

Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa* L.) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar, Paru, dan Testis Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Gentamisin

The Effect of Black Cumin (*Nigella Sativa* L.) Extract to The Histopathological Appearance of Liver, Lung and Testis of White Rat (*Rattus Norvegicus*) Induced by Gentamicin

Susianti

Bagian Histologi Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung. Jl. Prof. Dr. Soemantri Brojonegoro No.1, Lampung

Received 18th May 2013 / Accepted 20th June 2013

ABSTRAK

Gentamisin merupakan salah satu antibiotik dari golongan aminoglikosida yang sering digunakan karena harganya relatif lebih terjangkau dan efektif. Namun gentamisin memiliki efek samping terhadap berbagai organ. Efek toksik gentamisin terhadap berbagai organ dapat dinetralkan oleh antioksidan yang terdapat dalam ekstrak tanaman obat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap berbagai organ diantaranya hepar, paru dan testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi gentamisin. Penelitian menggunakan 25 ekor tikus putih jantan galur Sprague dawley. Tikus secara acak dibagi menjadi 5 kelompok yaitu K1 (aquadest), K2 (gentamisin intraperitoneal/ip 80 mg/KgBB), K3 (gentamisin ip 80 mg/KgBB+ ekstrak jintan hitam 500 mg/KgBB), K4 (gentamisin ip 80 mg/KgBB+ ekstrak jintan hitam 1000 mg/KgBB) dan K5 (gentamisin ip 80 mg/KgBB+ ekstrak jintan hitam 1500 mg/KgBB). Gentamisin diberikan selama 8 hari dan ekstrak jintan hitam selama 10 hari, lalu tikus diterminasi. Gambaran histopatologi hati, paru dan testis tikus dengan pewarnaan hematoxilin eosin diamati dibawah mikroskop dan dilakukan analisis data. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap gambaran histopatologi hepar, paru dan testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi gentamisin.

Kata Kunci: Gentamisin, hepar, *Nigella sativa* L., paru, testis

ABSTRACT

Gentamicin is an aminoglycoside antibiotic that widely used because of its cheaper price and more effective. But gentamicin has side effect toward various organs. Toxic effect of gentamicin can be neutralized by antioxidant in herbal medicine extract. The research aims to understand the effect of black cumin extract (*Nigella sativa* L.) toward

Korespondensi:

email: susiantiglb@yahoo.com

various organs such as liver, lung and testis of white rat (*Rattus norvegicus*) induced by gentamicin. The research used 25 male white rats of Sprague dawley's breed. Rats were randomly divide by 5 groups: K1 (aquadest), K2 (gentamicin intraperitoneal/ip 80 mg/KgBW) , K3 (gentamicin ip 80 mg/KgBW+ black cumin extract by 500 mg/KgBW), K4 (gentamicin ip 80 mg/KgBW+ black cumin extract 1000 mg/KgBW) and K5 (gentamicin ip 80 mg/KgBW+ black cumin extract 1500 mg/KgBW). Gentamicin was given up to 8 days and black cumin up to 10 days, then rats terminated. Histopathological imagery of liver, lung and testis stained with HE and viewed under microscope for further data analysis. From the result can be conclude there was effect of black cumin (*Nigella sativa* L.) to liver, lung and testis histopathological imagery from white rat (*Rattus norvegicus*) induced by gentamicin.

Key word: Gentamicin, liver, *Nigella sativa* L., lung, testis

PENDAHULUAN

Di Indonesia penggunaan antibiotik cukup tinggi dikarenakan Indonesia merupakan salah satu negara berkembang dimana urutan penyakit-penyakit utama masih ditempati oleh berbagai penyakit infeksi. Penyakit infeksi merupakan indikasi penggunaan antibiotik untuk terapi. Antibiotik yang sering digunakan dalam mengobati infeksi yaitu golongan beta-laktam, sefalosporin, makrolid, sulfonamid, dan aminoglikosida (Sudoyo dkk, 2007).

Gentamisin merupakan salah satu antibiotik dari golongan aminoglikosida yang sering digunakan karena harganya relatif lebih terjangkau dan efektif melawan sebagian besar bakteri gram-negatif aerob yang resisten dengan antibiotik lain (Khan dkk, 2011). Gentamisin memiliki jangkauan spektrum yang luas dan efektif pada bakteremia dan sepsis (Katzung, 2010). Namun, obat ini memiliki efek samping seperti alergi, reaksi iritasi, perubahan biologis dan reaksi toksik (Istiantoro dan Gan, 2007; Mycek, 2001).

Gentamisin merupakan zat xenobiotik yang memiliki efek samping nefrotoksik, ototoksik dan hepatotoksik. Kapasitas metabolik xenobiotik tertinggi ada di hepar,

paru, ginjal dan mukosa saluran pencernaan mempunyai kapasitas sedang (Sugiyanto, 2006). Gentamisin merupakan xenobiotik yang diduga dapat merusak alveolus paru-paru secara tidak langsung (Istiantoro dan Gan, 2007). Gentamisin juga memiliki efek negatif terhadap arsitektur testis dan kerusakan pada sel germinal tikus (Khaki dkk, 2009). Selain itu gentamisin juga berpengaruh terhadap spermatozoa tikus dalam hal jumlah, motilitas dan morfologi (Narayana, 2008).

Testis adalah salah satu organ yang berpotensi menerima jejas. Hal ini karena aliran darah dapat membawa berbagai macam zat termasuk zat toksik dari satu organ ke organ yang lain. Stres dan jejas tidak hanya berpengaruh terhadap gambaran morfologik, tetapi juga pada status fungsional sel dan jaringan (Kumar dkk, 2007).

Paru merupakan salah satu organ setelah hepar yang bereaksi terhadap perusakan oleh zat xenobiotik. Hal ini disebabkan karena paru-paru merupakan organ yang mengkatalisis reaksi biotransformasi dari zat xenobiotik (Krishna dkk, 1994). Alveolus merupakan bagian dari paru-paru yang peka terhadap zat-zat xenobiotik (Robin dkk, 2009).

Hepar merupakan gerbang semua bahan yang masuk ke dalam tubuh melalui saluran cerna, sehingga sangat rentan terhadap gangguan metabolik, toksik dan mikroba (Robbins dkk, 2007). Hepar dan ginjal adalah organ yang paling sering mengalami kerusakan akibat gentamisin karena terlibat dalam metabolisme dan sekresi xenobiotik, sehingga rentan terjadi kondisi patologis. Hepar tikus yang terpapar gentamisin akan mengalami perubahan hepatoseluler, sinusoid yang berdilatasi dan memadat disertai perdarahan (Khan, 2011). Efek toksik gentamisin berbagai organ dapat dinetralisir oleh antioksidan. Beberapa penelitian menunjukkan berbagai antioksidan yang terdapat dalam ekstrak tanaman obat dapat digunakan untuk menekan stres oksidatif yang diinduksi gentamisin pada hewan percobaan. Ekstrak tanaman obat utamanya berperan sebagai pembersih/penyapu radikal bebas, membentuk kompleks dengan logam (*metal chelation*), serta menstabilkan sistem membran (Abdel-Raheem, 2010). Berbagai tanaman obat seperti mahkota dewa, sambiloto dan jintan hitam terbukti efektif mencegah atau melindungi organ dari efek toksik gentamisin (Safa dkk, 2010).

Berdasarkan penelitian Al-Ghamdi diketahui bahwa jintan hitam dengan dosis 250-500mg/kgBB ternyata mampu melindungi hepar dari induksi karbon tetraklorida/ CCl_4 (Al-Ghamdi, 2003). Biji jintan hitam memiliki kandungan *fixed oils*, *essential oils*, protein, alkaloid dan saponin. Namun, aktivitas biologi yang terlihat paling menonjol dari biji ini adalah *thymoquinone*. *Thymoquinone* diketahui merupakan sumber dari antioksidan (Ali dan Blunden, 2003). Menurut penelitian Mousavi diketahui bahwa *thymoquinone*

memiliki efek sitoprotektif dari sitotoksisitas melalui mekanisme antioksidan. Selain *thymoquinone* pada jintan hitam, masih ada zat lain pada jintan hitam yang memiliki efek sitoprotektif (Mousavi dkk, 2010).

Dari latar belakang tersebut, peneliti ingin meneliti mengenai pengaruh ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap berbagai organ diantaranya hepar, paru dan testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi gentamisin.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama 3 bulan. Populasi penelitian ini adalah 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 10-16 minggu yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bahan penelitian yang digunakan ada dua yaitu gentamisin dengan dosis 80 mg/kgBB dan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dengan dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 1500 mg/kgBB.

Sampel penelitian sebanyak 25 ekor dipilih secara acak dan dibagi ke dalam 5 kelompok dengan pengulangan sebanyak 5 kali. Kelompok I (K1) sebagai kontrol normal, yang hanya diberikan aquades secara oral. Kelompok II (K2) sebagai kontrol patologis, diberikan gentamisin dengan dosis 80 mg/kgBB. Kelompok III (K3) adalah kelompok perlakuan coba dengan pemberian ekstrak jintan hitam dosis 500 mg/kgBB, kelompok IV (K4) dengan dosis ekstrak jintan hitam sebanyak 1000 mg/kgBB dan kelompok V (K5) dosis

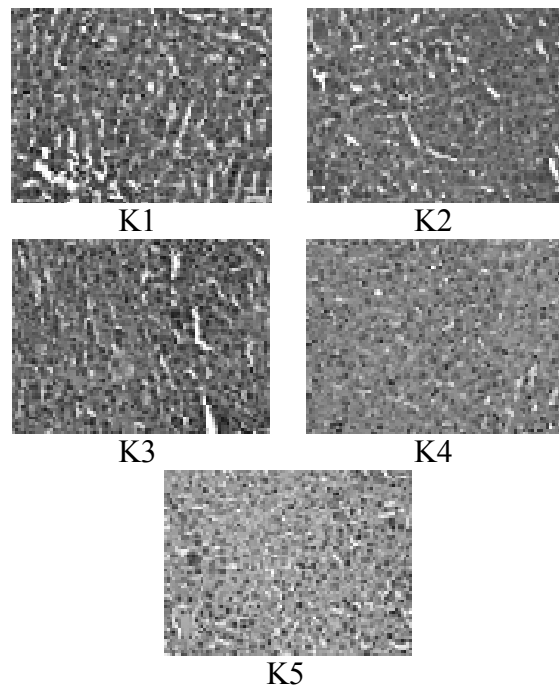
ekstrak jintan hitam sebanyak 1500 mg/kgBB. Kemudian selang 2 jam kemudian, kelompok III, IV dan V diberikan induksi gentamisin sebesar 80 mg/kgBB. Masing-masing diberikan secara intra peritoneal selama 8 hari. Kemudian pada hari ke-10, masing-masing tikus dari kelompok III, IV dan V tetap diberikan ekstrak jintan hitam. Tikus dicekoki dengan ekstrak jintan hitam selama 8 hari dan diinjeksi gentamisin secara intraperitoneal selama 8 hari, dilanjutkan pemberian ekstrak jintan hitam peroral hingga hari ke 10. Semua tikus tetap diberi makan dan minum *ad libitum*. Perlakuan dihentikan setelah 10 hari. Setelah dinarkosis tikus dilaparatomidan diambil hepar, paru dan testis yang selanjutnya difiksasi dengan larutan formalin 10%. Dari organ-organ tersebut lalu dibuat sediaan mikroskopis dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksin Eosin. Selanjutnya sediaan diperiksa di bawah mikroskop cahaya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kerusakan Hepatosit Hepar Tikus

Setelah dilakukan penelitian didapatkan hasil berupa preparat histologi hepar tikus pada masing-masing kelompok (gambar 1). Preparat ini kemudian dianalisis menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Pada K1 (gambar 1) terlihat gambaran hepatosit normal, dan beberapa hepatosit yang mengalami degenerasi. Pada beberapa tempat terlihat sel Kupffer dan triad porta yang masih utuh. Sinusoid hepar pada kelompok ini tidak mengalami pelebaran atau perdarahan. Pada K2 terdapat hepatosit yang mengalami pembengkakan. Hepatosit normal masih

dapat ditemui. Sinusoid tampak berdilatasi dan mengalami perdarahan di beberapa tempat. Pada K3 terlihat jumlah hepatosit yang mengalami degenerasi sedikit menurun namun terdapat pembengkakan hepatosit dan inti binuklear (gambar 1).



Gambar 1. Gambaran mikroskopik hepar

Populasi hepatosit normal pada kelompok ini lebih banyak dibandingkan K2. Kelompok K4 menunjukkan beberapa hepatosit yang membengkak seperti pada K2. Perdarahan dapat ditemukan pada beberapa tempat, seperti yang terlihat pada gambar 1. Gambaran kerusakan hepatosit kembali meningkat pada K5, yang hampir mirip dengan kelompok patologis.

Gambaran histopatologi yang diamati adalah hepatosit hepar tikus yang mengalami kerusakan. Pada setiap preparat diambil 5 lapangan pandang. Rasio kerusakan hepatosit pada penelitian ini dihitung berdasarkan pengamatan kerusakan hepatosit pada 5 lapangan pandang.

Tabel 1 menggambarkan rerata kerusakan hepatosit pada tiap kelompok perlakuan.

Tabel 1. Rerata Rasio Kerusakan Hepatosit Hepar Tikus

Kelompok Uji	Rerata Rasio Kerusakan Hepatosit
K1	1,56 ± 0,806
K2	4,28 ± 2,149
K3	2,58 ± 0,991
K4	2,46 ± 1,26
K5	4,13 ± 1,976

Pengamatan pada K1 didapatkan rerata rasio kerusakan hepatosit 1,56 ± 0,806. Seharusnya pada kelompok kontrol normal tidak didapatkan kerusakan pada hepatosit karena akuades tidak termasuk bahan iritan. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yang tidak dapat dikendalikan, seperti faktor psikis maupun fisik tikus yang kurang mampu beradaptasi dengan lingkungan perlakuan dan stres saat penanganan hewan, sehingga tikus mengalami stres baik sebelum dan selama perlakuan (Ngatidjan, 2006).

Pada K2 didapatkan rerata rasio kerusakan 4,28 ± 2,149. Hepar tikus dalam kelompok ini mengalami pembengkakan dan degenerasi hepatosit. Hal ini sesuai dengan penelitian Khan yang menyatakan bahwa pemberian gentamisin lebih dari 7 hari menyebabkan perubahan berupa pembengkakan hepatosit serta sinusoid yang mengalami kongesti disertai dengan perdarahan (Khan dkk, 2011).

Pada K3 rerata rasio kerusakannya yaitu 2,58 ± 0,991. Nilai yang tidak berbeda jauh terlihat pada K4, didapatkan rerata rasio kerusakan 2,46 ± 1,26. Hal ini menunjukkan penurunan persentase kerusakan hepatosit tidak terlalu signifikan walaupun dosis jintan hitam ditingkatkan. Gambaran mikroskopis pada K3 dan K4

memperlihatkan kerusakan yang lebih sedikit dibanding K2. Hal ini didukung oleh penelitian Yilidiz yang menyebutkan bahwa jintan hitam mampu menekan perubahan patologis dan kerusakan jaringan hepar akibat jejas (Yildiz dkk, 2008). Biokomponen jintan hitam berperan sebagai antioksidan, memulihkan fungsi sel yang rusak akibat radikal bebas yang dihasilkan oleh gentamisin. Sifat antioksidan ini terdapat dalam jintan hitam dengan timoquinon sebagai komponen aktif terbesarnya (Padhye dkk, 2008).

Timoquinon memperlihatkan aktivitas antioksidan melalui berbagai mekanisme berbeda. Timoquinon bekerja sebagai pembersih spesies oksigen reaktif seperti anion superoksida radikal dan hidroksil radikal. Timoquinon juga mampu meningkatkan produksi antioksidan seperti superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase secara signifikan (Badary dkk, 2000).

Hal sebaliknya terjadi pada K5, didapatkan rerata rasio kerusakan 4,13 ± 1,976. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis ini jintan hitam tidak memberikan efek proteksi terhadap kerusakan hepatosit yang diinduksi oleh gentamisin. Hal ini berlawanan dengan hasil penelitian Utami yang menyebutkan bahwa jintan hitam dengan dosis 1500mg/kgBB terbukti menurunkan kadar serum kreatinin dan urea pada tikus yang diinduksi gentamisin (Utami dkk, 2011). Pada penelitian ini, dosis ini justru diterjemahkan sebagai antioksidan yang berlebihan oleh hepar, sehingga yang terjadi adalah kerusakan akibat ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan. Ketidakseimbangan ini dapat menyebabkan gangguan konsentrasi fisiologis ROS sel yang memang dibutuhkan agar sel dapat berfungsi

normal. Antioksidan berlebihan ini akan mengganggu fisiologis sel dan akhirnya bersifat toksik terhadap organ tubuh (Bouayed dan Bohn, 2010).

Pengolahan data dilakukan dengan uji *Kruskal-Wallis* dan didapatkan nilai

$p=0,00$, artinya terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok perlakuan. Analisis data dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* yaitu dengan uji *Mann-Whitney* untuk menilai perbandingan masing-masing kelompok.

Tabel 2. Hasil Uji *Post Hoc* kerusakan Hepar

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	-	-	-	-
K2	0,00*	-	-	-	-
K3	0,00*	0,02*	-	-	-
K4	0,02*	0,01*	0,824	-	-
K5	0,00*	0,745	0,01*	0,00*	-

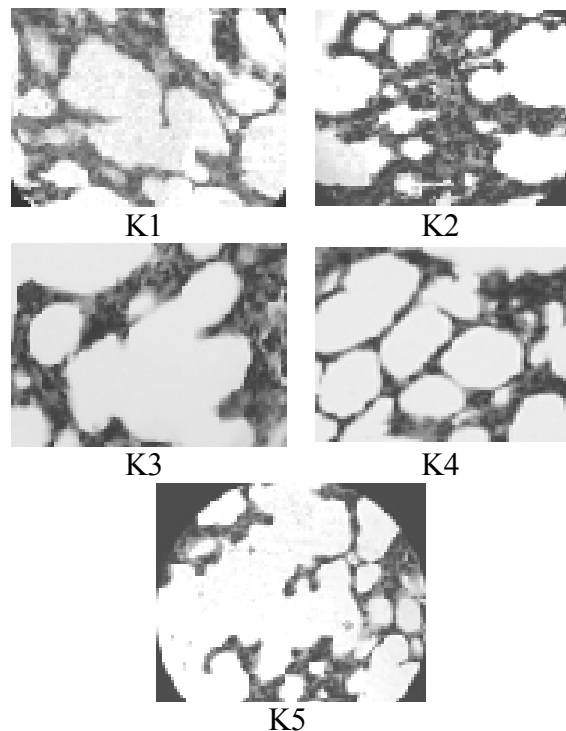
*bermakna ($p<0,05$)

Berdasarkan hasil uji *Post Hoc* (tabel 2) didapatkan $p<0,05$, artinya terdapat perbedaan signifikan kerusakan hepatosit tikus antara K1 dengan kelompok lainnya. Namun pada K3 dan K4 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p>0,05$). Dapat diartikan bahwa jintan hitam pada dosis 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB memberikan pengaruh yang sama baiknya terhadap kerusakan hepatosit yang diinduksi gentamisin. Hasil uji *Mann-Whitney* pada K2 dan K5 juga tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p>0,05$), didukung dengan hasil analisis mikroskopis dimana K2 dan K5 sama-sama menunjukkan kerusakan. Dapat diartikan jintan hitam pada dosis 1500mg/kgBB tidak memberikan efek proteksi terhadap kerusakan hepatosit yang diinduksi gentamisin.

2. Kerusakan Alveolus Paru Tikus

Gambaran sel alveolus pada K1 terlihat sel yang sangat tipis berupa sel skuamosa yang melapisi permukaan alveolus. Sel tersebut merupakan sel alveolus tipe I yang menempati 97% dari permukaan alveolus. Perbedaan gambaran mikroskopis

paru tikus putih K2 dengan K3 tampak pada gambar 2.



Gambar 2. Gambaran mikroskopik paru

Gambaran alveolus pada kelompok K2 sebagian besar lapang pandang tampak adanya perubahan struktur histopatologis di dasar alveolus berupa edema sel alveolus tipe I. Terjadi penebalan sel yang melapisi permukaan alveolus sehingga terlihat

seperti sel berlapis gepeng. Gambaran alveolus pada K3 tampak di dasar alveolus terlihat sel alveolus yang normal dan adanya perubahan struktur histopatologis berupa edema sel alveolus. Perbedaan gambaran mikroskopis paru tikus putih K2 dengan K4 tampak pada gambar 2. Gambaran alveolus pada K4 tampak di dasar alveolus terlihat sel alveolus yang normal dan adanya perubahan struktur histopatologis berupa edema sel alveolus. Perbedaan gambaran mikroskopis paru tikus putih K2 dengan K5 tampak pada gambar 2. Gambaran alveolus pada K5 tampak di dasar alveolus terlihat sel alveolus yang normal dan adanya perubahan struktur histopatologis berupa edema sel alveolus yang kerusakannya menurun dibanding K4.

Kerusakan alveolus paru dapat ditandai dengan adanya edema sel alveolus. Jumlah sel alveolus yang edema dibandingkan dengan jumlah sel alveolus yang normal dalam 5 lapang pandang setiap preparatnya kemudian dikalikan dengan 100%. Setelah didapatkan persentase masing-masing preparat maka dirata-ratakan berdasarkan pengamatan kerusakan pada setiap kelompok tikus.

Setelah data dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Walis*, diperoleh nilai $p < 0,05$ yaitu $p = 0,000$, artinya terdapat perbedaan

yang bermakna pada paling tidak dua kelompok perlakuan. Analisis data diteruskan dengan uji *Mann-Whitney* untuk menilai perbandingan masing-masing kelompok. Berdasarkan tabel 3 kerusakan terbesar terjadi pada K2. Hal ini disebabkan karena gentamisin memicu stres oksidatif pada sel alveolus. Kerusakan paling minimal terdapat pada K5. Hal ini disebabkan kandungan antioksidan dari jintan hitam.

Tabel 3. Rerata Persentase Kerusakan Alveolus

Kelompok Uji	Rata-rata Persentase Kerusakan Alveolus (%)
K1	1,37±1,79
K2	55,11±18,20
K3	27,33±9,61
K4	22,03±8,48
K5	17,57±7,02

Pada tabel 4 dapat dilihat bahwa K1 memiliki hubungan bermakna dengan K2, K3, K4 dan K5 yaitu nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis pemberian ekstrak jintan hitam memiliki pengaruh terhadap penurunan kerusakan alveolus tikus putih.

Tabel 4. Hasil Uji *Post Hoc* Kerusakan Paru

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5
K1	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K2	-	-	0,000*	0,000*	0,000*
K3	-	-	-	0,004*	0,000*
K4	-	-	-	-	0,016*
K5	-	-	-	-	-

*bermakna ($p < 0,05$)

Pada dasarnya, setiap organ dapat menjadi target efek toksik xenobiotik, namun organ yang terpasok darah dengan baik akan tertimpa xenobiotik yang masuk ke dalam tubuh dengan jumlah yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan jaringan yang sangat sedikit dialiri darah (Sugiyanto, 2006). Jumlah darah yang mengalir melalui paru-paru pada dasarnya sama dengan jumlah darah yang mengalir melalui sirkulasi sistemik (Guyton dan Hall, 2009).

Pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak jintan hitam didapat hubungan bahwa mekanisme penghambatan radikal bebas pada proses perusakan dinding sel terjadi di luar dinding sel telah berhasil mempertahankan keutuhan dinding alveolus, sehingga dapat meminimalisir kerusakan. Pada kelompok kontrol patologis yang tidak diberikan ekstrak jintan hitam, memperlihatkan gambaran kerusakan paru berupa edema sel alveolus.

Ekstrak jintan hitam diduga dapat mencegah kerusakan alveolus dengan mekanisme antioksidan dan antiinflamasi yang dikandung dalam biji jintan hitam. Kandungan bahan aktif jintan hitam terbanyak adalah timokuinon (27,8% - 57,6%) (El-Tahrir dan Bakeet, 2006 dan Gernot, 2009).

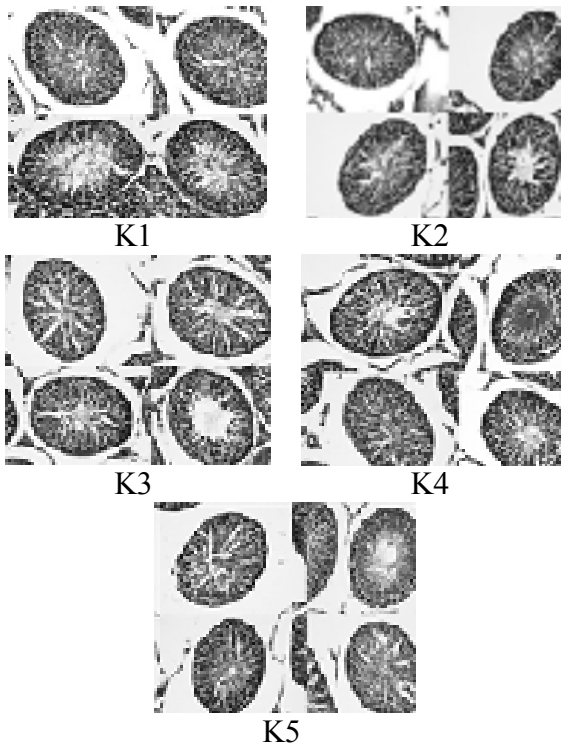
Salah satu zat aktif lain yang diisolasi dari minyak atsiri jintan hitam adalah nigelon (bentuk dimer dari ditimokuinon) yang memiliki aktivitas antihistamin (Chakravarty, 1993). Kandungan timokuinon dan nigelon dalam minyak jintan hitam berguna untuk mengurangi reaksi radang melalui aktivitas antioksidan (El-Dakhakhny dkk, 2002). Penelitian tersebut sejalan dengan penelitian Mohammad yang membuktikan bahwa

jintan hitam memiliki efek pencegahan terhadap peradangan saluran nafas. Minyak esensial pada jintan hitam memiliki efek penghambatan siklo-oksigenase II dan 5-lipoxygenase melalui jalur metabolisme asam arakidonat dan peroksidasi membran lipid (Mohammad dkk, 2011).

Kandungan timokuinon dan nigelon dalam minyak jintan hitam berguna untuk mengurangi reaksi radang melalui aktivitas antioksidan (El-Dakhakhny dkk, 2002). Penelitian ini menunjukkan hasil bahwa terdapat perbedaan bermakna pada pemberian ekstrak etanol jintan hitam dosis 500 mg/KgBB, 1000 mg/KgBB dan 1500 mg/KgBB. Hal tersebut dikarenakan ekstrak jintan hitam mengandung senyawa timokuinon dan nigelon yang mampu mencegah edema sel alveolus yang diinduksi oleh gentamisin. Efek pencegahan yang utama ini dipengaruhi kandungan utama yang terdapat pada jintan hitam yaitu timokuinon. Belum diketahui secara pasti berapa gram kandungan timokuinon dalam 100 gram jintan hitam, namun berdasarkan penelitian Govindasamy terdapat 8,73 mg timokuinon dalam 1 gram *black cumin seed oil* (Govindasamy, 2011).

3. Analisis Mikroskopik Jumlah Sel Spermatogenik Tikus

Hasil penelitian berupa preparat histologi testis tikus dianalisis secara mikroskopis menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400 kali. Pada preparat histologis, dilakukan pengamatan dan penghitungan jumlah sel spermatogenik. Jumlah sel spermatogenik yang diamati dan dihitung adalah akumulasi perhitungan jumlah sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sel spermatid.



Gambar 3. Gambaran mikroskopik Tubulus Seminiferus

Setiap kelompok perlakuan, dilakukan perhitungan jumlah sel spermatogenik pada sembilan tubulus seminiferus. Tubulus yang dipilih adalah tubulus yang memiliki bentuk dan ukuran yang sama atau hampir sama dan terlihat dengan jelas semua fase sel yang ingin dihitung (gambar 3).

Tabel 5. Rerata jumlah sel spermatogenik tikus

Kelompok Uji	Rerata Jumlah Sel Spermatogenik (X ± SD)
K1	336,56 ± 33,96
K2	295,00 ± 70,51
K3	306,78 ± 49,27
K4	309,78 ± 31,22
K5	287,89 ± 27,38

Pada tabel 5 terlihat jumlah sel spermatogenik kelompok perlakuan lebih sedikit dibandingkan kelompok kontrol. Pada K3 dan K4 terlihat jumlah sel spermatogenik tak berkurang sebanyak

pada K2. Namun pada K5, terlihat terjadi juga penurunan jumlah sel spermatogenik lebih banyak daripada jumlah sel pada K2 yaitu $295,00 \pm 70,51$ (K2) dan $287,89 \pm 27,38$ (K5).

Penurunan jumlah sel spermatogenik tikus akibat pemberian gentamisin ini, sesuai dengan penjelasan Akondi bahwa gentamisin memiliki efek menghambat pembelahan sel germinal testis (Akondi, dkk). Sel germinal testis terdiri dari sel penyokong (sel sertoli) dan sel spermatogenik (Junqueira dan Carneiro, 2005). Jumlah sel spermatogenik pada K3 dan K4, terlihat lebih banyak dari K2. Namun, lebih sedikit dari K1.

Dari uji statistik menggunakan *kruskal wallis* antar kelompok tidak memiliki perbedaan yang signifikan yaitu dengan $p=0,195(p>0,05)$. Hasil analisis data yang tidak signifikan ini bisa disebabkan oleh banyak kemungkinan seperti dosis tidak sesuai, kesalahan cara pemberian jintan hitam dan gentamisin, ataupun durasi penelitian yang terlalu singkat. Pada penelitian ini, dilakukan pemberian gentamisin selama 8 hari sebesar 80mg/kgBB pada K2, K3, K4 dan K5. Besarnya dosis pemberian tersebut, berdasarkan penelitian Singh bahwa gentamisin dapat meningkatkan serum kreatinin, serum urea dan BUN, yang mengisyaratkan bahwa gentamisin berefek merusak ginjal/ nefrotoksik (Singh dkk, 2009).

Dalam hal besarnya dosis gentamisin yang digunakan, tidak ada masalah karena menurut penelitian Narayana, gentamisin dengan dosis 3mg/kgBB dan 5mg/kgBB secara intraperitoneal/ IP (dosis harian pada terapi) sudah dapat memberikan efek kerusakan oksidatif pada testis (Narayana, 2008). Besar dosis yang sama yaitu

5mg/kgBB secara IP dalam menimbulkan kerusakan pada testis juga diperlihatkan pada penelitian Khaki, dkk (2009).

Rute pemberian gentamisin pada penelitian ini adalah intraperitoneal (IP), sedangkan jintan hitam secara peroral. Pada pemberian gentamisin, rute pemberian secara IP adalah tindakan yang benar karena bila diberikan peroral maka obat yang terabsorpsi hanya kurang dari 1% (Istiantoro dan Gan, 2007). Rute pemberian gentamisin secara IP telah digunakan oleh banyak peneliti. Sedangkan untuk pemberian jintan hitam peroral juga sudah sesuai, karena menurut *Research Guideline for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines* dari WHO, pemberian peroral obat-obatan herbal ke hewan uji paling sesuai dilakukan peroral (WHO, 2012). Kemungkinan kesalahan dari pemberian obat adalah ketika proses penyuntikan ataupun pencekokan, berisiko untuk berkurangnya dosis yang diberikan dari yang seharusnya.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap gambaran histopatologi hepar, paru, dan testis tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi gentamisin.

SARAN

Sebagai saran dari penelitian ini bahwa perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek jintan hitam terhadap organ lain, baik diinduksi oleh gentamisin maupun oleh zat toksik lainnya bahkan hingga ke tahap uji klinis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Raheem IT. 2010. *Greentea ameliorates renal oxidative damage induced by gentamicin in rats*. Pak J Pharmaceut Sci. (23) :21-28.
- Akondi RB, Akula A dan Challa SR. 2010. *Protective effects of rutin and naringin on gentamycin induced testicular oxidative stress*. Eur J Gen Med. 8(1): 57-64.
- Al-Ghamdi MS. 2003. *Protective effect of nigella sativa seeds against carbon tetrachloride-induced liver damage*. The American Journal of Chinese Medicine. 31: 721-728.
- Ali dan Blunden. 2003. *Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa*. Phytother Res. 17(4): 299-305.
- Badary OA, Bdel-Naim AB, Bdel-Wahab MH. 2000. *The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats*. Toxicology. (143): 219–226.
- Bouayed J dan Bohn T. 2010. *Exogenous antioxidants—Double-edged swords in cellular redox state : Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses*. Oxid Med Cell Longev. 3(4): 228–237.
- Chakhravarty N. 1993. *Inhibition of Histamine Release from Mast Cells by Nigellone*. Ann Allergy. 70(3): 237-42.
- El-Dakhakhny M, Madi N, Lembert N, Ammon H. 2002. *Nigella sativa oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats*. J of thnopharmacology. 81:161–164.
- El-Tahir K, Bakeet D. 2006. *The Black Seed Nigella sativa Linnaeus – A Mine for Multi Cures: A Plea for Urgent Clinical Evaluation of its Volatile Oil*. J T U Med Sc. 1: 1-19.

- Gernot K. 2009. *Spice Page: Onion Seeds (Nigella sativa, falsely Black Cumin or Black Caraway)*. <http://www.unigratz.at>. Diakses tanggal 5 November 2012.
- Govindasamy N. 2011. *Antioxidant Activity of Black Cumin*. Kuala Lumpur: School of Arts and Science Tunku Abdul Rahman College.
- Guyton AC dan Hall JE. 2009. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 11*. Jakarta: EGC.
- Istiantoro YH dan Gan VHS. 2007. *Farmakologi dan Terapi Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI Edisi 5*. Jakarta: Gaya Baru.
- Junqueira LC dan Carneiro J. 2005. *Basic Histology Text & Atlas 11th Edition*. Brazil: McGraw-Hill Companies.
- Katzung BG. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 10*. Jakarta: EGC.
- Khaki A, Novin MG, Khaki AF, Fatiazhad F, Khaberi M, Hosshinci J dan Sehzadeh R. 2009. *Ultra structural study of gentamicin and ofloxacin effect on testis tissue in rats: light and transmission electron microscopy*. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 3(4): 105-109.
- Khan M, Badar I, Siddiquah A. 2011. *Prevention of hepatorenal toxicity with Sonchus asper in gentamicin treated rats*. Medical Journal: Pubmed. 11: 1-9.
- Krishna J dan Nath T Ong. 1994. *Metabolisme dan Transformasi Zat Xenobiotik*. www.phyotosanitary.org. Diakses tanggal 5 November 2012.
- Kumar V, Cotran RS dan Robbins SL. 2007. *Buku Ajar Patologi Edisi 7 Volume 1*. Jakarta: EGC.
- Mohammad H, Keyhanmanesh R, Khamneh S, Ebrahimi M. 2011. *The effect of Nigella sativa extract on tracheal responsiveness and lung inflammation in ovalbumin-sensitized guinea pigs*. Clinics (Sao Paulo). 66(5): 879-887.
- Mousavi SH, Tayarani-Najaran Z, Asghari M dan Sadeghnia HR. 2010. *Protective effect of nigella sativa extract and thymoquinone on serum/glucose deprivation-induced pc12 cells death*. Cell Mol Neurobiol. 30(4): 591-598.
- Mycek MJ, Harvey RA dan Champe PC. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar Edisi 2*. Jakarta: Widya Medika.
- Narayana K. 2008. *An Aminoglycoside Antibiotic Gentamicin Induces Oxidative Stress, Reduces Antioxidant Reserve and Impair Spermatogenesis in Rats*. The Journal of Toxicological. 33(1): 85-96.
- Padhye S, Banerjee S, Ahmad A. 2008. *From here to eternity - the secret of pharaohs: Therapeutic potential of black cumin seeds and beyond*. Cancer Ther. 6(b): 495-510.
- Robbins SL, Kumar V, Cotran SR. 2007. *Buku Ajar Patologi Robbins Ed 7*. Jakarta: EGC.
- Robin S, Cotran R, Kumar V. 2009. *Buku Ajar Patologi*. Jakarta: EGC.
- Safa J, Argani H, Bastani B. 2010. *Protective effect of grape seed extract on gentamicin-induced acute kidney injury*. Iran J Kid Dis. (4): 285-291.
- Singh P, Srivastava, Mohan M, Khemani, Dev L. 2009. *Renoprotective effects of andrographolid Paniculata (Bur m.f.) Nees In Rats*. Departemen of Chemistry Dayalbagh Educational Institute. 114: 136-139.
- Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Setiati S. 2007. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid 1*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Indonesia.
- Sugiyanto. 2006. *Peran Aktivasi Metabolik pada Toksikologi Biokimiawi Xenobiotik*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Utami FS, Tamad H, Sulistyono ZS. 2011. *Gambaran Histopatologi Hepatosit Tikus Putih setelah Pemberian Jintan Hitam Dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan*

- 1500 mg/kgBB Selama 21 Hari (subkronik). *Mandala of Health*. 5(3).
- WHO. *The Pursuit of Responsible Use of Medicines: Sharing and Learning from Country Experiences*. 2012. http://www.who.int/medicines/areas/rational_use/en/. Diakses tanggal 5 November 2012.
- Yildiz F, Coban S, Terzi A, Ates M, Aksoy N, Cakir H, Ocak AR, Bitiren M. 2008. *Nigella sativa* relieves the deleterious effects of ischemia reperfusion injury on liver. *World J Gastroenterol*. 14(33): 5204-5209.