



## PENGARUH EKSTRAK ETANOL BIJI JINTEN HITAM (*Nigella Sativa*) TERHADAP EKSPRESI ET-1 AORTA PADA MENCIT MODEL PREEKLAMPSIA

Rubiati Hipni

Poltekkes Kemenkes Banjarmasin  
Jl.Mistar Tjokrokusomo No.1A Banjarbaru  
email : rubiatihipni @yahoo.co.id

**Abstract:** *The objective of this research is to analyze the effects of ethanol extract of black cumin seeds (*Nigella Sativa*) to the expression of ET-1 Aorta given to the preeclampsia model mouse. The research design utilizes experimental and the kind of design used is post-test only control group design. Mice preeclampsia model. This research is divided into 6 groups, namely: Negative control, Positive control, Model + extract of black cumin seeds 500 mg/KgBB/day, 1000 mg/KgBB/day, 1500 mg/KgBB/day, and 2000 mg/KgBB/day. After conducting the surgery to the mouse, an examination is done to the expression of ET-1 Aorta by using Immunohistochemistry method. one way anova Were used as statistical analysis. There was an effect of treatment of giving the ethanol extract black cumin seeds of ET-1 Aorta to the preeclampsia model mouse ( $p < 0,05$ ). these doses of 500 mg, 1000mg, 1500mg, and 2000mg, ethanol extract of black cumin seeds has ability to decrease the ET-1 Aorta in preeclampsia model mouse. dose of 1500mg/KgBB/day is the most optimum dosage to reduce when compared to another dosages. Ethanol extract of black cumin seeds (*Nigella Sativa*) can decrease the expression of ET-1 Aorta in preeclampsia model mouse, particularly at dose 2000mg/Kg/BB/day sequentially*

**Keyword :** *Preeclampsia; black cumin seeds (*Nigella Sativa*); ET-1; Aorta .*

**Abstrak:** Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa pengaruh pemberian ekstrak etanol biji jinten hitam (*Nigella Sativa*) terhadap ekspresi ET-1 Aorta pada mencit model preeklampsia. Desain Penelitian ini menggunakan eksperimental (*experimental*) dengan jenis rancangan *posttest only control group design*. Menggunakan mencit model preeklampsia. Penelitian ini dibagi menjadi 6 kelompok yaitu Kontrol negatif, kontrol positif (Model), Model+ekstrak biji jinten hitam 500 mg/KgBB/hari, 1000 mg/KgBB/hari, 1500 mg/KgBB/hari, dan 2000 mg/KgBB/hari, setelah dilakukan pembedahan pada mencit kemudian dilakukan pemeriksaan ekspresi ET-1 Aorta dengan metode Immunohistokimia. Data hasil pengamatan dianalisis dengan uji one way anova. Ada pengaruh pemberian ekstrak etanol biji jinten hitam terhadap ekspresi ET-1 Aorta pada mencit model preeklampsia ( $p < 0,05$ ). Dosis 500mg, 1000mg, 1500mg, dan 2000mg jinten hitam mempunyai kemampuan terhadap penurunan ekspresi ET-1 Aorta Dosis yang paling optimum menurunkan adalah dosis 2000mg/KgBB/hari dibanding dosis yang lain. Ekstrak etanol biji jinten hitam (*Nigella Sativa*) dapat menurunkan ekspresi ET-1 Aorta pada mencit model preeklampsia terutama pada dosis 2000mg/KgBB/hari.

**Kata Kunci:** Preeklampsia; Biji jinten hitam (*Nigella sativa*); ET-1; Aorta

## PENDAHULUAN

Preeklampsia merupakan komplikasi medis dari kehamilan dan terjadi sekitar 5% -8% dari kehamilan yang menyebabkan tingginya morbiditas dan mortalitas pada ibu dan janin (Shah, D. A., & Khalil, R. A. 2015, WHO. 2011 ). Pada tahun 2013 hipertensi dalam kehamilan merupakan penyebab kedua dari AKI di Indonesia sebanyak 27,1% (Kemenkes RI, 2014).

Penyebab terjadinya preeklampsia masih belum diketahui secara pasti karena preeklampsia merupakan "the disease of theories" (Cunningham, L. B. H. R. S. 2010). Hasil penelitian beberapa faktor yang bisa menyebabkan preeklampsia antara lain ketidakseimbangan adaptasi ibu yang menyebabkan reaksi inflamasi sistemik dan disfungsi endotel (Saucedo, R., Valencia, J., Manuel, L., & Hern, M. 2014, Yi KW, Jung SH, Cho GJ, et al. 2014).

Disfungsi endotel adalah suatu kondisi dimana tidak ada keseimbangan produksi mediator oleh endotel untuk mengatur tonus vaskuler, agregasi platelet, koagulasi, fibrinolisis. Terjadinya disfungsi endotel ditandai dengan meningkatnya endothelin (ET-1), (Teixeira, B.C. 2014). ET-1 merupakan peptide 21 asam amino sebagai vasokonstriktor poten dan isoform utama yang dihasilkan dari sel endotel manusia menyebabkan vasokonstriksi dan menyebabkan hipertensi dan proteinuria yang merupakan salah satu tanda gejala preeklampsia (Salaets, K., Scließman, J Speiser ,R., Anh-Minh, T., Wang, E Angerio, A. 2006).

Biji Jinten hitam (black seed/nigella sativa) merupakan salah satu jenis tanaman herbal, ekstrak Biji Jinten hitam terdapat komponen utama yaitu thymoquinone (TQ) mempunyai efek terapeutik sebagai antioksidan, antiinflamasi, antineoplastik, analgesik, antimikroba dan anti hipertensi. Pada penelitian didapatkan bahwa thymoquinone (TQ) yang merupakan salah satu zat aktif dari jinten hitam, dapat menghambat aktivasi (NF-kB), melalui hambatan degradasi maupun ikatan NF-kB dengan DNA di nucleus yang dapat menurunkan kadar ET-1 sebagai suatu vasokonstriktor akan turun, maka hipertensi dapat dicegah (Alam, M., Galav, V., 2013, Sethi, G., Ahn, K. S., & Aggarwal, B. B. 2008).

## BAHAN DAN METODE

Desain Penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental, dengan jenis rancangan posttest only control group design. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia, laboratorium Patologi Anatomi, laboratorium Farmakologi dan laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sampel yang digunakan adalah mencit bunting yang dibuat preeklampsia. Jumlah replikasi 5 dengan 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif, 4 kelompok perlakuan dosis sebanyak 500mg/KgBB/hari, 1000mg/KgBB/hari, 1500mg/KgBB/hari dan 2000mg/KgBB/hari.

### Prosedur pembuatan ekstrak jinten hitam

Biji jinten hitam dibersihkan lalu masukan dalam oven dengan suhu 40-60°C, haluskan dengan blender, ditimbang sebanyak 100 gram lalu dimasukan kedalam gelas erlenmeyer ukuran ±1L, Kemudian direndam dengan etanol sampai volume 900 ml, dikocok, diamkan 1 malam sampai mengendap, diambil dengan penyaringan, lapisan atas ethanol dengan zat aktif yang telah diambil dimasukan dalam labu evaporasi 1 L dalam evaporator ethanol dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu evaporasi, Aliran ethanol ditunggu sampai berhenti menetes pada labu penampungan ±900 ml. Hasil ekstraksi dimasukan kedalam botol alu disimpan dalam freezer.

### Prosedur pembuatan mencit model preeklampsia

Serum ibu preeklampsia berat diinjeksikan secara intraperitoneal pada mencit bunting sebanyak 0,1 cc dan dilakukan sebanyak 2 kali pada usia gestasi hari ke-10 & 11 dengan spuit 1cc jarum 27G pada quadrant kiri bawah abdomen dan jarum dimasukan sejajar dengan kakinya pada sudut 30°C kemudian didorong.

Untuk memastikan membuat mencit preeklampsia dengan dilakukan pengukuran tekanan darah menggunakan CODA dan protein urine menggunakan quantichrom protein assay kit pada usia gestasi hari ke-15 (Teixeira, B.C. 2014, Wicaksono, B. A., Candra, S., Baktiyani, W., & Fitri, L. E. 2015).

Untuk kelompok perlakuan mencit model preeklampsia diberikan ekstrak etanol jinten hitam setiap hari pada usia gestasi hari 15 - 20 dengan dosis berbeda-beda (500mg/kgBB/hari, 1000mg/kgBB/hari, 1500mg/kgBB/hari dan 2000mg/kgBB/hari) melalui mulut menggunakan sonde, mencit dieksekusi pada usia gestasi ke 20 untuk diambil organ Aorta kemudian diukur ekspresi ET-1 di aorta.

**Prosedur Pengukuran ET-1 di aorta**

Organ aorta mencit diambil, dimasukkan kedalam formalin 10% sekurang-kurangnya 72 jam, dilakukan proses pemotongan jaringan pengeblokan dan sediaan dipotong dengan microtome setebal 4-5 mikron, dan ditempelkan pada object glass kemudian proses pemeriksaan dengan metode immunohistokimia (IHC). Pada proses pengecatan, deparafinisasi dilakukan dengan cara dipanaskan pada suhu 60°C selama 60 menit. Kemudian direndam secara berurutan pada xilol, ethanol absolut, 90%, 80%, 70% selama masing-masing 5 menit kemudian dicuci dengan aquades steril 3 kali 5 menit. Melakukan Antigen retrieval dengan buffer sitrat dan pemanasan, pengecatan immunohistokimia dengan antibodi primer ET-1 menggunakan merck dagang Life Technology Catalog MA3-005 dan IHC kit merck Biocare Medical

Kemudian diinkubasi overnight pada suhu 4°C selama 18 jam. Inkubasi dengan antibodi sekunder selama 60 menit, inkubasi Streptavidin Horseradish Peroxidase (SA-HRP) selama 40 menit, aplikasi Chromagen Diaminobenzidine (DAB), counterstain dengan Mayer's hematoxilen, dan mounting dengan etellan, dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x sebanyak 10 lapangan pandang difoto dengan menggunakan camera (canon DSLR) dan ditransfer ke dalam komputer untuk pengukuran Ekspresi ET-1 di aorta.

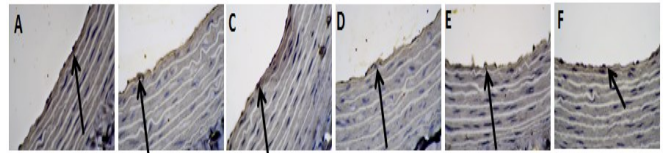
Data hasil pengamatan dianalisis dengan uji one way anova dengan SPSS

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian menggunakan mencit model preeklampsia, setelah diinjeksi serum ibu preeklampsia berat pada hari ke 10-11 kemudian hari 15 dilakukan pengukuran tekanan darah dan protein urine mengalami hipertensi dan kadar protein urine yang lebih tinggi.

**Gambaran ET-1 Aorta pada pemeriksaan Immunohistokimia**

Hasil gambaran ekspresi ET-1 kelompok kontrol negatif didapatkan hanya sedikit sel positif dan reaksi warna, sedangkan pada kontrol positif terlihat warna coklat pada jaringan Aorta



Gambar 1. Perbandingan ekspresi ET-1 Aorta A: Kontrol negatif, B: Kontrol positif, C: perlakuan I, D: perlakuan II, E: perlakuan III dan F: perlakuan IV, perbandingan ET-1 (panah) pada jaringan aorta menunjukkan hasil positif warna kecoklatan lebih jelas menunjukkan ekspresi ET-1 pada kelompok kontrol positif (Pembesaran 400x)

**Hasil uji prasyarat parametrik**

Pada analisis data pada uji normalitas dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk

Tabel 1. Hasil uji normalitas data Ekspresi ET-1 Aorta

Kelompok pengamatan	<i>p-value</i>	Distribusi
	Ekspresi ET-1 Aorta	
Kontrol negatif	0.490	normal
Kontrol positif (PEB)	0.967	normal
PEB + ekstrak ethanol ns 500mg	0.440	normal
PEB + ekstrak ethanol ns 1000mg	0.985	normal
PEB + ekstrak ethanol ns 1500mg	0.201	normal
PEB + ekstrak ethanol ns 2000mg	0.777	normal

Keterangan: Jika *p-value* >  $\alpha=0,05$  berarti data terdistribusi normal dan jika *p-value* <  $\alpha=0,05$  berarti data tidak terdistribusi normal

Hasil uji Shapiro-Wilk diperoleh bahwa data ekspresi ET-1 untuk masing-masing kelompok pengamatan telah menunjukkan nilai *p-value* yang semuanya lebih besar dari taraf signifikansi  $\alpha=0.05$  terbukti terdistribusi normal

**Hasil uji perbandingan ekspresi ET-1 Aorta**

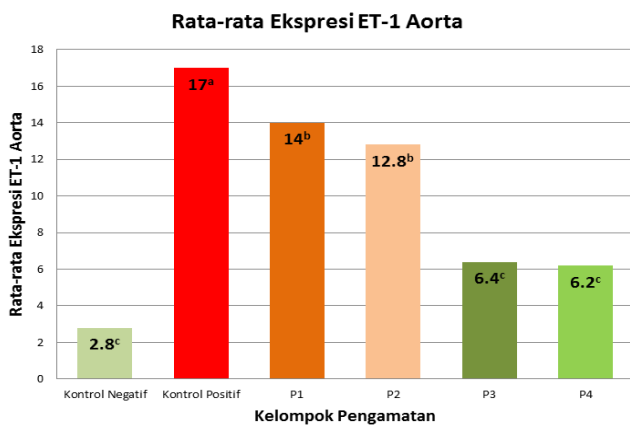
Berdasarkan hasil uji Anova one way pada data ekspresi ET-1 di aorta diperoleh ada perbedaan yang bermakna rerata ekspresi ET-1 di aorta keenam kelompok sampel pengamatan, hal ini ditunjukkan dengan nilai (*p-value* = 0.000 <  $\alpha$ )

Tabel 2 Perbandingan ekspresi ET-1 Aorta

Kelompok pengamatan	n	Rerata ± stan.dev	p-value
Kontrol Negatif	5	2.80±1.64 <sup>c</sup>	
Kontrol Positif (PEB)	5	17.00±1.58 <sup>a</sup>	
PEB + ekstrak ethanol ns 500mg	5	14.00±2.00 <sup>b</sup>	p.000<α
PEB + ekstrak ethanol ns 1000mg	5	12.80±3.03 <sup>b</sup>	
PEB + ekstrak ethanol ns 1500mg	5	6.40±1.34 <sup>c</sup>	
PEB + ekstrak ethanol ns 2000mg	5	6.20±1.48 <sup>c</sup>	

Keterangan: Pada rerata=sd jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna (p-value<0.05) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna (p-value>0.05).

Terdapat perbedaan yang bermakna rerata ekspresi ET-1 Aorta antar kelompok kontrol negatif (2.80±1.58<sup>a</sup>) dan kontrol positif (17.00±1.64<sup>c</sup>) dan demikian pula terdapat perbedaan yang bermakna antar kontrol positif dengan kelompok perlakuan pemberian ekstrak ethanol *Nigella sativa* dosis 500mg,1000mg,1500mg dan 2000mg. Hal ini berarti bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak ethanol *Nigella sativa* pada mencit model preeklampsia terhadap penurunan ekspresi ET-1 Aorta.



Gambar 2 Histogram rerata ekspresi ET-1 Aorta mencit model Preeklampsia

Histogram rerata ekspresi ET-1 Aorta pada kontrol negatif (mencit sehat), kontrol positif (mencit model preeklampsia), dan 4 kelompok mencit model preeklampsia dan pemberian ekstrak ethanol *Nigella sativa* dengan dosis 500mg, 1000mg, 1500mg, dan 2000mg.

Ada penurunan rerata ekspresi ET-1 aorta berbagai dosis dibandingkan dengan rerata pada kelompok kontrol positif. Adapun nilai rerata ekspresi ET-1 aorta terendah pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak ethanol *Nigella sativa* pada dosis 2000mg (6.20±1.48<sup>c</sup>) dan paling dekat nilai dengan kelompok kontrol negatif (2.80±1.64<sup>c</sup>) Dapat dikatakan pula bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin turun ekspresi ET-1 Aorta.

**Pengaruh serum ibu preeklampsia terhadap ekspresi ET-1 aorta**

Berdasarkan nilai reratanya ekspresi ET-1 aorta tampak pada kelompok kontrol negatif (6.20±1.48) lebih kecil nilainya bila dibandingkan dengan rerata ekspresi ET-1 aorta pada kelompok kontrol positif (17.00±1.58) dengan p-value (p=0.000< α)

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Zhou dimana mencit bunting yang diberikan IgG serum ibu preeklampsia mampu meningkatkan ekspresi mRNA dari prepro ET-1 (Zhou CC, Ahmad S, Abbasi S. 2008). ET-1 meningkat pada preeklampsia dengan bekerja melalui receptor ETA yang menginduksi terjadinya vasokonstriksi dan hipertensi pada preeklampsia (George, E.M., Granger, J.P.,2011)

**Pengaruh Ekstrak etanol biji jinten jintan terhadap ekspresi ET-1 Aorta**

Terdapat pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak etanol biji jinten jintan terhadap penurunan ekspresi ET-1 aorta dengan p-value sebesar 0,000 (p<0,05) pada kontrol positif terdapat ekspresi ET-1 yang paling tinggi dibandingkan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol biji jinten jintan dengan dosis 500mg,1000mg,1500mg dan 2000mg, dosis yang paling optimal menurunkan ekspresi ET-1 aorta adalah dosis 4 (2000mg/KgBB/hari). *Nigella sativa* mempunyai bahan aktif utama TQ yang mampu mencegah kerusakan organ akibat radikal bebas dan mencegah terjadinya reactive oxygen species (ROS), (Mansour, M. A., Nagi, M. N., El-khatib, A. S., & Al-bekairi, A. M. 2002).

Penelitian ini sejalan dimana ekstrak *nigella sativa* digunakan untuk mengobati bayi yang dibuat asthma dengan berbagai dosis dan pemberian *nigella sativa* dapat menurunkan kadar ET-1 secara signifikan pada jaringan paru dibandingkan kontrol positif asma (Mazouchian H, Mirzaei. B.F, Ebrahimi.SKeyhanmanesh R. 2013)

Pada penelitian Ozlem pemberian *Nigella sativa* pada tikus yang dibuat sepsis terdapat penurunan kadar ET-1 pada serum tikus dibanding kontrol positif (Ozlem. A, Havva .S, Cemile .K & Neriman .D. 2011).

Penurunan ET -1 dengan pemberian ekstrak biji jinten hitam sebagai anti oksidan mencegah terjadinya ROS dan disfungsi endotel sehingga mencegah terjadinya vaso-konstriksi pada pembuluh darah dan menurunkan tekanan darah sehingga tidak terjadi preeklampsia (Leong x, Mustafa MR, Jaarin K. n.d., Mansour, M. A., Nagi, M. N., El-khatib, A. S., & Al-bekairi, A. M. 2002)

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol biji jinten hitam (*Nigella Sativa*) dapat menurunkan ekspresi ET-1 Aorta pada mencit model preeklampsia terutama pada dosis 2000mg/KgBB/hari.

## DAFTAR PUSTAKA

Alam, M., Galav, V. (2013). Anti-Inflammatory Effect and Toxicological Evaluation of Thymoquinone(Volatile Oil of Blackseed) On Adjuvant Induced Arthritis in Wistar Rat. *Indian J L Sci.* 2(2):17-22

Cunningham, L. B. H. R. S. (2010). *Williams Obstetric*. 23 ed. United States of America: The McGraw-Hill Companies, Inc

George, E.M., Granger, J.P. (2011). Endothelin :key mediator of hypertension in preeklampsia. *Am.J.Hipertens.*24(9) : 964 -969

Kalkunte, S., Boij, R., Norris, W., Friedman, J., Lai, Z., Kurtis, J., Matthiesen, L. (2010). *Sera from Preeklampsia Patients Elicit Symptoms of Human Disease in Mice and Provide a Basis for an in Vitro Predictive Assay*, 177(5), 2387–2398.

Kementerian Kesehatan RI. (2014). *Mother's Day's*. InfoDATIN Pusat Pusat Data dan Informasi Kesehatan RI

Leong x, Mustafa MR, Jaarin K. (n.d.). *Nigella sativa and its protective role in oxidative stress and hypertension*

Mansour, M. A., Nagi, M. N., El-khatib, A. S., & Al-bekairi, A. M. (2002). *Effects of thymoquinone on antioxidant enzyme activities , lipid peroxidation and DT-diaphorase in different tissues of mice : a possible mechanism of action*

Mazouchian H, Mirzaei. B.F, Ebrahimi.S Keyhanmanesh R.(2013). *The effect of Nigella sativa on endothelin level of ovalbumin sensitized guinea pigs.* (4):209-213

Ozlem.A, Havva.S, Cemile.K&Neriman .D. (2011). *Treatment Of Nigella Sativa In*

*Experimental Sepsis Model In Rats.*

Salaets, K.,Scließman, J Speiser ,R., Anh-Minh, T.,Wang ,E Angerio, A. (2006). Role of endothelin -1 in Atherosclerosis Georgetown. *Journal of health Sciences*, 3(1):1-9

Saucedo, R., Valencia, J., Manuel, L., & Hern, M. (2014). *Early Disturbed Placental Ischemia and Hypoxia Creates Immune Alteration and Vascular Disorder Causing Preeklampsia*, 45.

Sethi, G., Ahn, K. S., & Aggarwal, B. B. (2008). Targeting nuclear factor-kappa B activation pathway by thymoquinone: role in suppression of antiapoptotic gene products and enhancement of apoptosis. *Molecular Cancer Research : MCR*, 6(6), 1059–1070.

Shah, D. A., & Khalil, R. A. (2015). Bioactive factors in uteroplacental and systemic circulation link placental ischemia to generalized vascular dysfunction in hypertensive pregnancy and preeklampsia. *Biochemical Pharmacology*, 95(4), 211–226.

Teixeira, B.C. (2014). *Inflammatory markers , endothelial function and cardiovascular risk.* 13(2):108–115 21

WHO. (2011). Recommendations for Prevention and Treatment of Preeklampsia and Eklampsia, *WHO Department of Maternal and Child Health*, Geneva, Switzerland

Wicaksono, B. A., Candra, S., Baktiyani, W., & Fitri, L. E. (2015). *Intraperitoneal Injection of High Tumor Necrosis Factor (TNF- α ) Serum Increase Soluble Fms-like Tyrosine Kinase 1 ( sFlt-1 ) and Blood Pressure of Pregnant Mice*, 5(1).

Yi KW, Jung SH,Cho GJ,et al. (2014). *Effects of sflt-1 and alpha 2-macroglobulin on vascular endothelial growth factor-induced endothelin-1 upregulation in human microvascular endothelial cell.* 35:64-69

Zhou CC, Ahmad S, Abbasi S. (2008). *Autoantibody From Women With Preeklampsia Induces Soluble Fms Like Tyrosine Kinase-1 Production via Angiotensin Type 1 Receptor and Calcineurin/ Nuclear Factor of Activated T-Cells Signaling.*; 51: 1010 - 1019