biologi UNNES, orangtua dan semua pihak yang telah membantu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nafrialdi, Ganiswara S. Antikanker. In: Ganiswara S, editor. Farmakologi dan terapi. Edisi ke-4. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2003; p. 687-701.
2. Amirudin R. Fisiologi dan pemeriksaan biokimia hati. In: Sudoyo W, Setiyohadi B, Alwi I, Setiati S dkk, editor. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Edisi ke-4. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2006; p. 417-427.
3. Bayupurnama P. Hepatotoksitas imbas obat. In: Sudoyo W, Setiyohadi B, Alwi I, Setiati S dkk, editor. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Edisi ke-4. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2006; p. 473-476.
4. Salmon E, Sartorelli A. Kemoterpi kanker. In: Katzung BG, editor. Farmakologi dasar dan klinik. Edisi ke-8. Jakarta: Salemba Medika, 2004; p. 297-315.
5. Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P. Goodman and gilman's the pharmacological basis of therapeutics. Edisi ke-11. NewYork: McGraw-Hill, 2006; p. 1335-1338, 1693-1694.
6. Peter J. Methotrexate toxicity : mechanism(s), symptoms, and treatment. EAPCCT [serial online]. 2003 May [cited 2006 dec 1]. Availale from: http://www.toxi.ch/eng/congres_1053524614_14873.html.
7. Rung HP, Dale M, Reiter JM, Moore PK. Pharmacology. Edisi ke-5. USA: Elsevier Churchill livingstone, 2003; p. 701-702.
8. Kirana R, Tjay TH. Obat-obat penting, khasiat, penggunaan dan efek-efek sampingnya. Edisi ke-5. Jakarta: PT Elek Media Komputindo kelompok Gramedia, 2002; p. 208.
9. Smith C, Reynard AM. Text book of pharmacology. USA: WB Saunder Company, 1992; p. 97, 945, 979.
10. Guyton AC, Hall J.. Buku ajar fisiologi kedokteran. Edisi ke-9. Jakarta: EGC, 1997; p. 1106-1126.

11. Dienstag JL, Isselbacher KJ . Penyakit hati dan saluran empedu. In: Isselbacher KJ, editor. Harisson prinsip-prinsip ilmu penyakit dalam. Edisi ke-13. Jakarta: EGC, 2000; p. 1615-1658.
12. Podolsky DK, Isselbacher KJ. Tes diagnosis pada penyakit hati. In: Isselbacher KJ, editor. Harison prinsip-prinsip ilmu penyakit dalam. Edisi ke-13. Jakarta: EGC, 1995; p. 1623-26.
13. Widman FK. Tinjauan klinis atas hasil pemeriksaan laboratorium. Edisi ke-9. Jakarta: EGC, 1995; p. 360-383.
14. Hendrik. Habbatus sauda dalam menangani berbagai penyakit dan kesehatan tubuh. Surakarta: Pustaka Umat, 2005; p. 77-152.
15. Randhawa MA, Al-Ghamidi M. A review of the pharmaco-therapeutic effects of *Nigella sativa*. Pakistan Journal [serial online]. 2002 [cited 2006 Nov 25]. Available from: [http:// www.prmc.gov.pk/ nigella.html](http://www.prmc.gov.pk/nigella.html).
16. Mohiden S, Ilavasarn R, Sasikala E, Kumaran RT. Hepatoprotective activity of *Nigella sativa* linn. Indian journal Pharmaceutical Science [serial online]. 2003 [cited 2006 Nov 25]; 65(5):[1 screen]. Available from: [http:// www.ijipsoniche.com/article.html](http://www.ijipsoniche.com/article.html).
17. Mojab F, Javinia K, Nickavar B. Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa*. Z.Naturforsch [serial online]. 2003 March [cited 2006 Nov 25]. Available from: [http:// www.znaturforsch.com/ac/v58c/58c/58c0692.html](http://www.znaturforsch.com/ac/v58c/58c/58c0692.html).
18. Kanter M, Coskun O, Budancamanak M. Hepatoprotective effect of *Nigella sativa* L & *Urtica dioica* L on lipid peroxidation, antioxidant enzyme system and liver enzymes in CCL4 treated rats. PubMed [serial online]. 2005 Nov [cited 2006 Dec 13]. Available from: [http:// www.pubmed.com/article.html](http://www.pubmed.com/article.html).
19. Al-Ghomidi M. Protective effect of *Nigella sativa* seeds against CCL₄ induced liver damage. Planta Med [serial online]. 2003 [cited 2006 Dec 12]; 31(5):[8 screen]. Available from: [http:// ct.inist.fr/article.html](http://ct.inist.fr/article.html).
20. Mansour MA, Ginawi OT, El-hadih T, El-Khatib AS. Effect of volatile oil constituents of *Nigella sativa* on CCL₄ induced hepatotoxicity in mice: evidence for antioxidant effect of thymoquinone. Res Commun Mol pathol pharmacol [serial

- online]. 2001 [cited 2006 Dec 12]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ntrez/query.fcgi>.
21. Lhan N, Dilara. Protective effect of *Nigella sativa* seeds on CCL₄ induced hepatotoxicity. The American Journal of Chinese Medicine [serial online] 2005 [cited 2006 Dec 12]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ntrez/query.fcgi>.
 22. Anonym. *Nigella sativa*. [serial online]. 2005 Jan [cited 2006 Dec 12]. Available from: [http://en.wikipedia.org/Nigella sativa](http://en.wikipedia.org/Nigella_sativa).
 23. Takrun H, Nevin L, Dameh. Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa l*). PubMed [serial online]. 1998 [cited 2006 Dec 12]. Available from: <http://www3.interscience.wiley.com/html>.
 24. Ali BH, Blunen G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. PubMed [serial online]. 2004 [cited 2006 Dec 8]. Available from: URL: <http://www3.interscience.wiley.com/html>.
 25. Mashadiah V, Rakhsandeh, Omidi A. An investigation on LD50 and subacute hepatic toxicity of *Nigella sativa* seed extracts in mice. Pharmazie [serial online]. 2005 July [cited 2006 Dec 8]; 60(7):[3 screen]. Available from: <http://www.otyponlink.com/html>.
 26. Zaoui A, Cherrah Y, Mahassini N. Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. Phytomedicine Journal [serial online]. 2002 Jan [cited 2006 Jun12]; 9(1):[6 screen]. Available from: [http://int/Ingenta connect acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil./htm](http://int/Ingenta_connect_acute_and_chronic_toxicity_of_Nigella_sativa_fixed_oil/htm).