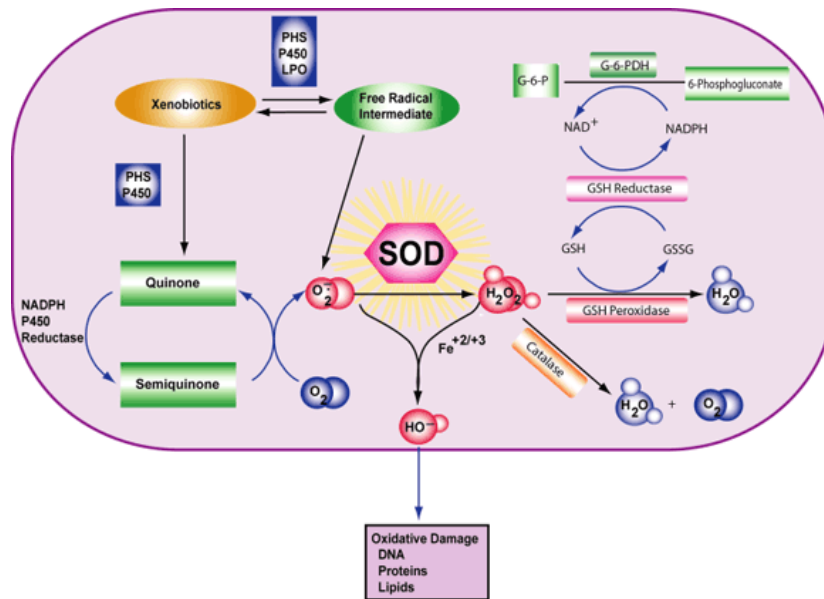


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Superoxide Dismutase



Gambar 1. *Superoxide Dismutase*

Superoxide Dismutase (SOD) adalah *metalloenzymes* yang mengandung atom tembaga, seng atau besi yang dibentuk dalam sitosol dan yang mengandung mangan dibentuk didalam matrik mitokondria, cara kerjanya dengan mengkatalisis dismutasi pada *superoxide* menjadi *hydrogen peroxide* dan oksigen, *hydrogen peroxide* mudah untuk berdifusi melewati membran plasma.¹⁸ Selanjutnya *hydrogen peroxide* diubah menjadi molekul air oleh enzim katalase dan glutathion peroksidase. SOD merupakan enzim antioksidan yang berefek sangat kuat dan merupakan pertahanan tubuh pertama dalam menghadapi radikal bebas. Keberadaan SOD dapat ditemukan di otak, hati, sel darah merah, ginjal, tiroid, testis, otot jantung, mukosa lambung,

kelenjar pituitari, pankreas dan paru. SOD ditemukan pada seluruh makhluk hidup yang penting bagi perlindungan sistem aerobik untuk mencegah keracunan oksigen (dan derivat radikal bebas dalam oksigen). Aktivitas SOD dapat dijadikan acuan pengukuran stress oksidatif dalam tubuh.¹⁹ Kadar SOD juga dipengaruhi oleh usia jika semakin tua maka kadar SOD semakin menurun, selain itu juga dikendalikan oleh faktor genetic.

2.1.1 Jenis SOD

1) Cu, Zn SOD

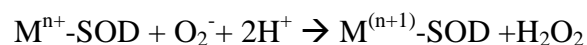
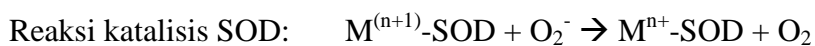
Copper Zinc Superoxide dismutase adalah protein dimerik dengan dua subunit yang identik diikat secara non kovalen. Cu, Zn SOD berperan penting sebagai sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas. Terletak dalam sitoplasma dan organel dengan ukuran 32.000 kDA.

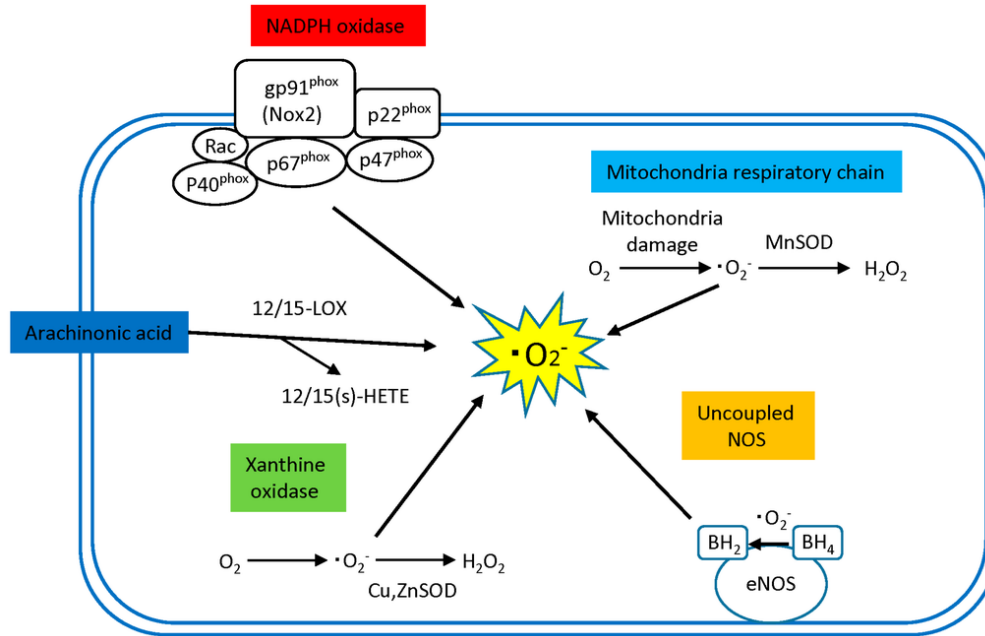
2) Mn SOD

Bekerja sebagai antioksidan utama dalam menghambat kerja superoxide dismutase di dalam mitokondria. Mn SOD berukuran 40.000 kDA yang terdiri dari 4 subunit dengan atom mangan. Tipe ini disintesis terbanyak di cairan ekstraseluler oleh beberapa sel saja, contohnya sel endotel dan fibroblast.

3) Fe SOD

Enzim yang banyak ditemukan pada prokariot, tumbuhan dan bakteri. Terdiri dari tiga ion besi yang berikatan dengan tiga histidin, satu aspartat, dan satu molekul air.





Gambar 2. Tempat kerja SOD

2.2 Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan tanaman tradisional yang sudah dikenal sejak seratus tahun lalu.^{4,20,21} Tanaman ini dibudidayakan di beberapa Negara bagian Mediterania, Asia Tengah, Asia Tenggara, Asia Barat, dan Eropa Timur.²² Biji *Nigella sativa* biasanya digunakan sebagai bumbu atau perasa dan tanaman obat tradisional.²¹ Pakistan, India, China, Saudi Arabia, dan Negara wilayah Mediterania memperdalam penggunaan tanaman ini untuk meningkatkan kesehatan dan melawan penyakit.²² *Nigella sativa* dikenal dengan berbagai sebutan seperti *sannouj*, *habbat el Baraka* atau *habbah saouda*, *Kalonji*, *Black cumin*.²³ Beberapa tahun terakhir ini, adanya peningkatan minat dan kebutuhan penggunaan tanaman herbal sebagai antioksidan.

4,24

2.2.1 Taksonomi Tanaman²⁵

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom : *Tracheophyta*

Superdivisi : *Spermatophyta*

Divisi : *Magnoliophyta*

Klas : *Magnoliopsida*

Subklas : *Magnoliidae*

Ordo : *Ranunculales*

Famili : *Ranunculaceae*

Genus : *Nigella*

Spesies : *Nigella sativa L.*

Nama daerah ²⁵:

Jawa : Jinten ireng

Sumatera : Jinten item

Inggris : *Black cumin*

Pakistan : *Khondria*

India : *Kalonji Azmut, Gurat, Aof*

Arab Saudi : *All Habbah Al Barakah, Al, Habbatus Sawda', Al Kamoun al Aswad*

2.2.2 Morfologi Tanaman

Nigella sativa merupakan tanaman perdu dengan tinggi 35-50 cm, berbatang tegak, berkayu dan berbentuk bulat meniskus. Tanaman ini berbunga pada bulan Juli, pada bulan September bijinya matang.²⁶

1) Daun

Daunya berbentuk bulat telur berujung lancip. Pada permukaan daun terdapat bulu halus.

Daunnya tunggal atau majemuk dengan posisi tersebar atau berhadapan.

2) Bunga

Bunga berwarna putih, kuning, merah muda, biru pucat atau ungu pucat dan memiliki mahkota bunga sebanyak 5-10.⁴

3) Biji

Biji keras, berwarna hitam, berbentuk limas ganda dengan kedua ujung runcing, limas yang lain lebih pendek, bersudut 3 sampai 4, panjang 1,5mm sampai 2mm, lebar kurang lebih 1mm; permukaan luar berwarna hitam kecoklatan, hitam kelabu sampai hitam, berbintik – bintik, kasar, kerkerut.

4) Akar

Akar tunggang, berwarna coklat.



Gambar 3. Morfologi jintan hitam

2.2.3 Komposisi Jintan Hitam

Nigella sativa mengandung nutrisi monosakarida yang dengan mudah diserap oleh tubuh sebagai sumber energi, juga mengandung *non-starch* polisakarida yang berfungsi sebagai sumber serat, *fixed oil*, *essensial oil*, protein, alkaloid, dan saponin²⁷.

Di dalam biji jintan hitam, *essensial oil*, *thymoquinone* menjadi komponen kandungan yang utama, *p-cymene*, *a-pinene*, *dithymoquinone*, *carcrol* dan *thymohidroquinone*. Untuk mengekstraksi minyak esensial, biji dihancurkan kemudian diekstraksi dengan pelarut organik. Pelarut kemudian disisihkan dan residu berwarna kecoklatan disuling dengan uap (stream distillation).²⁸ *Nigella sativa* juga mengandung beberapa vitamin, yaitu betakaroten, B1, B2, B6, C, dan Niasin.

Tabel 2. Komposisi biji jintan hitam

Komposisi	%
Minyak	31-35,9
Karbohidrat	16-19,9
Protein	33-34
Serat	4,5-6,5
Abu	3,7-7
Saponin	0,013
Air	5-7

Tabel 3. Kandungan minyak tetap jintan hitam

Asam lemak	%
Asam laurat	0,6
Asam miristat	0,5
Asam palmitat	12,5
Asam stearat	3,4
Asam oleat	23,4
Asam linoleat	55,6
Asam linolenat	0,4

Asam eikosadinat	3,1
------------------	-----

Tabel 4. Kandungan minyak esensial jintan hitam

Minyak esensial	%
a-thujene	10,03
p-cymene	36,20
Limonene	1,76
Terpinen-4-ol	2,37
Thymoquinone	11,27
Carvacrol	2,12
Longifolene	6.32

2.2.4 Zat aktif Jintan hitam yang memiliki efek antioksidan

Thymoquinone adalah komponen utama zat aktif *Nigella sativa*. Selain itu, yang termasuk zat aktif jintan hitam adalah *p-cymene*, *a-pinene*, *dithymoquine*, dan *thymohydroquinone*.²⁹

Efek zat aktif jintan hitam:

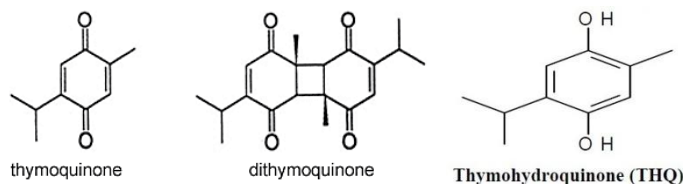
- 1) *Thymoquinone* [*2-isopropyl-5-methylbenzo-1,4-quinone*]
 - a. Perlindungan terhadap stress oksidatif^{30,31}
 - b. Aktivitas anti-inflamasi^{32,30}
 - c. Inhibisi lipid perosidasi³³
 - d. Free radical scavenging property³³⁻³⁴

2) *Dithymoquinone*

Scavenger radikal bebas

3) *Hidrothymoquinone*

Scavenger radikal bebas



Gambar 4. Struktur molekul zat aktif jintan hitam

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh El Shenawy, 2008, kandungan *thymoquinone* pada minyak esensial dapat digunakan sebagai hepatoprotektif dan anti-inflamasi pada tikus dengan pemberian *schistosoma sp.*³⁰ Berdasarkan penelitian Ayoub 2011, *thymoquinone* pada *Nigella sativa* sebagai antiinflamasi terhadap anak bebek yang diberi aflaktosin.³² Berdasarkan penelitian yang dilakukan Burits³⁵, *thymoquinone*, *carvacrol*, *t-anethol* berfungsi sebagai OH *free radical scavenging property* pada peroksidasi lipid non enzimatis dan degradasi *deoxyribose* dengan metode kromatografi lapis tipis dua dimensi. Hal ini perkuat dalam penelitian yang dilakukan Panahi 2011 terhadap tikus dengan diabetes.³³ Berdasarkan penelitian oleh Ashraf 2011, *Thymoquinone* diyakini memiliki potensi antioksidan utama.³¹ Berdasarkan penilitian oleh Badari 2003, *thymoquinone* juga sebagai *free radical scavenging property*.³⁴ Penelitian yang dilakukan Hasnah Haron, dkk untuk menganalisis fisikokimia dan aktivitas antioksidan, dengan pemeriksaan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) *Nigella sativa* diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan *scavenging activity*.³⁶

Biji jintan hitam diketahui memiliki komponen antioksidan.³⁴ Studi sebelumnya pada

pre-treatment thimoquinone sebagai bahan aktif minyak dari biji jintan hitam dapat melindungi organ dari kerusakan oksidatif yang diinduksi radikal bebas. Efek dari free radical scavenging dari TQ, dithymoquinone, dan thymol telah diuji beberapa ROS.³⁷ Dari hasil percobaan tersebut diketahui ketiganya memiliki antioksidan yang kuat. Thymol bekerja sebagai singlet oksigen *quencher*, TQ dan dithymoquinone bekerja mirip seperti SOD.³⁷ Pada penelitian Mansour et al,³⁸ menngungkapkan TQ dan dithymoquinone tidak hanya bekerja mirip seperti SOD tetapi juga sebagai *free radical scavenging* umum yang dapat menghambat hingga nanomolekul dan mikromolekul.

TQ memiliki beberapa aktivitas antioksidan, antara lain bekerja sebagai pembersih spesies oksigen reaktif seperti anion superoksida dan hidroksil radikal; mampu meningkatkan produksi antioksidan seperti SOD, katalase, glutation peroksida secara signifikan.³⁴

2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) diproduksi didalam tubuh makhluk hidup sebagai hasil dari metabolisme, selain itu juga dari faktor lingkungan seperti polutan udara atau asap rokok. ROS adalah atom atau molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan pada bagian terluar dari orbitnya, sehingga menjadi komponen yang tidak stabil dan sangat reaktif dan berusaha menarik dari elektron molekul yang stabil sehingga dapat merusak struktur sel seperti karbohidrat, asam nukleat, lipid, protein dan mengubah fungsi sel tersebut.¹⁸

Sumber radikal bebas:

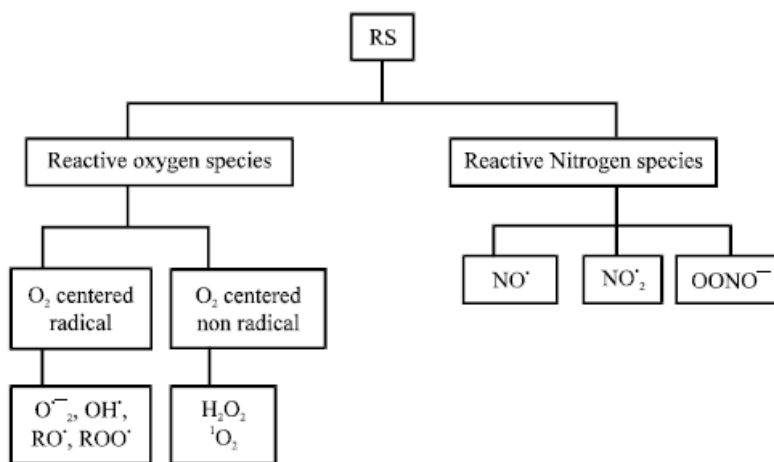
- 1) Radikal bebas dari dalam tubuh karena proses enzimatik dalam tubuh, hasil samping dari proses oksidasi atau pembakaran sel pada proses respirasi, pencernaan, metabolisme yang diproduksi dari mitokondria, membrane plasma, lisosom, reticulum

endoplasma, inti sel.

- 2) Radikal bebas dari dalam tubuh karena proses non – enzimatis dalam tubuh, reaksi oksigen dengan senyawa organik dengan cara ionisasi dan radiasi. Contohnya proses inflamasi dan iskemia.
- 3) Radikal bebas dari luar tubuh, contohnya: asap rokok, asap kendaraan, kopi, olah raga berlebih, alkohol, obat, bahan racun, radiasi sinar matahari.

Reactive species diklasifikasikan menjadi *reactive oxygen species* dan *reactive nitrogen species*. *Reactive oxygen species* dibagi menjadi *O₂ centered radical*, seperti *Superoxide anion* $O_2^{\cdot-}$, Hidroksil radikal OH^{\cdot} , Alkoksil radikal RO^{\cdot} , Peroksil radikal ROO^{\cdot} dan *O₂ centered non radical*, seperti hidrogen peroksida H_2O_2 , singlet oksigen 1O_2 . *Reactive nitrogen species*, seperti *nitric oxide* NO^{\cdot} , *nitrit dioxide* NO_2^{\cdot} , *peroxynitrit* $OONO^{\cdot}$.

Molekul yang memiliki satu atau dua elektron yang tidak berpasangan disebut radikal bebas, ketika dua radikal bebas saling berpasangan akan terbentuk non radikal.



Gambar 5. Klasifikasi radikal bebas

Radikal bebas merusak sel biasanya diawali dengan kerusakan membran, rangkaian

prosesnya sebagai berikut³⁹:

- 1) Terjadi ikatan kovalen antara membran dengan radikal bebas sehingga terjadi perubahan fungsi reseptor dan struktur.
- 2) Terjadi oksidasi pada membrane oleh radikal bebas sehingga proses transport lintas membran terganggu.
- 3) Terjadi reaksi peroksida lipid dan kolesterol membrane yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA= *Poly Unsaturated Fatty Acid*).

2.5 Stres Oksidatif

Ketidak seimbangan antara radikal bebas dengan perlindungan antioksidan. Radikal bebas yang berasal dari oksigen diklasifikasikan sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS), yaitu *superoxide* (O_2^-), *radikal hidrosil* (OH^+), radikal peroksida (H_2O_2). Adanya produksi ROS yang berlebihan menimbulkan stres oksidatif sehingga terjadi kondisi patologis. Stress oksidatif berkontribusi dalam kondisi dan penyakit patologis seperti kanker, gangguan neurologi, atherosclerosis, hipertensi, iskemik/perfusi, diabetes, acute respiratory distress syndrome, fibrosis paru idiopatik, penyakit kronik sumbatan paru, asma.¹⁸

Efek dari stress oksidatif:

- 1) DNA

ROS dapat memodifikasi DNA dengan cara melibatkan dalam degradasi basa, pemutusan rantai DNA, mutasi, deletions atau translocations dan cross-linking dengan protein. Modifikasi DNA mempunyai hubungan kuat untuk terjadinya carcinogenesis, penuaan, neurodegenerative, cardiovascular, dan autoimun diseases.

2) Lipid

ROS menginduksi terjadinya peroksidasi lipid dan mengganggu susunan membran lipid bilayer sehingga inaktivasi reseptor ikatan membran, enzim, dan meningkatkan permeabilitas jaringan.

3) Protein

ROS dapat menyebabkan pemutusan dari rantai protein, perubahan electrical charge of protein, oksidan asam amino.

4) Sinyal transduksi

Respon inflamasi.

2.6 Asap Rokok

Rokok berbentuk silinder berbahan kertas dengan panjang antara 10-20 cm dan berdiameter 10mm. Isi dari puntung rokok ini adalah daun tembakau yang dicacah. Rokok dibakar pada salah satu ujung dan ujung yang lainnya digunakan untuk menghisap. Asap rokok mengandung oksidan, radikal bebas, dan komponen organik seperti *superoxide* O_2^- dan *nitric oxide* NO^- . Selain itu, menghirup asap rokok juga meningkatkan mekanisme endogen, seperti akumulasi neutrofil dan makrofag yang selanjutnya meningkatkan kerusakan oleh oksidan.¹⁸

2.6.1 Bahan kimia

Ada 2 reaksi yang terjadi dalam proses merokok⁴⁰:

- 1) Reaksi asap rokok dengan oksigen membentuk senyawa seperti CO_2 , H_2O , NO_x , SO_x , dan CO. reaksi ini terjadi pada salah satu ujung rokok yang kontak dengan udara.

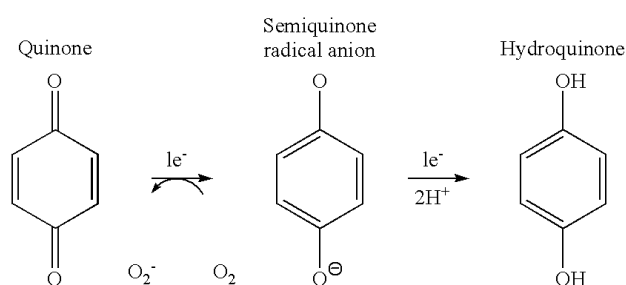
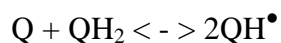
- 2) Reaksi pemecahan struktur kimia asap rokok menjadi senyawa kimia lainnya.

Reaksi ini terjadi karena pemanasan dan tidak ada kontak dengan udara, dikenal dengan reaksi pirolisis. Pirolisis terjadi pada temperatur kurang dari 800⁰C. Reaksi ini menghasilkan ribuan senyawa kompleks. Reaksi pirolisis tidak dominan, namun senyawa kimia yang dihasilkan termasuk dalam kategori senyawa kimia beracun dan dapat berdifusi dalam darah.

Radikal asap rokok dibagi menjadi 2 golongan⁴¹:

- 1) Radikal jangka panjang yang berhubungan dengan fase partikel (tar)

Kandungan tar dalam rokok sangat tinggi dan cukup stabil, *long-lived radicals* per gramnya. *Quinine*, *semiquinone*, *hydroquonnone*. Kandungan radikal pada tar memiliki sifat kimia yang menarik yaitu *semiquinone* setimbang dengan *quinone* dan *hydroquinone*.

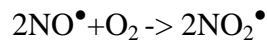


Gambar 6. Fase tar

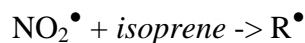
- 2) Radikal jangka pendek yang berhubungan dengan fase gas dimana sangat kuat untuk melakukan radikal oksidasi.

Radikal organik pada fase gas adalah reaktif karbon dan pusat oksigen dengan durasi

kurang dari 1 detik. Setiap hembusan asap rokok mengandung 10^{15} radikal organik. Pada fase gas ini *nitrit oxide*, *reactive olefins*, dan *dienes* memiliki kandungan tertinggi. Konsentrasi radikal dipertahankan dalam tubuh dalam jumlah yang tinggi lebih dari 10 menit dan konsentrasi ini akan selalu bertambah. Sehingga diyakini dapat fase gas ini akan selalu ada dan dapat merusak sel. Kandungan kimia yang secara stabil selalu dihasil dalam merokok adalah *nitrogen oxide* (NO^\bullet). Dalam mekanisme ini NO^\bullet secara lambat dioksidasi menjadi *nitrogen dioxide*.



Reaksi tersebut bereaksi dengan konstituen rokok, seperti *isoprene* untuk membentuk *carbon-centered radical* (R^\bullet)⁴¹



Ke dua radikal ini memiliki kemampuan untuk memulai dan mendorong kerusakan oksidatif termasuk kerusakan DNA dan organ.

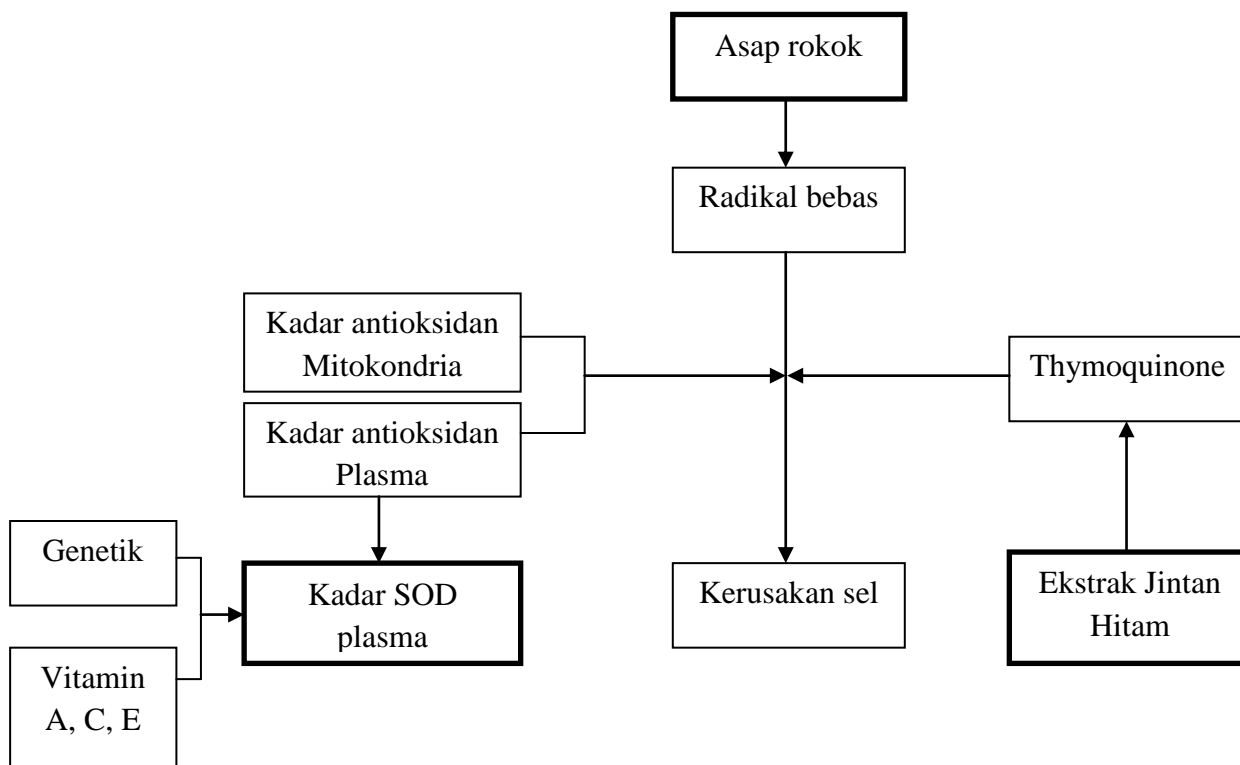
Pada makhluk hidup secara normal juga menghasilkan radikal bebas dengan jumlah yang seimbang dengan antioksidan pertahanan tubuh. Makhluk hidup memiliki berbagai macam antioksidan untuk pertahanan tubuh, yaitu antioksidan enzimatik sebagai pertahanan pertama dan antioksidan non enzimatik sebagai pertahanan sekunder.

Pertahanan enzimatik antioksidan adalah metalenzyme yang bekerja organel dan sitoplasma sebagai mekanisme pertahanan terhadap ROS, yaitu *Superoxide Dismutase* (SOD) sebagai pertahanan pertama terhadap ROS.

Glutathione peroxidase (GPx) adalah *selenoenzyme* yang bekerja di organel dan yang terutama di sitoplasma dengan mereduksi *hydroperoxides* dan *glutathione* (GSH) menjadi

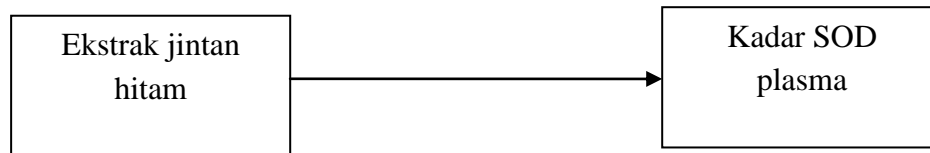
oxidized glutathione (GSSG). Katalase adalah hemoenzyme yang mengubah H_2O_2 menjadi air dan O_2 .

2.7 Kerangka Teori



Gambar 7. Kerangka teori

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 8. Kerangka konsep

2.6 Hipotesis

2.6.1 Hipotesis Mayor

Ada Pengaruh jintan hitam terhadap kadar SOD plasma tikus yang terpapar asap rokok.

2.6.2 Hipotesis Minor

- 1) Kadar SOD plasma lebih rendah pada tikus yang terpapar asap rokok.
- 2) Kadar SOD plasma lebih tinggi pada tikus terpapar asap rokok yang diberi jintan hitam dibandingkan yang tanpa pemberian asap rokok.
- 3) Terdapat pengaruh kadar SOD plasma pada kelompok yang terpapar asap rokok dengan kelompok yang terpapar asap rokok dan ekstrak *Nigella sativa*.