

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN TIKUS SPRAGUE DAWLEY SETELAH DIBERIKAN PAPAN ASAP ROKOK

Fajri Tri Baskoro¹, Kusmiyati Tjahjono DK., Amallia N. Setyawati²

¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Staf Pengajar Biokimia Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang -Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang : Hemoglobin (Hb) merupakan suatu heme protein yang bertugas mengangkut O₂ dan CO₂ di dalam tubuh. Asap rokok merupakan salah satu faktor yang menurunkan kadar Hb. Asap rokok memiliki berbagai kandungan yang berbahaya bagi tubuh seperti nitrogen oksida, tar, nikotin dan timbal. Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan tanaman herbal yang memiliki berbagai macam kandungan senyawa aktif, mineral dan vitamin seperti Thymoquinone, Fe, Cu, Zn dan Vitamin C. Pemberian ekstrak jintan hitam diharapkan dapat meningkatkan kadar Hb.

Tujuan : Membuktikan pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam terhadap kadar Hb tikus sprague dawley setelah diberi paparan asap rokok.

Metode : Penelitian eksperimental ini memiliki rancangan *Post test only control group design*. Sampel adalah tikus sprague dawley jantan sejumlah 18 ekor. Sampel dibagi merata ke dalam tiga kelompok: K0 merupakan kelompok kontrol negatif; K1 merupakan kelompok kontrol positif (diberi paparan asap rokok sebanyak empat batang/hari); K2 merupakan kelompok perlakuan (sampel diberikan paparan asap rokok sebanyak empat batang/hari dan ekstrak jintan hitam dengan dosis 500 mg/hari). Setelah 28 hari penelitian dilakukan pengambilan darah untuk diperiksa kadar Hb-nya. Data dianalisis dengan uji *One-way ANOVA*.

Hasil : Rerata kadar Hb: kelompok K0 sebesar 14,73 ± 0,56 g/dL; kelompok K1 sebesar 13,56 ± 0,35 g/dL; kelompok K2 sebesar 14,96 ± 0,31 g/dL. Rerata kadar Hb kelompok K2 meningkat secara signifikan terhadap kelompok K1 (*p*=0,00).

Kesimpulan : Pemberian ekstrak jintan hitam dapat meningkatkan kadar Hb tikus Sprague Dawley yang telah diberikan paparan asap rokok.

Kata Kunci : Jintan hitam, hemoglobin, asap rokok

ABSTRACT

THE EFFECT OF BLACK CUMIN (*Nigella sativa*) EXTRACT ON HEMOGLOBIN LEVEL OF SPRAGUE DAWLEY RAT AFTER BEING EXPOSED BY CIGARETTE SMOKING

Background : Hemoglobin (Hb) is a heme protein that carries the O₂ and CO₂ in our body. Cigarette smoking is a factor that makes the Hb level decreases. There are several dangerous substances such as nitric oxide, tar, nicotine and lead inside of it. The black cummin (*Nigella sativa*) is a herb that contains many active compounds, vitamins and minerals such as thymoquinone, Fe, Vit. C, etc. Due to those reasons, I suspected the black cummin extract would enhance the Hb level.

Objective : This study was to determine the effect of black cumin extract in the Sprague Dawley's Hb level after being exposed by the cigarette smoking.

Methods : This study used the post test only control group as its design. It was conducted on 18 Sprague Dawley rats that were divided into three groups: K0 group was the negative control group (no treatment); K1 group was the positive control group (exposed by cigarette smoking, 4 cigarettes/day); K2 group was the treatment group (exposed by cigarette smoking, 4 cigarettes/day and also 500 mg black cumin extract perday). After 28 days of study, the rat's blood was taken in order to count the Hb level. The data was analyzed with One-way ANOVA.

Result : Mean Hb level of: K0 group is $14,73 \pm 0,56$ g/dL; K1 group is $13,56 \pm 0,35$ g/dL; K2 group is $14,96 \pm 0,31$ g/dL. The mean Hb level of K2 group has significantly increased compared to the K1 group ($p = 0,00$).

Conclusion : The black cumin extract improved the Sprague Dawley's Hb level after being exposed by cigarette smoking.

Keywords : Black cumin, hemoglobin, cigarette smoke.

PENDAHULUAN

Hemoglobin (Hb) merupakan heme protein pengikat O_2 , CO_2 dan proton. Protein tetramerik ini ditemukan di dalam eritrosit. Hb berfungsi sebagai protein pengangkut O_2 dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh serta pemberi warna merah pada eritrosit.^{1,2} Hb memiliki fungsi yang vital, sehingga tidak heran apabila terjadi penurunan kadar Hb dalam darah sampai berada di bawah batas normal, maka tubuh tidak dapat bekerja dengan baik. Penurunan kadar Hb di bawah normal disebut anemia.³

Banyak faktor yang dapat memicu terjadinya anemia. Perdarahan, kehamilan, kelainan genetik, malnutrisi sampai pola gaya hidup yang tidak sehat merupakan faktor-faktor tersebut.^{4,5} Salah satu faktor yang sangat mencolok akhir-akhir ini adalah pola gaya hidup yang tidak sehat, diantaranya merokok. Asap rokok yang dihasilkan dari kegiatan merokok sangatlah berbahaya, mengingat kandungan zat beracun yang berada di dalamnya.

Asap rokok yang dihirup oleh seorang perokok memiliki berbagai komponen gas dan partikel yang berbahaya bagi tubuh. Komponen gas yang terdapat di dalam asap rokok dapat berupa CO, CO_2 , hidrogen sianida, amonia, nitrogen oksida dan senyawa hidrokarbon lainnya, serta terdapat pula komponen partikel yang terdiri dari tar, nikotin, benzopiren, fenol dan timbal.⁶

Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan tanaman herbal yang secara ilmiah telah terbukti memberikan banyak manfaat apabila dikonsumsi, baik dalam bentuk minyak ataupun ekstrak. Khasiat dari jintan hitam dilatar belakangi oleh kandungannya seperti berbagai jenis senyawa aktif, vitamin dan mineral. Senyawa aktif, mineral dan zat gizi lainnya yang terkandung dalam jintan hitam diantaranya thymoquinone, thymohydroquinone, dithymoquinone, p-cymene, carvacrol, 4-terpienol, t-anethol, sesquiterpene longifolene, α -piene, thymol, alkaloid, protein, lemak, karbohidrat, Cu, P, Zn dan Fe.

Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis 500 mg/hari terhadap kadar hemoglobin tikus Sprague Dawley yang telah diberi paparan asap rokok melalui pembakaran empat batang rokok perhari selama 28 hari. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan ilmu pengetahuan untuk penelitian yang terkait dengan jintan hitam dan penatalaksanaan anemia.

METODE

Penelitian ini berjenis *True Experimental* dengan rancangan *Post test Only Control Group Design* yang menggunakan hewan coba sebagai subjek penelitian. Tahapan dan proses penelitian ini dilakukan di tiga laboratorium yang berbeda. Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM) Unit IV digunakan untuk pengandangan, pemeliharaan dan pengambilan sampel darah hewan coba, LPPT UGM Unit I digunakan untuk pemeriksaan kadar Hb dan Laboratorium Kimia Pangan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro digunakan untuk pembuatan ekstrak jintan hitam. Secara keseluruhan penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret sampai dengan Mei 2016.

Sampel penelitian ini adalah tikus Sprague Dawley yang diperoleh dari LPPT UGM Unit IV. Kriteria inklusi: berat badang 200-250 gram, berkelamin jantan dan berumur tiga bulan. Kriteria ekskusi: terdapat kelainan anatomis dan terlihat sakit dan/atau tidak aktif selama proses penelitian, sampel mengalami perubahan perilaku, diare serta terjadi penurunan ataupun peningkatan berat badan sebanyak lebih dari 10% dan mati saat proses penelitian berlangsung.

Sampel hanya mengkonsumsi pakan AD II dan minum RO secara *ad libitum* saat fase adaptasi. Sampel selanjutnya dibagi secara acak ke dalam tiga kelompok yaitu: kelompok

kontrol negatif atau K0 (tanpa perlakuan); kelompok kontrol positif atau K1 (pemaparan asap rokok, empat batang perhari); kelompok perlakuan atau K2 (pemaparan asap rokok, empat batang perhari dan pemberian ekstrak jintan hitam 500 mg/hari).

Pada penelitian eksperimental, WHO mensyaratkan minimal penggunaan lima ekor sampel untuk setiap kelompoknya, sehingga penelitian ini menggunakan enam ekor sampel untuk setiap kelompoknya dan secara keseluruhan berjumlah 18 ekor.

Lama penelitian selama 28 hari didasari pada penelitian Wulandari (2010) terkait penurunan kadar Hb tikus akibat pemaparan asap rokok dan juga penelitian Mujahidah (2008) terkait efek terapeutik dari ekstrak jintan hitam. Pada penelitian terdahulu juga diketahui bahwa pemberian ekstrak jintan hitam pada hewan coba berjenis tikus sebanyak 1-2 g/KgBB/hari selama 10 hari dapat menunjukkan efek terapeutik.^{7,8} Pada penelitian yang bertujuan untuk mengetahui dosis toksik akut juga diketahui bahwa pemberian ekstrak jintan hitam sebanyak 3 g/KgBB masih belum menunjukkan efek toksik dari ekstrak tersebut.⁹ Peneliti memutuskan untuk memberikan ekstrak jintan hitam dengan dosis sebesar 2 g/KgBB/hari berdasarkan hal-hal diatas. Sesuai dengan salah satu kriteria inklusi sampel, berat badan hewan coba berkisar antara 200-250 g, maka didapatkan dosis ekstrak jintan hitam yang harus diberi berkisar antara 400-500 mg/hari, namun guna memberikan kepastian dan kemudahan peneliti dalam memberikan ekstrak tersebut, maka ditetapkan dosis terapi harian yang diberi menjadi 500 mg/hari untuk seluruh hewan coba.

Spesimen darah diambil dari pleksus vena retro orbita sampel pada hari ke-28. Sampel dimasukan ke dalam tabung endorf yang sebelumnya telah diberi antikoagulan. Seluruh spesimen darah tersebut lalu dibawa ke LPPT UGM Unit I untuk dilakukan pemeriksaan darah rutin, sehingga dapat diketahui kadar Hb-nya.

Analisis data primer yang didapat akan dilihat sebaran distribusi datanya melalui uji *Shapiro-Wilk* dan dilihat juga homogenitas datanya melalui *levene's test*. Apabila data berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan mekukan uji *One-way ANOVA* guna menganalisis perbedaan antar kelompok, lalu bila terdapat perbedaan yang bermakna akan dilanjutkan dengan uji *Post hoc LSD*.

HASIL

Kadar Hb

Hasil pemeriksaan kadar Hb dapat dilihat pada Tabel 1. Rerata kadar Hb tertinggi didapatkan pada kelompok K2 (pemaparan asap rokok, empat batang perhari dan pemberian ekstrak jintan hitam 500 mg/hari). Sedangkan rerata kadar Hb terendah didapatkan pada kelompok K1 (pemaparan asap rokok, empat batang perhari).

Tabel 1. Hasil pemeriksaan kadar Hb

Sampel	Kadar Hb (g/dL)		
	K0	K1	K2
1	14,90	13,40	14,80
2	15,30	13,90	15,40
3	14,20	13,70	14,70
4	14,90	14,00	14,60
5	13,90	13,20	15,20
6	15,20	13,20	15,10
X ± SD	14,73 ± 0,56	13,56 ± 0,35	14,96 ± 0,31

Analisis Data

Pada uji normalitas *Saphiro-Wilk* didapatkan sebaran data normal. Pada uji homogenitas varian dengan menggunakan *Levene Test* didapatkan nilai $p = 0,17$ yang berarti varian datanya homogen ($p > 0,05$).

Sesuai dengan data pada tabel 2, didapatkan nilai $p = 0,00$ pada pengujian *One-way ANOVA*. Hal ini secara mutlak menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar Hb yang bermakna ($p < 0,05$). Analisis data dilanjutkan dengan melakukan uji *Post hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar kelompok.

Tabel 2. *One way ANOVA Test*

K	Median (min – maks)	<i>p</i>
K1	14,90 (13,90 – 15,30)	0,00
K2	13,55 (13,20 – 14,00)	
P	14,95 (14,60 – 15,40)	

Berdasarkan tabel 3, maka didapatkan perbedaan kadar Hb yang bermakna antara kelompok KA dengan KB serta antara KB dengan KC. Hal ini dikarenakan pada uji *Post hoc LSD*, hasil pengujian dinyatakan bermakna apabila $P < 0,05$.

Tabel 3. *Post hoc LSD Test*

Kelompok	KA	KB	KC
KA	-	0,00	0,35
KB	0,00	-	0,00
KC	0,35	0,00	-

PEMBAHASAN

Kadar Hemoglobin Tikus Sprague Dawley

Kadar normal Hb tikus Sprague Dawley jantan berumur kurang dari 13 minggu berkisar antara 13,9 – 17,3 g/dL.¹⁰ Rerata kadar Hb pada kelompok K0 yang merupakan kontrol negatif diketahui masih berada di dalam batas normal yaitu 14,73 g/dL. Hal ini dapat terjadi karena selama penelitian kelompok K0 tidak diberi intervensi sama sekali. Faktor-faktor yang dapat memicu peningkatan ataupun penurunan kadar Hb diantaranya umur, kelamin, ras, kelainan genetik, kehamilan, asupan makanan serta aktivitas fisik.^{4, 5, 11}

Pengaruh Pemberian Paparan Asap Rokok Terhadap Kadar Hb Tikus Sprague Dawley

Rerata kadar Hb pada kelompok KB (13,56 g/dL) lebih rendah 7,94 % dari pada kadar Hb kelompok KA (14,73 g/dL). Sedangkan rerata kadar Hb pada kelompok KB (13,56 g/dL) lebih rendah 9,35 % dari pada kadar Hb kelompok KC (14,96 g/dL).

Rerata kadar Hb pada kelompok K1 yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok lainnya ini disebabkan oleh pemaparan asap rokok. Setiap harinya seluruh sampel diberi paparan asap rokok sebanyak empat batang rokok dan dibagi ke dalam dua sesi yaitu pagi dan sore. Pemaparan di pagi hari diberi pada pukul 09.00 sebanyak dua batang, lalu pemaparan di sore hari diberi pada pukul 15.00 sebanyak dua batang. Asap rokok didapatkan dengan cara membakar rokok kretek. Rokok kretek dipilih karena memiliki kandungan berbagai senyawa toksik yang lebih tinggi dibandingkan dengan rokok filter.¹²

Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu terkait rokok. Senyawa yang terkandung di dalam rokok seperti tar dan timbal (Pb) diketahui dapat mengganggu proses eritropoiesis dan bersifat hematotoksik.⁷ Selain itu paparan dari berbagai radikal bebas, termasuk nitrogen oksida (NO) yang terkandung di dalam asap rokok diketahui dapat meningkatkan kerapuhan membran eritrosit. Berdasarkan pada hal-hal tersebut maka tidak heran apabila terdapat penurunan rerata kadar Hb tikus yang diberikan paparan asap rokok.⁸

Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam Terhadap Kadar Hb Tikus Sprague Dawley Setelah Diberikan Paparan Asap Rokok

Rerata kadar Hb pada kelompok KC (14,96 g/dL) lebih tinggi 1,53 % dari pada kadar Hb kelompok KA (14,73 g/dL). Sedangkan rerata kadar Hb pada kelompok KC (14,96 g/dL) lebih tinggi 9,35 % dari pada kadar Hb kelompok KB (13,56 g/dL).

Rerata kadar Hb pada kelompok K2 yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya ini disebabkan oleh pemberian ekstrak jintan hitam. Selama 28 hari penelitian, seluruh sampel diberikan ekstrak jintan hitam dengan dosis 500 mg/hari. Ekstrak jintan hitam ini didapatkan dari proses ekstraksi dengan metode soxhletasi dan saat diberikan pada sampel ekstrak tersebut akan dicairkan terlebih dahulu dengan penambahan 4 ml aquades untuk setiap dosisnya.

Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu terkait jintan hitam. Senyawa aktif bernama thymoquinone (TQ) yang banyak terdapat di dalam jintan hitam diketahui mampu memicu proses eritropoiesis, menghambat proses kerusakan oksidatif eritrosit, menurunkan tingkat kerapuhan membran eritrosit, menurunkan kadar radikal bebas, menghambat pengaruh hematotoksik dari nikotin dan menghambat kerusakan sumsum tulang akibat induksi karbon tetraklorida. Selain itu kandungan mineral Fe pada tanaman ini juga dinilai mampu memicu peningkatan kadar Hb.^{13,14}

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis 500 mg/hari pada hari ke-8 hingga hari ke-28 pada kelompok K2 (perlakuan) terbukti dapat menghasilkan perubahan kadar Hb tikus Sprague Dawley, berupa peningkatan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok K1 (kontrol positif).

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan lebih memperhatikan karakteristik sampel, jenis dan durasi waktu pemaparan asap rokok serta pemberian dosis ekstrak jantan hitam

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan Jurnal Karya Tulis Ilmiah ini. Penulis juga berterima kasih kepada Dr. dr. Kusmiyati tjahjono DK., M.Kes dan dr. Amallia N. Setyawati, M.Si.Med selaku dosen pembimbing karya tulis ilmiah, dr. Dwi Ngestiningsih, M.Kes, Sp.PD selaku ketua penguji, dr. Aryu Candra K., M.Kes.Epid selaku penguji, serta keluarga dan teman-teman yang senantiasa memberikan doa dan dukungan sehingga penulisan hasil karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dean L. Blood Groups and Red Cell Antigens. Bethesda, Md : NCBI,; 2005. 1-6 p.
2. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Illustrated Biochemistry. McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2006. 44 p.
3. Hoffbrabd A, Moss PAH. Essential Haematology. 6th ed. Blackwell Publishing Limited; 2011. 16-19 p.
4. Permaesih D, Herman S. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Anemia Pada Remaja. e-Journal Badan Penelit dan Pengemb Kesehatan [Internet]. 2005;33:162–71. Available from: <http://bpk.litbang.depkes.go.id/index.php/BPK/article/viewFile/219/294>
5. National Heart Lung and Blood Institute. Your Guide to Anemia. National Institute of Health. National Institute of Health; 2011. 2-48 p.
6. Ervina Khoiriah. Gambaran Kadar Hemoglobin Pada Mahasiswa DIII Analisis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang Yang Merokok [Internet]. Universitas Muhammadiyah Semarang; 2010. Available from: <http://digilib.unimus.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=read&id=jtptunimus-gdl-ervinakhoi-5700>

7. Rundlia A. Efek Antiinflamasi Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Pada Tikus Putih [Internet]. Universitas Katholik Widya Mandala; 2011. Available from: <http://repository.wima.ac.id/531/>
8. Susianti. Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa L.*) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar, Paru, dan Testis Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Gentamisin. 2013;II(2):107–18.
9. Adrianto FN. Uji Potensi ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa L.*) Asal Indonesia Sebagai Obat Antiparkinson. Univ Pendidik Indones [Internet]. 2014; Available from: repository.upi.edu
10. Han Z-Z, Xu H-D, Kim K-H, Ahn T-H, Bae J-S, Lee J-Y, et al. Reference Data of the Main Physiological Parameters in Control Sprague-Dawley Rats from Pre-clinical Toxicity Studies. *Lab Anim Res* [Internet]. 2010;26(2):153. Available from: <http://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.5625/lar.2010.26.2.153>
11. Gibson RS. Principles of Nutritional Assessment [Internet]. Oxford University Press; 2005. Available from: <https://books.google.co.id/books?id=1Blu7UKI3aQC>
12. Susanna, Dewi. Budi H HF. Penentuan Kadar Nikotin Dalam Asap Rokok. *J Ekol Kesehat* [Internet]. 2003;7(2):38–41. Available from: <http://repository.ui.ac.id/dokumen/lihat/75.pdf>
13. Ahmad A, Husain A, Mujeeb M, Khan SA, Najmi AK, Siddique NA, et al. A Review on Therapeutic Potential of *Nigella sativa*: A Miracle Herb. *Asian Pac J Trop Biomed* [Internet]. 2013;3(5):337–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3642442/>
14. Abou Gabal AA, Essawy AE, Abdel-Moneim AM, Hamed SS, Elzergy AA. The Protective Effect of Black Seed (*Nigella sativa*) Against Carbon Tetrachloride-Induced Chromosomal Aberrations and Ultrastructural Changes of Bone Marrow Cells. *Arab J Biotechnol* [Internet]. 2007;10(2):: 275–88. Available from: https://www.researchgate.net/publication/235326932_The_protective_effect_of_black_seed_Nigella_sativa_against_carbon_tetrachloride-induced_chromosomal_aberrations_and_ultrastructural_changes_of_bone_marrow_cells