

ARTIKEL PENELITIAN

Efek Protektif Kombinasi Minyak Jintan Hitam dan Madu terhadap Hepatotoksisitas pada Tikus Akibat Sisplatin

Syarif L. F. Alkadri,^{1*} Muhammad I. Ilmiawan,² Mitra Handini³

¹Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia

²Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia

³Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia

*Corresponding author: luthfilsp@gmail.com

Diterima 23 Maret 2019; Disetujui 28 Juli 2019

DOI: 10.23886/ejki.7.10740.

Abstrak

Sisplatin merupakan agen antikanker dengan berbagai efek samping, terutama hepatotoksisitas. Minyak jintan hitam (MJH) dan madu (M) merupakan bahan alam yang kaya akan antioksidan dan memiliki efek hepatoprotektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek protektif kombinasi minyak jintan hitam dan madu pada jaringan hepar tikus yang diberi paparan sisplatin. Penelitian merupakan studi *in vivo* dengan pendekatan eksperimental yang menggunakan 30 tikus yang dibagi menjadi 10 kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), kelompok tunggal MJH dosis I (1 mL/kgBB) (P1), MJH dosis II (2 mL/kgBB) (P2), M dosis I (3,7 mL/kgBB) (P3), M dosis II (7,4 mL/kgBB) (P4), kelompok kombinasi MJH dosis I dan M dosis I (P5), MJH dosis I dan M dosis II (P6), MJH dosis II dan M dosis I (P7), MJH dosis II dan M dosis II (P8) serta kelompok sisplatin (C). Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Klinis dan Laboratorium Mikroskopik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura pada bulan April-Desember 2017. Minyak jintan hitam dan madu diberikan secara oral selama 21 hari. Pada hari ke-18, semua kelompok, kecuali kelompok kontrol, diberi sisplatin 8 mg/kgBB secara intraperitoneal. Organ hepar diambil pada hari ke-22 untuk pembuatan preparat dan dilakukan penilaian histopatologi. Analisis data menggunakan Compusyn dan IBM SPSS v.24 dengan Uji One-Way Anova dilanjutkan Uji LSD. Didapatkan gambaran kerusakan hepatosit yang lebih ringan pada semua kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok sisplatin ($p < 0,05$). Kelompok kombinasi (P5-P8) menunjukkan nilai CI < 1 yang mengindikasikan efek protektif yang sinergis. Kombinasi minyak jintan hitam dan madu menghasilkan efek protektif yang sinergis terhadap jaringan hepar tikus yang diberi paparan sisplatin.

Kata Kunci: Antioksidan, minyak jintan hitam, madu, sisplatin, sinergis.

Protective Effect of Commercial Black Seed Oil and Honey Combination against Cisplatin-Induced Hepatotoxicity in Rat

Abstract

Cisplatin is one of anticancer agents that has various side effect, mainly hepatotoxicity. It is known that black seed oil (BSO) and honey (H) are natural ingredients rich in antioxidants and have hepatoprotective effect. To assess the protective effect of the combination of black seed oil and honey on liver histopathology tissue of rats induced with cisplatin. This study used a randomized post-test only control group experimental design. Thirty rats were divided into 10 groups: control group; single-treatment groups which were given BSO dose I (1 mL/kgBW) (P1), BSO dose II (2 mL/kgBW) (P2), H dose I (3.7 mL/kgBW) (P3), H dose II (7.4 mL/kgBW) (P4); combination groups which were given BSO dose I and H dose I (P5), BSO dose I and H dose II (P6), BSO dose II and H dose I (P7), BSO dose II and H dose II (P8); and cisplatin group (C). Black seed oil and/or honey were given orally for 21 days. On the 18th day, cisplatin group and all treatment groups were given cisplatin 8 mg/kgBB intraperitoneally. On the 22nd day, the livers were dissected for histopathologic preparations and scoring. Statistical analysis was done by One-Way Anova and LSD Test. Combination index was analyzed by using Compusyn. There were significantly reduced damage of hepatocytes in all treatment groups compared to cisplatin groups ($p < 0.05$). The combination groups (P5-P8) showed CI value of less than 1 that indicated synergistic protective effect. Combinations of black seed oil and honey exert a synergistic protective effect on rats liver tissue that is induced with cisplatin.

Keywords: Antioxidant, black seed oil, honey, cisplatin, synergism

Pendahuluan

Kanker adalah salah satu penyebab utama kematian di dunia dan lebih dari 50% pasien kanker diobati dengan kemoterapi.¹ Sisplatin adalah salah satu agen antineoplastik yang poten dan sering digunakan untuk berbagai jenis kanker.^{2,3} Sisplatin memiliki efek samping yang dapat dideteksi hampir di semua jaringan. Salah satu efek samping dari cisplatin adalah hepatotoksitas. Kerusakan akibat sisplatin merupakan proses multifaktorial. Stres oksidatif mungkin memiliki peran utama.⁴

Jintan hitam merupakan tanaman obat yang banyak digunakan di Asia. Biji jintan hitam mengandung senyawa bioaktif *thymoquinone* dan asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) yang memiliki berbagai efek positif terhadap penyembuhan penyakit dan hepatoprotektif. *Thymoquinone* bekerja pada sistem antioksidan dan PUFA untuk bahan pembentukan membran.^{5,6}

Madu merupakan produk alami yang dihasilkan oleh lebah madu dari nektar atau sekresi yang dikumpulkannya dari tanaman. Madu dapat melindungi tubuh dari efek toksik bahan kimia dan sumber antioksidan karena kandungan polifenol yang berlimpah seperti flavonoid dan asam fenolat.^{7,8} Efek hepatoprotektif madu terhadap hepatotoksitas dapat dikorelasikan dengan kemampuannya dalam mereduksi peroksidasi lipid dan meningkatkan sistem pertahanan antioksidan.

Kombinasi minyak jintan hitam dan madu sebagai agen menunjukkan bahwa efek hepatoprotektif minyak jintan hitam dan madu menjadi lebih besar ketika dikombinasikan. Hal tersebut ditandai dengan pemulihan sempurna sebagian besar abnormalitas biokimia yang diinduksi agen hepatotoksik.⁹ Selain itu ketika dua agen tersebut dikombinasikan terjadi peningkatan kapasitas antioksidan 3-4 kali lipat dibandingkan biji jintan hitam dan madu saja.¹⁰

Sisplatin merupakan agen antineoplastik yang poten namun memiliki efek toksik di jaringan hepar sedangkan jintan hitam dan madu memiliki efek protektif di jaringan hepar. Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk mengetahui efek protektif kombinasi jintan hitam dan madu di hepar tikus yang diberi pajanan sisplatin.

Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Klinis (pemeliharaan hewan uji dan pemberian perlakuan) dan Laboratorium Mikroskopik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura (pembacaan preparat

histopatologi) pada bulan April-Desember 2017. Penelitian merupakan studi *in vivo* dengan pendekatan eksperimental murni. Hewan uji adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa galur *wistar* berumur 2-3 bulan dengan berat badan 180-220 g. Sebelum penelitian, hewan uji diaklimasi selama 1 minggu dengan pemberian makanan pakan standar dan minum *ad libitum*. Pengelompokan subjek perlakuan terdiri atas 10 kelompok yang dipilih secara acak. Masing-masing kelompok terdiri atas 3 tikus. Kelompok kontrol (K) diberi NaCl 0,9% 1 ml/kgBB 1 kali intraperitoneal pada hari ke-18. Kelompok C dan semua kelompok perlakuan (P1-P8) diberikan sisplatin 8 mg/kgBB intraperitoneal pada hari ke-18. kelompok P1 dan P2 diberikan minyak jintan hitam 1 dan 2 ml/kgBB oral, kelompok P3 dan P4 diberikan madu 3,7 dan 7,4 ml/kgBB oral, kelompok P5, P6, P7 dan P8 diberikan kombinasi minyak jintan hitam dan madu oral dengan dosis masing-masing 1 dan 3,7 ml/kgBB, 1 dan 7,4 ml/kgBB, 2 dan 3,7 ml/kgBB, 2 dan 7,4 ml/kgBB. Minyak jintan hitam, madu, kombinasinya masing-masing diberikan 1 kali sehari pada hari ke-1 sampai ke-21.

Kombinasi minyak jintan hitam dan madu diberikan secara terpisah. Sisplatin dalam sediaan vial (1mg/ml) diberikan 1 jam setelah pemberian minyak jintan hitam dan madu. Pada hari ke-22 tikus dieutanasia dengan anestesi eter. Selanjutnya organ hepar diambil untuk pembuatan preparat histopatologi.

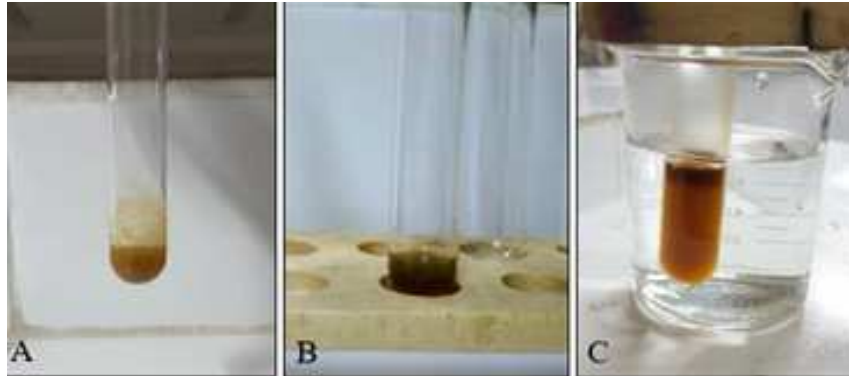
Penilaian histopatologi mencakup degenerasi hidropik dan nekrosis. Masing-masing kelainan diamati dalam 5 lapang pandang. Setiap lapang pandang dibagi menjadi 48 kotak. Setiap kotak yang ditemukan kelainan diberi skor 1. Pemberian skor secara terpisah untuk masing-masing kelainan. Rentang skor untuk degenerasi hidropik dan nekrosis masing-masing pada 1 lapang pandang adalah 0-48. Skor degenerasi hidropik dan nekrosis pada tiap lapang pandang dijumlahkan. Selanjutnya skor seluruh lapang pandang dijumlahkan dan dihitung reratanya. Pengamatan dilakukan pada zona 3 dan diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x.

Penelitian ini telah lolos kaji etik No 8360/UN22.9/DT/2017 yang dikeluarkan oleh Divisi Kaji Etik Universitas Tanjungpura. Data diolah dengan IBM SPSS versi 20.0 for Windows dan Compusyn. Uji statistik digunakan *one-way anova* dilanjutkan dengan *Post Hoc LSD*. Uji kombinasi obat dilakukan dengan metode *combination index* (CI).

Hasil

Dalam penelitian ini dilakukan identifikasi terhadap senyawa kuinon, flavonoid dan asam fenolik. Pada minyak jintan hitam, pemeriksaan senyawa kuinon memberikan hasil positif yang dibuktikan dengan perubahan warna sampel menjadi kuning saat penambahan larutan NaOH.

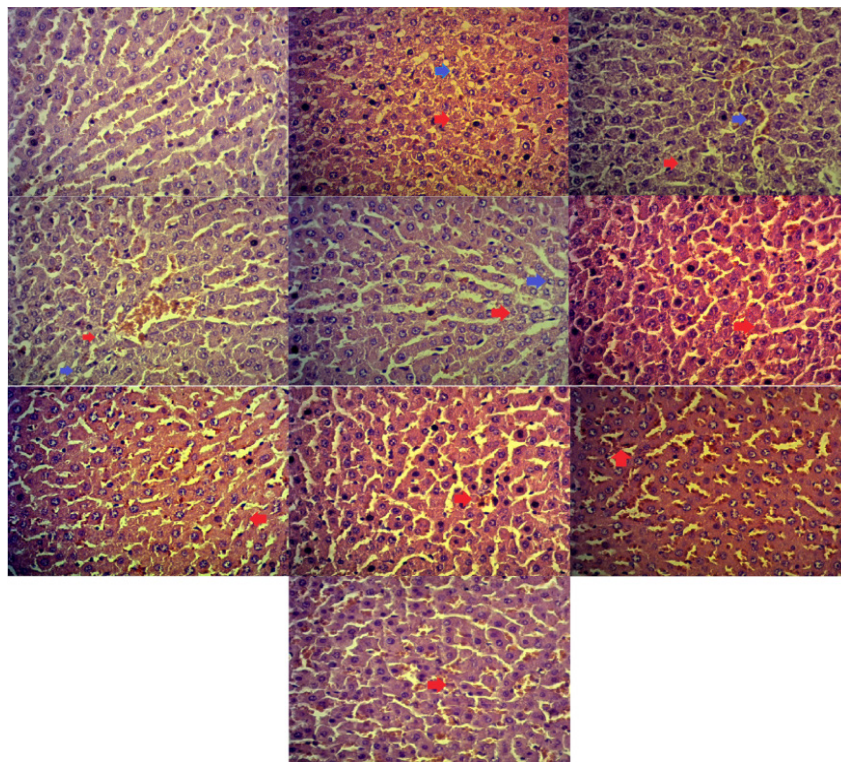
Pada madu pemeriksaan senyawa flavonoid menunjukkan hasil positif dengan perubahan warna sampel menjadi merah. Selain flavonoid, pemeriksaan asam fenolik pada madu juga memberikan hasil positif yang dibuktikan dengan perubahan warna sampel menjadi warna hijau kehitaman (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil Uji Fitokimia. Kuinon (A), Flavonoid (B), Asam Fenolik (C)

Pada pengamatan histopatologi hepar, kelompok K menunjukkan gambaran hepatosit yang normal sedangkan kelompok C terdapat

banyak hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik dan nekrosis. Seluruh kelompok perlakuan (P1-P8) menunjukkan kerusakan yang tidak seluas kelompok C (Gambar 2).

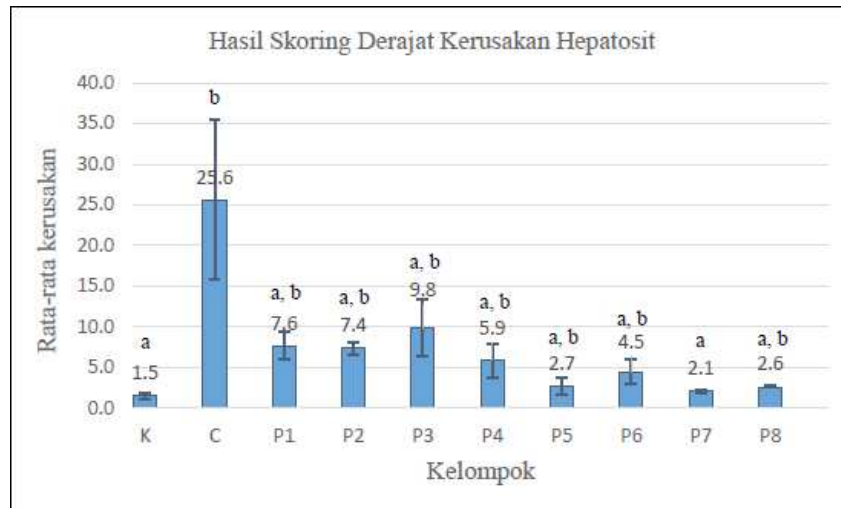


Gambar 2. Hasil Pengamatan Histopatologi Hepar Kelompok K (A), Kelompok C (B), Kelompok P1 (C), Kelompok P2 (D), Kelompok P3 (E), Kelompok P4 (F), Kelompok P5 (G), Kelompok P6 (H), Kelompok P7 (I), Kelompok P8 (J). Degenerasi hidropik (panah biru) dan nekrosis (panah merah). HE, objektif 40x.

Jumlah kerusakan hepatosit pada setiap lapang pandang dijumlahkan dan dihitung rerata untuk setiap tikus. Kemudian rerata setiap tikus dijumlahkan dan rerata kelompok. Rerata kerusakan tiap kelompok dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil uji *one-way anova* didapatkan nilai $p < 0,001$ yang menunjukkan perbedaan bermakna

pada derajat kerusakan histopatologi hepar dalam kelompok hewan coba. Analisis dilanjutkan dengan uji *post-hoc* (LSD) untuk melihat perbedaan tiap kelompok. Hasil analisis menunjukkan semua kelompok perlakuan (P1-P8) memiliki derajat kerusakan hepatosit yang lebih ringan dibandingkan kelompok C ($p < 0,050$).



Gambar 3. Rerata Kerusakan Hepatosit Tiap Kelompok, *One-way anova*, $p < 0,001$. K vs P7, $p = 0,213$. P1 vs P2, $p = 0,930$. P3 vs P4, $p = 0,051$. P5-P8 vs. P1-P4, $p < 0,050$. * $p < 0,05$ terhadap C. ** $p > 0,05$ terhadap K.

Hasil pemeriksaan histopatologi hepar pada kelompok-kelompok kombinasi (P5-P8) menunjukkan perbaikan signifikan terhadap perbaikan hepatosit dibandingkan kelompok dosis minyak jantan hitam dan madu tunggal ($p < 0,050$). Kelompok P7 (kombinasi minyak jantan hitam 2 mL/KgBB dan madu 3,7 mL/KgBB) menunjukkan gambaran hepatosit yang sama dengan kelompok K ($p = 0,213$). Sedangkan pada kelompok perlakuan lain, masih terdapat perbedaan bermakna pada gambaran hepatosit dibandingkan kelompok K.

Pada pemberian minyak jantan hitam tunggal, kelompok P1 (minyak jantan hitam dosis 1 mL/KgBB) dan P2 (minyak jantan hitam dosis 2 mL/KgBB)

tidak terdapat perbedaan bermakna pada derajat kerusakan hepatosit ($p = 0,930$). Pada pemberian madu tunggal, kelompok P4 (madu dosis 7,4 mL/KgBB) menunjukkan kerusakan hepatosit lebih ringan dibandingkan kelompok P3 (madu dosis 3,4 mL/KgBB) namun tidak bermakna ($p = 0,051$).

Pada analisis CI semua kelompok kombinasi menunjukkan hasil yang sinergis. Nilai CI kelompok P5, P6, P7 dan P8 berturut-turut 0,16, 0,68, 0,07 dan 0,26. Hal tersebut menunjukkan kombinasi minyak jantan hitam dan madu menghasilkan efek sinergis. Semakin kecil indeks kombinasi semakin sinergis kombinasi dosis obat. Urutan kombinasi yang memiliki efek sinergis tertinggi sampai terendah adalah P7, P5, P8 dan P6.

Tabel 1. Hasil Indeks Kombinasi Minyak Jantan Hitam dan Madu

Kelompok Kombinasi	Dosis Perlakuan		Nilai Indeks Kombinasi	Interpretasi
	MJH (ml/kgBB)	M (ml/kgBB)		
P5	1	1	0,16	Sinergis kuat
P6	1	2	0,68	Sinergis
P7	2	1	0,07	Sinergis sangat kuat
P8	2	2	0,26	Sinergis kuat

MJH: Minyak jantan hitam

M: Madu

Diskusi

Berdasarkan hasil pengamatan histopatologi hepar hewan coba, kelompok kontrol (K) menunjukkan gambaran hepatosit normal sedangkan kelompok sisplatin (C) banyak ditemukan hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik dan nekrosis.

Degenerasi hidropik terjadi karena gangguan pompa ion bergantung-ATP di membran plasma, yang menyebabkan ketidakmampuan untuk mempertahankan homeostasis ion dan cairan. Nekrosis terjadi karena akumulasi berbagai kelainan fungsi sel yang pada akhirnya menyebabkan influs ion kalsium dalam jumlah besar mengaktifkan enzim fosfolipase, protease, endonuklease, dan ATPase sehingga terjadi kerusakan membran, DNA dan protein. Hal tersebut merupakan dampak disfungsi mitokondria (gangguan metabolisme energi) dan stres oksidatif.¹¹

Disfungsi mitokondria menyebabkan peningkatan produksi ROS dan penurunan ATP. Molekul ATP diperlukan dalam berbagai reaksi metabolisme sel sehingga menjadikannya unsur yang sangat penting untuk kelangsungan hidup sel. Stres oksidatif dapat menyebabkan disfungsi mitokondria dan kelainan lainnya seperti kerusakan membran akibat peroksidasi lipid dan gangguan proses biokimia sel akibat ikatan silang radikal bebas. Jika terjadi stres oksidatif dan gangguan pembentukan ATP maka dampak turunannya akan menyebabkan berbagai abnormalitas fungsi sel.¹²

Banyak agen antineoplastik menginduksi cedera sel melalui efek sitotoksik secara langsung, seperti berikatan dengan gugus -SH dari berbagai protein membran sel menyebabkan inhibisi transpor tergantung-ATP dan peningkatan permeabilitas membran sel.¹³ Sisplatin menyebabkan toksisitas di berbagai jaringan, termasuk hepar melalui stres oksidatif dan gangguan metabolisme energi. Farooqui et al¹⁴ melaporkan peningkatan penanda stres oksidatif (MDA dan TOS), penurunan antioksidan endogen (SOD, CAT, GSH-GPx dan GSH), serta gangguan metabolisme energi (penurunan GR, TR, MDH, G6PDH dan peningkatan HK, LDH).

Penurunan aktivitas enzim antioksidan seperti SOD, CAT, GSH-GPx dapat disebabkan oleh inhibisi gugus fungsional -SH oleh sisplatin. Sedangkan penurunan kadar GSH dapat disebabkan oleh pembentukan ikatan silang dengan sisplatin, maupun oksidasi oleh radikal bebas. Ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif.^{14,15}

Aktivitas GR, enzim yang bertanggung jawab untuk mendaur-ulang GSH dari bentuk teroksidasi (GSSG) ke bentuk tereduksi (GSH), secara signifikan menurun dan akan menurunkan kadar GSH yang merupakan kofaktor detoksifikasi H₂O₂ dan hidroperoksida lain. Penurunan juga terjadi pada enzim TR, bagian dari sistem tioredoksin reduktase disulfida seluler utama yang berfungsi dalam pertahanan terhadap stres oksidatif.^{15,16}

Meningkatnya aktivitas enzim HK dan LDH serta menurunnya aktivitas enzim MDH menunjukkan pergeseran metabolisme aerobik ke anaerobik yang mengindikasikan disfungsi mitokondria. Penurunan aktivitas G6PDH jalur HMP *shunt* juga menunjukkan disfungsi mitokondria dan G6PDH menurunkan pembentukan NADPH yang menyebabkan berkurangnya aktivitas GR dan TR, karena kedua enzim tersebut membutuhkan NADPH untuk aktivitasnya. Hasil tersebut menunjukkan bahwa sisplatin dapat mengganggu sistem pertahanan antioksidan endogen dan isfungsi mitokondria.^{17,18}

Penurunan NADPH berhubungan dengan disfungsi mitokondria telah diamati pada hepatotoksitas yang disebabkan sisplatin. Waseem et al¹⁹ memaparkan melaporkan sisplatin secara signifikan menurunkan kadar antioksidan nonenzimatik dan enzimatis serta meningkatkan oksidasi lipid dan protein pada mitokondria hepar. Sisplatin juga menyebabkan perubahan signifikan pada aktivitas enzim rantai pernapasan (kompleks I-III dan V) serta penurunan laju respirasi pada tahap 3 dan 4 di mitokondria hepar. Perubahan pada aktivitas enzim mitokondria kompleks dapat menjadi faktor kunci dalam peningkatan produksi ROS yang mengarah pada stres oksidatif.

Disfungsi mitokondria yang mengganggu jalur metabolisme energi seperti HMP *shunt*, siklus Krebs dan glikolisis berdampak pada penurunan ATP. Jalur HMP *shunt* yang terganggu berdampak pada penurunan NADPH yang diperlukan untuk daur ulang GSH.²⁰

Peningkatan produksi ROS pada pemberian sisplatin juga dapat disebabkan oleh peningkatan ekspresi CYP2E1. Yonke et al²¹ melaporkan peningkatan ekspresi CYP2E1 pada pemberian sisplatin. Sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) merupakan enzim yang efektif dalam pembentukan ROS seperti radikal anion superoksida dan hidrogen peroksida. Enzim tersebut dapat meningkatkan laju produksi ROS.

Hasil pengamatan histopatologi kelompok minyak jintan hitam dosis tunggal (P1-P2)

menurunkan kerusakan hepatosit dibandingkan kelompok C yang menunjukkan pemberian minyak jintan hitam dosis tunggal memberikan efek protektif terhadap jaringan hepar tikus. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Farooqui et al¹⁴ yang mengungkapkan bahwa pemberian minyak jintan hitam mampu mengurangi kerusakan jaringan hepar akibat pemberian sisplatin. Pada penambahan dosis minyak jintan hitam tidak terdapat peningkatan efek karena berhubungan dengan *drug potency* dan *drug efficacy*.²²

Minyak jintan hitam mengandung senyawa *thymoquinone* yang berperan utama dalam memberikan efek protektif. Pemberian minyak jintan hitam yang mengandung *thymoquinone* sebagai bahan aktifnya mencegah penurunan aktivitas antioksidan enzimatis yaitu SOD, CAT, GSH-Px dan antioksidan nonenzimatis yaitu GSH serta menekan aktivitas enzim CYP2E1. *Thymoquinone* dapat berperan langsung dalam eliminasi radikal bebas. *Thymoquinone* juga berperan dalam pemeliharaan fungsi dan integritas membran mitokondria sehingga dapat menekan disfungsi mitokondria. Perbaikan fungsi mitokondria meningkatkan aktivitas MDH dan G6PDH yang berdampak pada peningkatan aktivitas enzim TR dan GR yang membutuhkan NADPH untuk aktivitasnya.²³

Modifikasi oksidatif oleh radikal bebas akan diikuti inaktivasi enzim sedangkan aktivitas peroksidasi lipid antara radikal bebas dan PUFA akan merusak membran sel dan membran organel. Inaktivasi enzim dan kerusakan membran akan mengganggu struktur dan fungsi sel. Aktivitas enzim membran sel juga dapat menurun karena inaktivasi enzim tersebut. Selain itu metabolisme energi yang terganggu menyebabkan sel tidak dapat memproduksi bahan-bahan yang dibutuhkan untuk perbaikan membran sel yang rusak.^{24,25}

Peningkatan status pertahanan antioksidan dan eliminasi radikal bebas oleh *thymoquinone* mencegah modifikasi oksidatif dan peroksidasi lipid oleh radikal bebas. Sementara itu, perannya dalam mencegah disfungsi mitokondria berdampak pada perbaikan metabolisme energi sehingga sel mampu memproduksi bahan untuk pembentukan membran sel. Minyak jintan hitam sebagai sumber yang baik dari asam lemak esensial dapat menggantikan komponen PUFA membran sel yang telah diserang radikal bebas sehingga mempercepat proses perbaikan. Oleh karena itu, minyak jintan hitam menekan kerusakan yang disebabkan sisplatin dengan menekan proses

kerusakan dan mempercepat perbaikan sel.²⁴⁻²⁷

Pemberian madu dosis tunggal juga memberikan efek protektif terhadap jaringan hepar tikus sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Khadr et al²⁸ yang mengungkapkan bahwa pemberian madu mampu mengurangi kerusakan jaringan hepar akibat pemberian CCL₄. Pada kelompok madu dosis tunggal terdapat peningkatan efek dengan penambahan dosis. Peningkatan efek tersebut juga berkaitan dengan *drug potency* dan *drug efficacy*.²⁶ Ibrahim et al²⁹ melaporkan pemberian madu dapat mencegah kerusakan ginjal akibat pemberian sisplatin.

Kandungan flavonoid dalam madu selain berperan langsung dalam eliminasi radikal bebas juga dapat meningkatkan aktivitas SOD, CAT, GSH-Px, GSH hepar dan menurunkan aktivitas enzim CYP2E1.^{30,31} Pada mitokondria, flavonoid dapat memperbaiki kelainan di jalur transpor elektron dan kelainan di jalur tersebut dapat meningkatkan produksi ROS.³² Kandungan asam fenolat dalam madu juga memiliki cakupan mekanisme perlindungan seperti flavonoid dalam melindungi hepar.³³⁻³⁵

Hasil pemeriksaan histopatologi hepar pada kelompok kombinasi (P5-P8) menunjukkan peningkatan signifikan terhadap perbaikan hepatosit dibandingkan kelompok dosis minyak jintan hitam dan madu tunggal. Nilai CI kelompok P5, P6, P7 dan P8 berturut-turut 0,16 (sinergis kuat), 0,68 (sinergis), 0,07 (sinergis sangat kuat) dan 0,26 (sinergis kuat) yang menunjukkan bahwa kombinasi minyak jintan hitam dan madu menghasilkan efek sinergis. Semakin kecil nilai CI semakin sinergis kombinasi dosis obat yang digunakan.³⁶

Antioksidan larut lemak yang terdapat dalam biji jintan hitam memiliki efek sinergis saat dikombinasikan dengan antioksidan dalam madu yang dibuktikan dengan pemeriksaan *Trolox equivalent antioxidant capacity* yaitu pemeriksaan untuk mengukur kapasitas antioksidan. Hasil pemeriksaan tersebut menunjukkan terjadi peningkatan kapasitas antioksidan 3-4 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan biji jintan hitam saja atau madu saja.¹² Pada penelitian ini kombinasi yang memiliki efek sinergis tertinggi sampai terendah adalah P7, P5, P8 dan P6.

Efek sinergis yang dihasilkan kombinasi minyak jintan hitam dan madu mungkin disebabkan oleh peningkatan kapasitas antioksidan yang mencapai 3-4 kali lipat ketika dua agen tersebut dikombinasikan. Selain itu variasi situs kerja dan

efisiensi kompleks obat-reseptor yang dimiliki masing-masing agen, berguna dalam melengkapi kerja kedua agen tersebut sehingga mempunyai peran penting dalam terciptanya efek sinergis.²²

Kesimpulan

Kombinasi minyak jintan hitam dan madu memberikan efek protektif yang sinergis terhadap hepatotoksitas pada tikus yang disebabkan cisplatin

Daftar Pustaka

1. Stewart BW, Wild C, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, editors. World cancer report 2014. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2014.
2. Abdel Moneim AE, Othman MS, Aref AM. Azadirachta indica Attenuates Cisplatin-Induced Nephrotoxicity and Oxidative Stress. *BioMed Res Int*. 2014;2014:1–11.
3. Wu C-H, Chen A-Z, Yen G-C. Protective Effects of Glycyrrhizic Acid and 18 β -Glycyrrhetic Acid against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in BALB/c Mice. *J Agric Food Chem*. 2015;63:1200–9.
4. Naqshbandi A, Khan W, Rizwan S, Khan F. Studies on the protective effect of flaxseed oil on cisplatin-induced hepatotoxicity. *Hum Exp Toxicol*. 2012;31(4):364–75.
5. 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* 2013; 3:337-352.
6. Shafiq H, Ahmad A, Masud T, Kaleem M. Cardio - protective and anti - cancer therapeutic potential of miraculous herb *N. sativa*. *Iran J Basic Med Sci*. 201 4;17: 967-979.
7. Carnwath R, Graham EM, Reynolds K, Pollock PJ. The antimicrobial activity of honey against common equine wound bacterial isolates. *Vet J*. 2014;199:110–4.
8. Noor N, Sarfraz RA, Ali S, Shahid M. Antitumour and antioxidant potential of some selected Pakistani honeys. *Food Chem*. 2014;143:362–6.
9. Ibrahim A, Eldaim MAA, Abdel-Daim MM. Nephroprotective effect of bee honey and royal jelly against subchronic cisplatin toxicity in rats. *Cytotechnology*. 2016;68:1039–48.
10. Molan P, Rhodes T. Honey: A Biologic Wound Dressing. *Wounds Compend Clin Res Pract*. 2015;27:141–51.
11. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Robbins SL, editors. Robbins basic pathology. Edisi ke-9. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2013.
12. Farooqui Z, Afsar M, Rizwan S, Khan AA, Khan F. Oral administration of *Nigella sativa* oil ameliorates the effect of cisplatin on membrane enzymes, carbohydrate metabolism and oxidative damage in rat liver. *Toxicol Rep*. 2016;3:328–35.
13. Cagin YF, Erdogan MA, Sahin N, Parlakpinar H, Atayan Y, Polat A, et al. Protective Effects of Apocynin on Cisplatin-induced Hepatotoxicity in Rats. *Arch Med Res*. 2015;46:517–26.
14. Arnér ES, Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur J Biochem*. 2000;267:6102–9.
15. Naqshbandi A, Khan W, Rizwan S, Khan F. Studies on the protective effect of flaxseed oil on cisplatin-induced hepatotoxicity. *Hum Exp Toxicol*. 2012;31:364–75.
16. Mansour HH, Hafez HF, Fahmy NM. Silymarin modulates Cisplatin-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *J Biochem Mol Biol*. 2006 30;39:656–61.
17. Waseem M, Pandey P, Tomar B, et al. Ameliorative action of curcumin in cisplatin-mediated hepatotoxicity: an in vivo study in Wistar rats. *Arch Med Res* 2014;45:462e468.
18. Lu Y. Cisplatin-Induced Hepatotoxicity Is Enhanced by Elevated Expression of Cytochrome P450 2E1. *Toxicol Sci*. 2006;89(2):515–23.
19. Waseem M, Pandey P, Tomar B, et al. Ameliorative action of curcumin in cisplatin-mediated hepatotoxicity: an in vivo study in Wistar rats. *Arch Med Res* 2014;45:462e468.
20. Karen Whalen. Lippincott Illustrated Reviews: Pharmacology. Edisi ke-6. China: Wolters Kluwer; 2015.
21. M.L. Salem, Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed, *Int. Immunopharmacol*. 2005;5:174970
22. H. Kaatabi, A.O. Bamosa, A. Badar, A. Al-Elq, B. Abou-Hozafa, F. Lebda, A.Al-Khadra, S. Al-Almaie, *Nigella sativa* improves glycemic control and ameliorates oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus: placebo-controlled participant blinded clinical trials, *PLoS One* 2015;10:0113486.
23. Alhebshi AH, Gotoh M, Suzuki I. Thymoquinone protects cultured rat primary neurons against amyloid β -induced neurotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013;433:362–7.
24. Ibrahim Z, Ishizuka M, Soliman M, ElBohi K, Darwish W, Muzandu K, et al. Protection by *Nigella sativa* against carbon tetrachloride-induced downregulation of hepatic cytochrome P450 isozymes in rats. *Jpn J Vet Res*. 2008;56:119–28.
25. Khan A, Vaibhav K, Javed H, Khan MM, Tabassum R, Ahmed ME, et al. Attenuation of A β -induced neurotoxicity by thymoquinone via inhibition of mitochondrial dysfunction and oxidative stress. *Mol Cell Biochem*. 2012;369:55–65.
26. Bouhlef A, Mosbah B, Abdallah H, Ribault C, Viel R, Mannai S, et al. Thymoquinone prevents endoplasmic reticulum stress and mitochondria-induced apoptosis in a rat model of partial hepatic warm ischemia reperfusion. *Biomed Pharmacother*. 2017;94:964–73.

27. Nagi MN, Mansour MA. Protective effect of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: a possible mechanism of protection. *Pharmacol Res.* 2000;41:283–9.
28. Zhang S, Lu B, Han X, Xu L, Qi Y, Yin L, et al. Protection of the flavonoid fraction from *Rosa laevigata* Michx fruit against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Food Chem Toxicol.* 2013;55:60–9.
29. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. *Pharmacol Res.* 2013;68:125–31.
30. Karuppagounder SS, Madathil SK, Pandey M, Haobam R, Rajamma U, Mohanakumar KP. Quercetin up-regulates mitochondrial complex-I activity to protect against programmed cell death in rotenone model of Parkinson's disease in rats. *Neuroscience.* 2013;236:136–48.
31. Antimelanogenic and antioxidant properties of gallic acid. - PubMed - NCBI [Internet]. [diakses 13 September 2017]. Diunduh dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17541153>
32. Priscilla DH, Prince PSM. Cardioprotective effect of gallic acid on cardiac troponin-T, cardiac marker enzymes, lipid peroxidation products and antioxidants in experimentally induced myocardial infarction in Wistar rats. *Chem Biol Interact.* 2009;179:118–24.
33. Choi M-K, Kim H-G, Han J-M, Lee J-S, Lee JS, Chung SH, et al. Hepatoprotective Effect of *Terminalia chebula* against t-BHP-Induced Acute Liver Injury in C57/BL6 Mice [Internet]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2015 [diakses 13 September 2017]. Diunduh dari: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2015/517350/>
34. Sun J, Li Y-Z, Ding Y-H, Wang J, Geng J, Yang H, et al. Neuroprotective effects of gallic acid against hypoxia/reoxygenation-induced mitochondrial dysfunctions in vitro and cerebral ischemia/reperfusion injury in vivo. *Brain Res.* 2014;1589:126–39.
35. Chou T-C. Drug Combination Studies and Their Synergy Quantification Using the Chou-Talalay Method. *Cancer Res.* 2010;70:440–6.
36. Katzung BG, Trevor AJ, editors. *Basic & clinical pharmacology.* 13. ed. New York: McGraw-Hill Education; 2015.