

# SKRIPSI

**MANFAAT EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)  
TERHADAP JUMLAH SEL PULAU LANGERHANS  
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG  
DIINDUKSI DIABETES MELLITUS**



Oleh :

**RIZKI KRIESTYA MAYASARI**

**NIM 060810235**

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2012**

**MANFAAT EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) TERHADAP JUMLAH SEL PULAU LANGERHANS TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) YANG DIINDUKSI DIABETES MELLITUS**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh:

RIZKI KRIESTYA MAYASARI  
060810235

Menyetujui

Komisi Pembimbing,



(Boedi Setiawan, MP.,drh)  
Pembimbing Utama



(Tri Nurhajati, MS.,drh)  
Pembimbing serta

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang berjudul :

***Manfaat Ekstrak Jintan Hitam (Nigella Sativa) Terhadap Jumlah Sel Pulau Langerhans Tikus Putih (Rattus Novergicus) yang Diinduksi Diabetes Mellitus***

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, Juni 2012



Rizki Kriesty M.  
NIM. 060810235

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 28 juni 2012

**KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN**

Ketua : Dr. Ngakan Made Rai Widjaja, drh., MS

Sekretaris : Arimbi, drh., M.Kes

Anggota : Ira Sari Yudaniayanti, drh., MP

Pembimbing Utama : Boedi Setiawan, drh., MP

Pembimbing Serta : Tri Nurhajati, drh., MS

Telah diuji pada

Tanggal : 5 juli 2012

**KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN**

Ketua : Dr. Ngakan Made Rai Widjaja, drh., MS

Sekretaris : Arimbi, drh., M.Kes

Anggota : Ira Sari Yudaniayanti, drh., MP

Pembimbing Utama : Boedi Setiawan, drh., MP

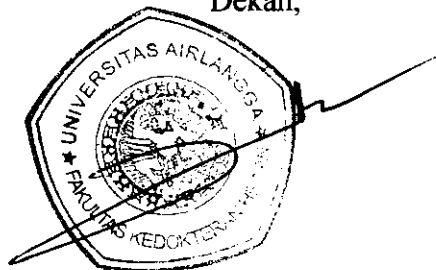
Pembimbing Serta : Tri Nurhajati, drh., MS

Surabaya, 30 September 2012

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh  
NIP. 195312161978062001

**BENEFITS OF BLACK CUMIN (*Nigella sativa*) EXTRACT AGAINST THE AMOUNT OF LANGERHANS ISLET CELLS WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) INDUCED DIABETES MELLITUS**

Rizki Kriestya Mayasari

**ABSTRACT**

The aim of this study was to prove the benefits of black cumin (*Nigella sativa*) extract against the amount of Langerhans islet cells white rats (*Rattus norvegicus*) induced diabetes mellitus. Twenty-five male rats were randomly divided into five groups. Negative control group (P0) was injected with physiological saline while the positive control (P1) was injected intraperitoneally with alloxan 150 mg/kg bw. The other treatment (P2, P3, and P4) injected with alloxan 150 mg/kg bw and treated with black cumin extract 5, 10, 15 g/kg bw respectively. Black cumin extract administered orally for 14 days, then rats were necropsy and pancreas was taken for histopathological examination. Data were analyzed using ANOVA (*Analyzed of Variance*) continued with Duncan's. The result of this study indicated that black cumin extract can increase the amount of Langerhans islet cells white rats (*Rattus norvegicus*) induced diabetes mellitus, consequently black cumin can be used as an alternative therapy for patients with diabetes mellitus.

**Key words :** *Nigella sativa*; alloxan; diabetes mellitus; Langerhans islet cells

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul *Manfaat Ekstrak Jintan Hitam (Nigella Sativa) Terhadap Jumlah Sel Pulau Langerhans Tikus Putih (Rattus Novergicus) yang Diinduksi Diabetes Mellitus*

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Romziah Sidik, Ph.D.,drh. atas kesempatan mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Boedi Setiawan, MP., drh. selaku pembimbing utama dan Tri Nurhajati, MS., drh selaku pembimbing serta, atas segala bimbingan nasehat saran serta motivasi sampai dengan selesainya skripsi ini.

Dr. Ngakan Made Rai Widjaja, MS., drh. selaku ketua penguji, Arimbi, M.Kes., drh selaku sekretaris penguji, Ira Sari Yudaniayanti, MP., drh. selaku anggota penguji, atas bimbingan, nasehat dan saran yang diberikan untuk perbaikan kekurangan skripsi ini.

Seluruh dosen dan karyawan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Seluruh Staf Laboratorium Patologi dan staf kandang hewan coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas bantuan teknis dalam penelitian

ini. semoga Allah SWT akan memberikan limpahan rahmat-Nya kepada beliau semua, amin. Teman-teman se-penelitian, dan Nowo, Diki, Mas basuki, Mbak Cindy terima kasih atas bantuan dan dukungannya selama ini.

Kepada keluarga, Bapak, ibu dan adik-adik tersayang yang telah memberikan segalanya, bantuan do'a, dorongan dan semangat. Untuk teman-teman dekat penulis, Rina Indrawati, Mitha Sonatha, Resti Asyi'fa, Ester K, Dwi Agita, dan tentunya teman istimewa penulis Aulianto Arnas, serta seluruh teman-teman civitas akademik 2008 yang selalu mendukung serta memberikan inspirasi selama ini. Kepada pihak-pihak yang telah mendukung penulis namun belum tersebut satu persatu penulis mohon maaf atas segala kesalahan dan terima kasih atas segala bantuannya selama ini kepada penulis.

Surabaya, 30 September 2012

Penulis



# DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iii
HALAMAN IDENTITAS .....	iv
ABSTRACT .....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
SINGKATAN dan ARTI LAMBANG .....	xiv
<b>BAB 1 PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Penelitian .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Landasan Teori .....	3
1.4 Tujuan Penelitian .....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
1.6 Hipotesis Penelitian .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1 Jintan Hitam ( <i>Nigella sativa</i> ).....	6
2.1.1 Klasifikasi Jintan Hitam ( <i>Nigella sativa</i> ).....	6
2.1.2 Morfologi .....	6
2.1.3 Kandungan dan khasiat .....	7
2.2 Diabetes Mellitus.....	9
2.2.1 Definisi.....	9
2.2.2 Gejala Klinis.....	11
2.3 Pankreas .....	11
2.4 Alloksan .....	14
2.4.1 Pengaruh Alloksan terhadap Sel Beta Pankreas.....	14
2.5 Tikus .....	16
<b>BAB 3 MATERI DAN METODE .....</b>	<b>17</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	17
3.1.1 Tempat .....	17
3.1.2 Waktu Penelitian.....	17
3.2 Materi Penelitian .....	17
3.2.1 Hewan Coba .....	17
3.2.2 Bahan Penelitian .....	17
3.2.3 Alat Penelitian .....	18

3.3 Metode Penelitian .....	18
3.3.1 Persiapan Hewan Coba .....	18
3.3.2 Penentuan Dosis.....	18
3.3.3 Perlakuan.....	19
3.3.4 Metode Perhitungan Preparat .....	20
3.4 Rancangan Penelitian .....	21
3.5 Variabel yang diamati .....	21
3.6 Analisis Data .....	21
3.7 Alur Kerja .....	22
<b>BAB 4 HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>23</b>
<b>BAB 5 PEMBAHASAN .....</b>	<b>28</b>
<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>32</b>
6.1 Kesimpulan .....	32
6.2 Saran.....	32
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>33</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>36</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>41</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1. Rata-rata jumlah sel pulau <i>Langerhans</i> $\pm$ SD tikus putih .....	23

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Gambaran mikroskopis sel pulau <i>Langerhans</i> (pembesaran 400 kali dengan pewarnaan HE) .....	13
3.1. Skema Alur Kerja Penelitian .....	22
4.1. Gambar grafik rerata sel pulau <i>Langerhans</i> tikus putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) pada berbagai perlakuan .....	24
4.2. Gambaran mikroskopis sel pulau <i>Langerhans</i> perlakuan P0 (pembesaran 1000 kali dengan pewarnaan HE) .....	25
4.3. Gambaran mikroskopis sel pulau <i>Langerhans</i> perlakuan P1 (pembesaran 1000 kali dengan pewarnaan HE) .....	25
4.4. Gambaran mikroskopis sel pulau <i>Langerhans</i> perlakuan P2 (pembesaran 1000 kali dengan pewarnaan HE) .....	26
4.5. Gambaran mikroskopis sel pulau <i>Langerhans</i> perlakuan P3 (pembesaran 1000 kali dengan pewarnaan HE) .....	26
4.6. Gambaran mikroskopis sel pulau <i>Langerhans</i> perlakuan P4 (pembesaran 1000 kali dengan pewarnaan HE) .....	27

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Jumlah sel pulau <i>Langerhans</i> kelenjar pankreas .....	41
2. Analisa jumlah sel pulau <i>Langerhans</i> dengan SPSS .....	43
3. Perhitungan dosis pemberian aloksan dan Jintan Hitam .....	46
4. Skema rangkaian pembuatan preparat histologi dengan metode Hematoxylin Eosin (HE) .....	48
5. Bagan pembuatan ekstrak ethanol .....	49
6. Alat dan bahan .....	50

## SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

$\alpha$	=	alfa
$\beta$	=	beta
$\delta$	=	delta
ANOVA	=	<i>Analysis of Variance</i>
bb	=	berat badan
EDTA	=	<i>ethylenedieminetetraasetat Acid</i>
DM	=	<i>Diabetes mellitus</i>
DNA	=	<i>deoxyribonucleic acid</i>
GPx	=	<i>Gluthathione peroxidase</i>
IP	=	Intra Peritoneal
H <sub>2</sub> O	=	<i>hydrogen oxide</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	=	<i>hidrogen peroxidase</i>
HE	=	<i>Hematoksilin Eosin</i>
ICA	=	<i>Islet Cell Antibody</i>
IDDM	=	<i>Insulin Dependent Diabetes Mellitus</i>
MDA	=	<i>Malondialdehyd</i>
NaCl	=	<i>Natrium Chlorida</i>
NIDDM	=	<i>Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus</i>
NO <sup>•</sup>	=	<i>nitric oxide</i>
RAL	=	Rancangan Acak Lengkap
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	=	<i>superoxide anion radical</i>
OH <sup>•</sup>	=	<i>hydroxyl oxide</i>
ONOO <sup>-</sup>	=	<i>peroxinitrite anion</i>
SOD	=	<i>superoxide dismutase</i>
SPSS	=	<i>Statistic Procedure Service Solution</i>

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu kumpulan kelainan dengan gejala intoleransi glukosa yang disertai dengan gejala akut seperti poliuria (banyak kencing), polidipsia (banyak minum), polifagia (banyak makan) serta penurunan berat badan ataupun gejala kronik seperti gangguan primer yang terletak pada metabolisme dan gejala sekunder pada metabolisme lemak dan protein (Tjokroprawiro, 2003).

Sama seperti halnya manusia, DM juga dapat terjadi pada hewan. DM merupakan penyakit endokrin yang paling banyak menyerang anjing dan kucing di berbagai umur. Kejadian terbesar DM pada anjing terjadi sekitar umur tujuh sampai sembilan tahun sedangkan pada kucing terjadi diatas umur enam tahun, namun kejadian penyakit pada anjing lebih tinggi dari pada kucing (Pineda and Dooley, 2003). Faktor genetik merupakan penyebab utama kasus DM pada anjing sedangkan pada kucing tidak hanya dipengaruhi oleh faktor genetik, tetapi juga berat badan, dan makanan (Labak, 2006).

Pengobatan DM yang belum tuntas mengakibatkan penyakit ini dapat kambuh berulang-ulang sehingga dampak ekonomi bagi pemilik hewan jelas terlihat pada tingginya biaya pengobatan karena banyaknya komplikasi seperti kebutaan dan penyakit vaskular (Price and Wilson, 2005). DM, dalam jangka panjang dapat menyebabkan *cardiomyopathy*, gagal jantung, *atherosclerosis*, *microangiopathy*, *nephropathy*, *retinopathy* dan *neuropathy* (Mansi, 2006).



Pengobatan penyakit DM meliputi diet diabetes, latihan fisik, obat hipoglikemi, (antidiabetik oral dan insulin) dan cangkok pankreas (Tjokroprawiro, 2003). Obat yang sering digunakan sebagai terapi DM adalah golongan sulfonilurea dan biguanid (Nolte and Karam, 2004). Penggunaan obat dan hormon biasanya berlangsung lama dan efek samping yang ditimbulkan cukup besar diantaranya terjadi resistensi terhadap insulin (Nelson, 2000).

Pemberian obat antidiabetik juga tidak bisa menuntaskan penyakit tetapi hanya mencegah terjadinya komplikasi penyakit lain dikarenakan kerja obat tidak memperbaiki sel- $\beta$  pankreas yang rusak akibat radikal bebas, melainkan menstimulasi pelepasan insulin dari sel- $\beta$  pankreas (Adnyana dkk, 2004). Antioksidan sangat penting untuk menetralsir dan melindungi sel-sel tubuh termasuk sel  $\beta$  dari radikal bebas (Hilman, 2005).

Jintan hitam memiliki bahan aktif yang kompleks dengan kandungan utama *thymoquinon* yang berfungsi sebagai antioksidan. Jintan hitam digunakan sebagai terapi DM karena mampu melindungi tubuh dengan cara mengurangi tingkat *oxidative stress* dan menjaga integritas sel  $\beta$  pankreas, (Kanter *et al.*, 2004). Kandungan *thymoquinon* dalam jintan hitam telah menunjukkan efek terapi yang menguntungkan. Khanam *et al.* (2009), menyatakan bahwa jintan hitam berfungsi sebagai antimikrobia, antidiabetik, antinefrotoksik, dan anti lemak.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Khanam and Dewan (2008), menggunakan jintan hitam dengan dosis 10 g/kg bb pada tikus putih yang diinduksi streptozotocin menunjukkan adanya penurunan konsentrasi gula darah dan menurunkan jumlah kerusakan sel  $\beta$ .

Penelitian ini menggunakan aloksan sebagai bahan diabetogen serta menggunakan ekstrak jintan hitam dengan dosis minimal, standart, dan maksimal dengan acuan dosis 10 g/kg bb sebagai dosis standart.

Berdasarkan latar belakang permasalahan tersebut, maka akan dilakukan penelitian tentang manfaat ekstrak jintan hitam terhadap jumlah sel pulau *Langerhans* tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *diabetes mellitus*.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan di atas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

Apakah pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sattiv*) dapat memperbaiki kerusakan sel pulau *Langerhans* tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *diebetes mellitus*?

## 1.3. Landasan Teori

*Diabetes mellitus* (DM) tipe I adalah diabetes yang bergantung pada insulin dimana tubuh kekurangan hormon insulin, dikenal dengan istilah Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM). DM tipe ini disebabkan oleh hilangnya atau rusaknya fungsi sel  $\beta$  pankreas sebagai penghasil insulin. Individu yang peka secara genetik akan memberikan respon berupa infeksi virus dengan memproduksi autoantibodi terhadap sel  $\beta$ . Gambaran histologi pulau *Langerhans* penderita DM terlihat hilang atau berkurangnya jumlah sel  $\beta$  dan mengecilnya ukuran pulau *Langerhans* (Pineda and Dooley, 2003).

Ada dua cara yang sering digunakan untuk mengkondisikan terjadinya defisiensi insulin pada hewan coba khususnya tikus, yaitu dengan mengambil pankreas (pankreatektomi) dan dengan pemberian alloksan (Ganong, 2001). Penelitian ini menggunakan Alloksan sebagai pemicu terjadinya DM. Alloksan merupakan radikal bebas yang secara cepat dan selektif merusak sel-sel  $\beta$  pankreas penghasil insulin yang mengakibatkan kondisi *diabetes mellitus* eksperimental tipe 1 pada hewan coba (Lenzen, 2008).

Barus (2008) menunjukkan adanya peningkatan kadar gula darah mulai hari ke-2 induksi alloksan, pada hari ke-4 peningkatan glukosa darah mencapai 200 mg/dl. Menurut Kusumawati (2004), kadar glukosa darah tikus normal berkisar 50 mg/dl-135 mg/dl. Tikus dinyatakan menderita diabetes jika kadar glukosa darahnya melebihi 135 mg/dl. Hasil ini menunjukkan bahwa alloksan memberi efek kenaikan gula darah yang tinggi pada hari ke-4 atau lebih tepatnya 96 jam setelah induksi alloksan. Kenaikan gula darah yang tinggi diasumsikan bahwa telah terjadi kerusakan sel  $\beta$  oleh alloksan.

Pemberian dosis alloksan secara intravena yang biasa digunakan untuk menginduksi diabetes pada tikus adalah 65 mg/kg bb, sedangkan secara intraperitoneal atau subkutan dosis *efektifnya* 2-3 kali lebih tinggi (Szkudelski, 2001). Alloksan memberikan efek DM setelah 96 jam pada hewan coba yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah (Ahmed *et al.*, 2005).

Salah satu tanaman yang memiliki kandungan antioksidan tinggi adalah jintan hitam (Ilaiyaraja and Khanum, 2010). Jintan hitam mengandung

*thymoquinone* yang berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mencegah terjadinya kerusakan sel akibat radikal bebas (El-Dakhakhny *et al.*, 2002).

*Thymoquinone* di dalam jintan hitam dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti: *superoxide dismutase (SOD)*, *gluthanione peroxidase (GPx)* (Mansour *et al.*, 2002), katalase, glutathion-S-transferase, adenosinin deaminase, myeloperoksidase (Ilaiyaraja and Khanum, 2010) dan menggunakan efek terapi protektif dengan mengurangi oksidatif stres dan mempertahankan integritas sel  $\beta$  pankreas (Mansi, 2006).

#### 1.4. Tujuan

Membuktikan manfaat ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap jumlah sel pulau *Langerhans* tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *diabetes mellitus*.

#### 1.5. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bahwa jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat meningkatkan jumlah sel pulau *Langerhans* tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *diabetes mellitus*, sehingga jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat digunakan sebagai terapi alternatif bagi penderita DM.

#### 1.6. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah: Ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat meningkatkan jumlah sel pulau *Langerhans* tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *diabetes mellitus*.

## **BAB 2**

# **TINJAUAN PUSTAKA**

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

#### 2.1.1 Klasifikasi Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Sub Divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub kelas	: <i>Dialypetalae</i>
Ordo	: <i>Ranunculales</i>
Family	: <i>Ranunculaceae</i>
Genus	: <i>Nigella</i>
Spesies	: <i>Nigella sativa</i> (Hutapea, 1994).

#### 2.1.2 Morfologi jintan hitam

Tanaman jintan hitam (*Nigella sativa*) berasal dari daerah Mediterania namun saat ini telah dikembangbiakan di berbagai belahan dunia, termasuk Arab Saudi, Afrika Utara, dan sebagian Asia (Bashandy, 2006).

Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan spesies tumbuhan semak rendah yang termasuk dalam famili *Ranunculaceae* dikenal dengan berbagai sebutan lain seperti fennel flower, nutmeg flower, roman coriander, black cumin, black seed, black caraway, black onion seed, kalonji, habatussauda, dan habbat albarakah

(Biji barakah). Tumbuhan jintan hitam selama berabad-abad telah digunakan oleh orang Asia, Timur tengah, dan Afrika sebagai obat tradisional (Attia, 2008).

Tanaman *Nigella sativa* memiliki tinggi sekitar 20-30cm, berbatang halus, daunnya berbau segar, bunganya berwarna biru lembut dengan 5-10 kelopak, tumbuh liar sampai ketinggian 1100m di atas permukaan laut. Biasanya ditanam di daerah pegunungan, di halaman atau di ladang sebagai tanaman rempah - rempah. Buahnya berbentuk kapsul menggebu, terdiri dari 3-7 folikel, yang masing - masing berisi beberapa biji. Bentuk bijinya kerucut kecil dan berserabut, panjangnya tidak lebih dari 3mm. Memiliki aroma, bentuk yang sama seperti biji wijen, namun berwarna hitam. Bijinya digunakan untuk rempah - rempah dan obat - obatan (Khanam and Dewan, 2008).

### 2.1.3 Kandungan dan Khasiat

Kandungan dari *Nigella sativa* antara lain minyak volatil yang berwarna kuning (0,5 – 1,6%), minyak campuran (35,6 – 41,6%), *Thymoquinone*, *dithymoquinone*, *thymohydroquinone*, *thymol*, *carvacrol*, *t-anethol*, dan *4-terpineol*, protein (22,7%), asam amino seperti: albumin, globulin, lisin, leucin, isoleusin, valin, glycin, alanin, fenilalanin, arginin, asparagin, sistin, asam glutamat, asam aspartat, prolin, serin, threonin, tryptofan, dan tyrosin, gula reduksi, cairan kental, alkaloid, asam organik, tanin, resin, glukosida toksik, metarbin, melathin, serat, mineral seperti: Fe, Na, Cu, Zn, P, Ca, dan vitamin seperti asam ascorbat, tiamin, niasin, piridoksin, asam folat. Selain itu juga mengandung asam lemak seperti asam linoleat (50%), asam oleat (25%), asam

palmitat (12%), asam stearat (2,84%), 0,34% asam linolenat (0,34%), asam miristat (0,35%) (Sopia, 2009).

Berbagai penelitian telah memperlihatkan efek *Nigella sativa* sebagai antioksidan, analgesik, antipiretik, antihipertensi, bronkodilator, antibakteri, imunomodulator, antiulkus, anti jamur, antihelminthes, berpotensi meningkatkan sistem kekebalan tubuh, antitumor, antidiabetik, efek menurunkan kadar lemak, menurunkan kolesterol, menurunkan triglyserida, menurunkan lemak total, meningkatkan serum insulin yang berefek sebagai hipoglikemik, menghambat nekrosis hepar, renoprotektif, dan menaikkan konsentrasi T3 serum yang menurun serta mempunyai efek yang berpengaruh terhadap sistem saraf (Mansi, 2006; Khanam *et al.*, 2009).

Kandungan terbanyak jintan jhitam adalah *tymoquinone*. Secara khusus *tymoquinone* memiliki efek anti oksidan, antimikroba, hipoglikemik, antitumor, efek hepatoprotektif, inhibisi generasi eikosanoid dan peroxidasi membrane lipid, efek antinociceptive dan kontrasepsi post koitus pada tikus (Thippeswamy and Naidu, 2005).

*Thymoquinone* dalam jintan hitam dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan di dalam tubuh seperti: *superoxide dismutase (SOD)*, *gluthanione peroxidase (GPx)* (John Wiley and Sons, 2002), *catalase*, *glutation-S-transferase*, *adenosinin deaminase*, *myeloperoxidase* (Ilaiyaraja and Khanum, 2010) dan menggunakan efek terapi protektif dengan mengurangi oksidatif stres dan mempertahankan integritas sel  $\beta$  pankreas (Mansi, 2006).



## 2.2 Diabetes mellitus

### 2.2.1 Definisi

Diabetes Melitus (DM) adalah keadaan hyperglikemia (kadar gula darah tinggi) yang kronik disertai berbagai kelainan metabolik akibat gangguan hormonal, dimana organ pankreas tidak mampu memproduksi hormon insulin sesuai kebutuhan tubuh (Tjokroprawiro, 2003).

Gambaran histologinya, hilangnya semua atau hampir hilang semua sel  $\beta$  dan mengecilnya ukuran dari pulau-pulau *Langerhans*. Kasus insulin-dependent diabetes mellitus dapat ditandai dengan berkurangnya jumlah pulau-pulau *Langerhans* terutama sel  $\beta$  (Pineda and Dooley, 2003). Rusaknya sel-sel  $\beta$  pankreas mengakibatkan kondisi diabetes mellitus tipe 1 pada hewan khususnya anjing (Lenzen, 2008).

Berdasarkan etiologinya, diabetes mellitus diklasifikasikan menjadi dua, yaitu *insulin-dependent diabetes mellitus* (IDDM) atau diabetes mellitus tipe I dan *non-insulin-dependent mellitus* (NIDDM) atau diabetes mellitus tipe II (Hasmono dkk, 2005).

Diabetes mellitus tipe I adalah diabetes yang bergantung pada insulin dimana tubuh kekurangan hormon insulin, dikenal dengan istilah Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) (Price and Wilson, 2005).

Etiologi Diabetes Mellitus tipe 1 hingga kini masih belum dapat disepakati oleh para ahli. Namun hampir semua berpendapat adanya destruksi sel  $\beta$  pulau *Langerhans*, yang diakibatkan oleh proses autoimun terhadap sel  $\beta$  (Gustaviani, 2007). Secara patologi terlihat adanya peradangan sel  $\beta$  (insulitis) yang ditandai

dengan adanya infiltrasi makrofag dan limfosit T teraktivasi di sekitar dan di dalam sel islet, kadang, dijumpai virus yang merusak sitoplasma sel. Kerusakan tersebut akan menyebabkan terbentuknya antibodi ICA (Islet Cell Antibody) yang mengganggu produksi insulin. Insulitis hanya menyerang sel  $\beta$ , biasanya sel alfa dan sel delta tetap utuh (Foster, 2000).

Diabetes mellitus tipe II umumnya lebih bersifat genetik, merupakan ketidakmampuan tubuh menghasilkan insulin yang bersifat relatif dimana hormon insulin dalam tubuh tidak dapat berfungsi dengan semestinya, dikenal dengan istilah Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM). Diabetes jenis ini mencakup lebih dari 90% dari semua populasi diabetes (Price and Wilson, 2005).

Kadar insulin normal atau meningkat yang disebabkan oleh sekresi insulin abnormal, resistensi sel terhadap insulin atau berkurangnya sensitifitas (respon) sel dan jaringan tubuh terhadap insulin juga dijumpai pada Diabetes mellitus tipe II, yang ditandai dengan meningkatnya kadar insulin di dalam darah (Yuriska, 2009). Penyebab genetik diabetes mellitus tipe II pada kucing dan hewan domestik lainnya sangat jarang dan tidak terbukti (Pineda and Doodley, 2003). Penderita diabetes yang obesitas, kelainan primernya adalah resistensi insulin di jaringan perifer seperti otot dan lemak sehingga terjadi peningkatan kebutuhan insulin, sedangkan pada penderita yang non obesitas kelainan primernya berupa kerusakan sel  $\beta$  dan kelainan sekundernya di jaringan perifer (Foster, 2000).

Insulin adalah salah satu hormon yang diproduksi oleh pankreas yang bertanggung jawab untuk mengontrol kadar gula dalam darah dan insulin dibutuhkan untuk merubah (memproses) karbohidrat, lemak, dan protein menjadi

energi yang diperlukan tubuh manusia. Hormon insulin berfungsi menurunkan kadar gula dalam darah (Karam, 1998).

### **2.2.2 Gejala Klinis**

Gejala klinis dari diabetes mellitus tipe I pada hewan antara lain kondisi polidipsia, poliuria, berat badan menurun, asthenia (kelemahan tubuh akibat tidak dapat menggunakan glukosa sebagai sumber energi), dan dehidrasi (Mansi, 2006). Gejala lain yang mungkin muncul adalah kesemutan, kelainan kulit seperti gatal, bisul yang sulit sembuh; kelainan mata seperti mata kabur, gangguan refraksi mata, diplopia, mulut kering (Gustaviani, 2007).

Pasien dengan penyakit kronis dan disertai ketoasidosis dapat meninggal jika tidak segera diobati. Sebaliknya, pasien dengan diabetes mellitus tipe II mungkin tidak memperlihatkan gejala apapun. Diagnosis hanya dibuat berdasarkan tes toleransi glukosa dan pemeriksaan darah di laboratorium (Schteingart, 2003).

## **2.3 Pankreas**

Pankreas merupakan salah satu kelenjar mayor dalam pencernaan yang memproduksi enzim-enzim yang penting bagi proses pencernaan (Schmidt-Nielsen, 1994). Bentuk pankreas berupa lobus-lobus berwarna merah muda sampai keabu-abuan dan merupakan kelenjar tubulo-alveolar yang berlokasi di daerah duodenum, yakni retroperitoneal di dalam rongga abdomen dimana bagian caputnya terletak pada bagian cekung duodenum dan bagian kaudanya menyentuh

limpa. Pankreas memiliki dua fungsi utama yaitu eksokrin dan endokrin (Lindseth, 2003).

Fungsi eksokrin pankreas berperan dalam mensintesis dan mensekresi enzim-enzim pencernaan seperti *pancreoenzym*, amylase, lipase, dan trypsin. Enzim yang terkandung dalam cairan pankreas ini dibutuhkan untuk mencerna berbagai macam substrat pada makanan (Amindariati, 2003). Sekresi enzim-enzim ini dikendalikan oleh hormon pankreas dan gastrointestinal (Pineda and Dooley, 2003).

Fungsi endokrin pankreas berperan dalam memproduksi hormon-hormon yang berpengaruh terhadap metabolisme glukosa. Sel-sel endokrin pankreas pengelompok dalam pulau pankreas (pulau *Langerhans*). Bentuknya bervariasi, umumnya bulat atau lonjong, bercampur dengan parenkim pankreas yang bersifat eksokrin. Sel-sel pulau tersebut tersusun dalam bentuk bingkai dan saling beranastomose secara tidak teratur dan terdiri dari lima sel yang berbeda, yakni : sel A ( $\alpha$ ), sel B ( $\beta$ ), sel C, sel D ( $\delta$ ) dan sel F (Dellmann and Carithers, 1996). Pulau *Langerhans* pankreas jika dilihat melalui mikroskop akan terlihat batas koloni sel dikelilingi oleh jaringan eksokrin yang lebih gelap seperti gambar 2.1 (Ahmed *et al.*, 2005).



Gambar 2.1 : Sel pulau *Langerhans* dengan pewarnaan HE perbesaran 400x (Ahmed *et al.*, 2005).

Keterangan : IL = *Islet Langerhans* (pulau *Langerhans*)

Sel A bertugas mensekresikan glukagon, terletak pada bagian tepi dan mengisi 5-30% dari pulau *Langerhans*. Glukagon bekerja pada beberapa jaringan, termasuk jaringan hepar untuk menghasilkan energi yang disimpan sebagai glikogen dan lemak yang didapat melalui glikogenolisis dan lipolisis sehingga meningkatkan glukosa dalam darah (Dellmann and Carithers, 1996).

Sel B terletak pada bagian tengah pulau dan mengisi 60-80% pulau *Langerhans* serta bertugas mensekresikan insulin. Sel  $\beta$  pada mamalia merupakan sel yang paling banyak. Sel-sel ini mengandung insulin, sehingga dapat secara khas dicat dengan pseudoisosiasin. Kandungan insulin dalam sel  $\beta$  dapat dilihat dengan teknik imunofluorensi (Turner and Bagnara, 1988).

Sel C dalam pulau pankreas dianggap sebagai sel-sel perkusor (sel pendahulu) yang belum masak dibanding sel-sel lainnya (Dellmann and Carithers, 1996). Sel C tidak memberi reaksi positif terhadap pewarna dengan mikroskop cahaya dan hanya dapat diidentifikasi samar-samar dengan mikroskop elektron.

Sel D jarang ditemukan pada pulau *Langerhans*. Sel ini bertugas mensintesis somatostatin yang diduga mampu menghambat sekresi insulin dan glukagon oleh sel lain melalui kerja parakrin (Tjay dan Rahardja, 2007).

Disamping sel A ( $\alpha$ ), sel B ( $\beta$ ), sel C, dan sel D ( $\delta$ ) terdapat populasi yang heterogen dari sel-sel berbutir kecil, dianggap sebagai pendahulu dari berbagai macam sel yang menghasilkan berbagai macam hormon astroentero-pankreatik. Sel-sel tersebut dikenal sebagai sel F. Sel F bertugas menghasilkan *pancreatic polipeptide* yang merangsang sekresi gastrik dan menghambat motilitas usus dan sekresi empedu (Tjay dan Rahardja, 2007).

## 2.4 Alloksan

Alloksan adalah suatu substrat yang secara struktural merupakan derivat pirimidin sederhana, diperkenalkan sebagai hidrasi alloksan pada larutan encer. Nama alloksan diperoleh dari penggabungan kata allantoin dan oksalurea (asam oksalurik). Rumus kimia alloksan adalah  $C_4H_2N_2O_4$ . Alloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat. Nama lain alloksan adalah 2,4,5,6-tetraoxypyrimidin; 2,4,5,6-primidinetetron; 1,3-Diazinan-2,4,5,6-tetron (IUPAC) dan asam Mesoxalylurea 5-oxobarbiturat (Watkins *et.al* , 2008).

### 2.4.1 Pengaruh Alloksan terhadap Sel $\beta$ Pankreas

Alloksan dapat diberikan secara parenteral seperti intravena, intraperitoneal atau subkutan pada hewan coba. Dosis yang diperlukan untuk menginduksi diabetes tergantung pada hewan coba yang digunakan, rute

administrasi dan status nutrisi. Pemberian dosis secara intravena yang biasa digunakan untuk menginduksi diabetes pada tikus adalah 65 mg/kg bb, sedangkan secara intraperitoneal atau subkutan dosis efektifnya 2-3 kali lebih tinggi (Szkudelski, 2001).

Alloksan dapat menyebabkan DM pada tikus (alloksan diabetes) dengan karakteristik mirip dengan Diabetes Melitus tipe 1 pada manusia dikarenakan bersifat toksik selektif terhadap sel  $\beta$  pankreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya alloksan secara khusus melalui transporter glukosa yaitu GLUT2 (Filipponi *et al.*, 2008).

Mekanisme aksi dalam menimbulkan kerusakan selektif sel  $\beta$  pankreas belum diketahui dengan jelas. Efek diabetogeniknya bersifat antagonis terhadap glutathion. Alloksan bereaksi dengan merusak sel  $\beta$  pankreas sehingga menyebabkan berkurangnya granula-granula pembawa insulin. Tingginya konsentrasi alloksan tidak mempunyai pengaruh pada jaringan lain (Watkins *et al.*, 2008; Suharmiati, 2003).

Aksi sitotoksik alloksan dimediasi oleh radikal bebas. Aksi toksik alloksan pada sel  $\beta$  diinisiasi oleh radikal bebas yang dibentuk oleh reaksi redoks. Alloksan dan produk reduksinya, asam dialurik, membentuk siklus redoks dengan formasi radikal superoksida. Radikal ini mengalami dismutasi menjadi hydrogen peroksida. Radikal hidroksil dengan kereaktifan yang tinggi dibentuk oleh reaksi Fenton. Aksi radikal bebas dengan rangsangan tinggi meningkatkan konsentrasi kalsium sitosol yg menyebabkan destruksi cepat sel  $\beta$  (Filipponi *et al.*, 2008).

Penelitian terhadap mekanisme kerja alloksan secara invitro menunjukkan bahwa alloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria mengakibatkan homeostasis yang merupakan awal dari matinya sel (Suharmiati, 2003).

## 2.5 Tikus

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) lebih umum digunakan sebagai percobaan dalam laboratorium untuk penelitian sebab mempunyai sensitifitas yang tinggi terhadap sebagian obat (Prabowo, 1997). Tikus putih lebih mudah dipegang, dikendalikan, dan dapat diambil darahnya dalam jumlah yang relatif besar jika dibandingkan dengan mencit. Selain itu organ - organ tubuh tikus relatif lebih besar sehingga materi dapat diberikan dengan mudah melalui berbagai rute (Kusumawati, 2004).

Pankreas berlokasi di daerah duodenum, yakni retroperitoneal di dalam rongga abdomen dimana bagian caputnya terletak pada bagian cekung duodenum dan bagian kaudanya menyentuh limpa. Berdasarkan gambaran anatominya, pankreas tikus dibagi menjadi beberapa segmen didasarkan pada lokasi duktus dan sistem vaskular. Jumlah duktusnya berbeda antar tikus, sekitar 15-40 saluran ekskretori bergabung membentuk sedikitnya 2 dan sebanyak-banyaknya 8 duktus utama (Permata, 2006). Pankreas pada tikus dewasa berisi kira-kira 1-2% pulau *Langerhans* dengan diameter antara 100-200  $\mu\text{m}$  (Boorman & Beth 1999).



## **BAB 3**

# **MATERI DAN METODE**

## **BAB 3 MATERI DAN METODE**

### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

#### **3.1.1 Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di kandang Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan histopatologi pankreas di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

#### **3.1.2 Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Mei – Juni 2011. Waktu penelitian yang dibutuhkan adalah enam minggu.

### **3.2 Bahan dan Materi Penelitian**

#### **3.2.1 Hewan Coba**

Hewan coba yang digunakan adalah 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang sehat berumur dua sampai tiga bulan dengan berat badan antara 100 - 150 gram.

#### **3.2.2 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan adalah jintan hitam murni yang diperoleh di pasar tradisional yang telah diekstraksi di laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga sehingga didapatkan kandungan ekstrak

ethanol jantan hitam 1gr/ml, alloksan produksi Sigma Chemical Co, makanan tikus berupa pakan pellet ayam 521 buatan Charoen Phokpan, air minum, sekam untuk alas kandang, alkohol 70%, chloroform, NaCl fisiologis, formalin 10%, kertas label.

### 3.2.3 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan adalah lima buah kandang tikus dari plastik polipropilen berukuran 40 x 60 cm dengan tutup dari kawat kasa, tempat pakan, botol air minum, timbangan berat badan, timbangan digital, jarum suntik 21G untuk penyuntikan alloksan, sonde lambung (jarum suntik 26G, *syringe* 3 cc ), alat bedah ( gunting, scalpel dan pinset ), pot organ, kapas steril, sarung tangan.

## 3.3 Metode Penelitian

### 3.3.1 Persiapan Hewan Coba

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan berjumlah 25 ekor dimasukkan ke dalam lima buah kandang bak plastik berukuran 40 x 60 cm. Masing-masing kandang diisi lima ekor hewan coba yang dipilih secara acak dengan metode *simple randomized* ( lotre ). Hewan coba diadaptasikan dalam kondisi yang relatif sama selama satu minggu dengan pemberian pakan dan minum secara *ad libitum*.

### 3.3.2 Penentuan Dosis

Dosis alloksan yang diberikan kepada tikus putih agar menderita diabetes melitus tipe 1 yaitu 150 mg/kg bb diberikan secara intraperitoneal satu kali dalam

masa penelitian (Chougale, *et al.*, 2007). Aloksan memberikan efek diabetes mellitus setelah 96 jam pada hewan coba yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah (Ahmed *et al.*, 2005). Induksi diabetes eksperimental menggunakan aloksan yang dilarutkan dalam NaCl fisiologis (0,9 %) (Prabowo, 1997). Pemilihan dosis jintan hitam yang digunakan pada hewan coba menggunakan prinsip dosis minimal, standar dan maksimal. Dosis jintan hitam yang diberikan kepada tikus putih yaitu 10 g/kg bb satu kali sehari sebagai dosis standar (Khanam and Dewan, 2008), sedangkan dosis 5 g/kg bb sebagai dosis minimal dan 15 g/kg bb digunakan sebagai dosis maksimal yang didapatkan dari hasil perhitungan dengan menggunakan logaritma dosis.

### 3.3.3 Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Tikus putih sebanyak 25 ekor diadaptasikan terhadap lingkungan selama tujuh hari, ditimbang berat badannya kemudian dibagi secara acak dengan cara lotre berdasarkan lima perlakuan berikut :

- P0 : Tikus putih diinjeksi NaCl fisiologis 1 cc secara intraperitoneal.
- P1 : Tikus putih diinduksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg bb secara intraperitoneal.
- P2 : Tikus putih diinduksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg bb dan diberi jintan hitam dosis 5 g/kg bb.
- P3 : Tikus putih diinduksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg bb dan diberi jintan hitam dosis 10 g/kg bb.

P4 : Tikus putih diinduksi alloksan dengan dosis 150 mg/kg bb dan diberi jintan hitam dosis 15 g/kg bb.

P0 merupakan kontrol negatif sedangkan P1 merupakan kontrol positif. Penyuntikan alloksan dilakukan satu kali dalam masa penelitian, yaitu setelah masa adaptasi hanya pada kelompok P1, P2, P3, dan P4. Ekstrak jintan hitam mulai diberikan 96 jam setelah penyuntikan alloksan. Pemberian ekstrak jintan hitam dilakukan sekali dalam sehari setiap sore hari pada kelompok P2, P3, dan P4 selama 14 hari secara peroral.

Semua hewan coba di *euthanasi* secara inhalasi dengan ether. Pengambilan pankreas dilakukan dengan pembedahan kemudian dimasukkan kedalam pot plastik yang berisi formalin 10 %. Pembuatan preparat dengan menggunakan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) dilakukan di laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Sediaan histopatologi selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

#### **3.3.4 Metode Penghitungan Preparat Histopatologi**

Penghitungan sel pulau *Langerhans* kelenjar pankreas dilakukan dengan cara pengambilan lima irisan kelenjar pankreas dalam sediaan histopatologi untuk tiap ulangan dalam satu perlakuan. Masing-masing irisan kelenjar pankreas dipilih secara acak dua pulau *Langerhans* kemudian dihitung jumlah sel pulau *Langerhans*nya. Tiap ulangan dalam satu perlakuan dilakukan enam kali penghitungan. Rerata masing-masing ulangan dijumlah dan dirata - rata lagi sehingga diperoleh rerata jumlah sel satu perlakuan (Prabowo, 1997).

Jumlah sel yang diamati dalam penelitian ini adalah jumlah sel pulau *Langerhans* keseluruhan tanpa melihat tipe sel yang ada didalamnya karena teknik pewarnaan HE tidak dapat membedakan jenis sel yang ada secara spesifik. Sel pulau *Langerhans* yang dihitung adalah sel normal yaitu yang masih memiliki inti dan sitoplasma serta jelas batas selnya, sedangkan sel yang mengalami kerusakan, intinya tak berbentuk ataupun sudah hilang tidak dihitung.

### 3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap ( RAL ) dengan lima perlakuan dan lima ulangan

### 3.5 Variabel yang Diamati

Variabel bebas : Dosis pemberian ekstrak jintan hitam.

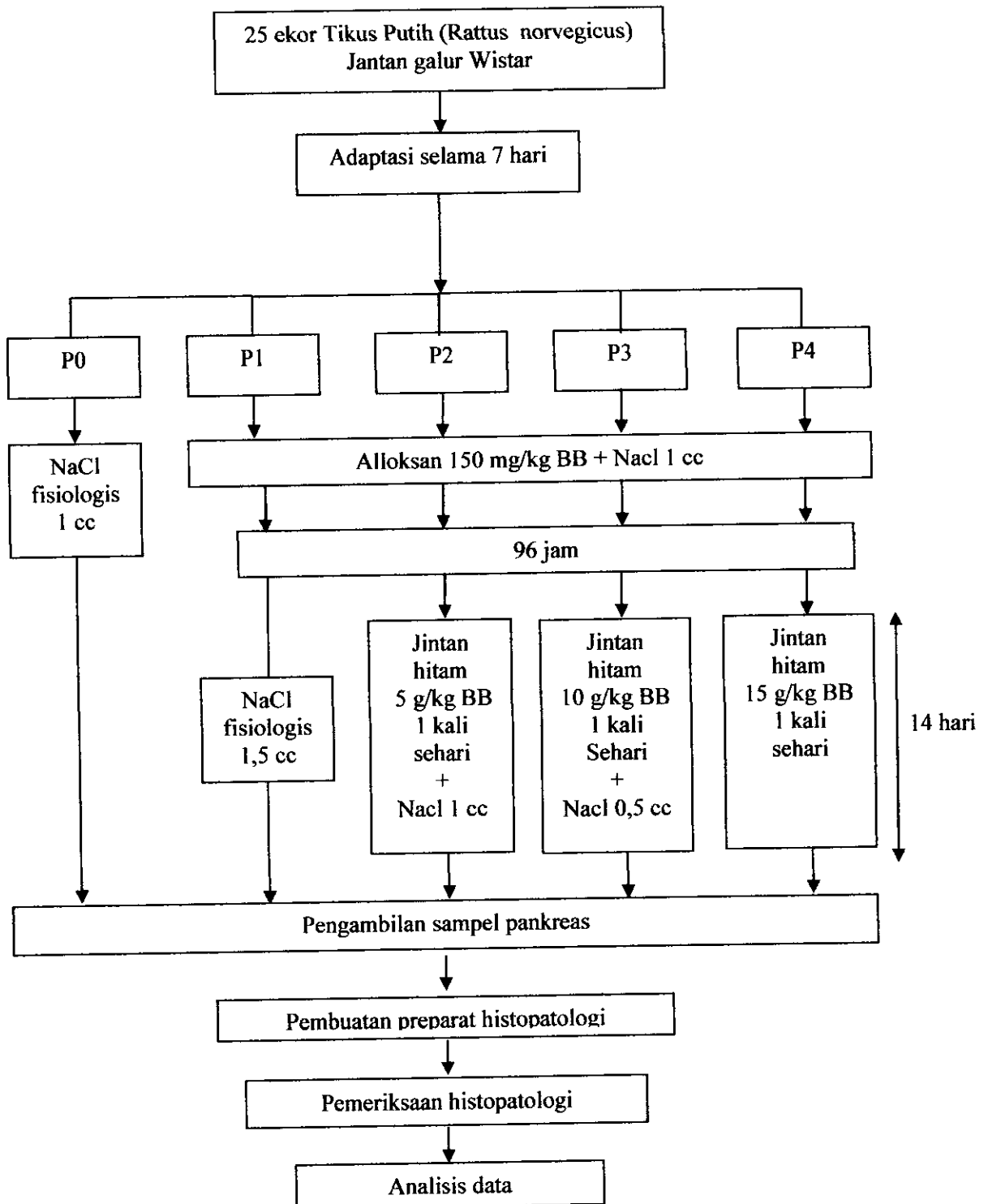
Variabel tergantung : Jumlah sel pulau *Langerhans* yang normal.

Variabel terkendali : Pakan, jenis kelamin, berat badan dan umur tikus putih (*Rattus norvegicus*).

### 3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *Analisis of Variance* (ANOVA) dengan uji F pada tingkat kepercayaan 5% dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan dengan taraf signifikansi 5% (Kusriningrum, 2010). *Analysis of Variance* (ANOVA) maupun Uji Jarak Duncan dilakukan dengan menggunakan fasilitas SPSS versi 18 *for windows*.

### 3.7 Alur Kerja Penelitian



Gambar 3.1. Skema alur kerja penelitian

## **BAB 4**

# **HASIL PENELITIAN**



## BAB 4 HASIL PENELITIAN

Hasil pemeriksaan histopatologi pankreas tikus yang telah diberikan perlakuan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dosis 5 g/kg bb, 10 g/kg bb, 15 g/kg bb, menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah sel pulau *Langerhans* ( $P < 0,05$ ). Hasil analisis jumlah sel pulau *Langerhans* tikus putih (*Rattus norvegicus*) terlihat pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1. Rerata jumlah sel pulau *Langerhans* ± SD (standart deviasi) tikus putih (*Rattus norvegicus*)**

Perlakuan	Jumlah ulangan	Rerata jumlah sel ± SD
P0	5	97,668 <sup>a</sup> ± 6,90266
P1	5	48,366 <sup>c</sup> ± 13,51515
P2	5	75,966 <sup>b</sup> ± 9,13196
P3	5	92,326 <sup>a</sup> ± 10,65596
P4	5	70,032 <sup>b</sup> ± 11,77784

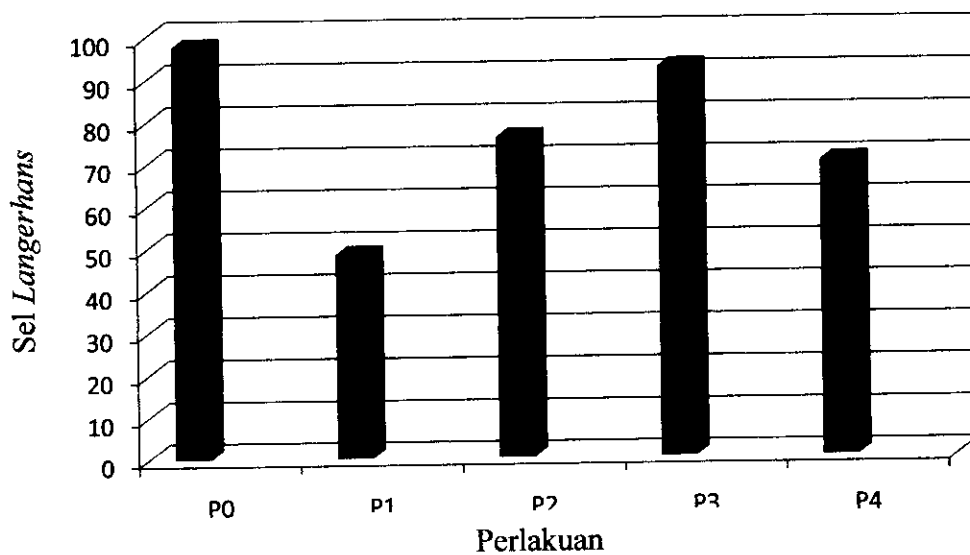
Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Keterangan :

- P0 : Kontrol negatif, induksi NaCl fisiologis
- P1 : Kontrol positif, induksi alloksan dosis 150 mg/kg bb
- P2 : Kelompok terkondisi DM (hasil induksi alloksan) setelah pengobatan dengan ekstrak jintan hitam dosis 5 g/kg bb perhari selama 14 hari.
- P3 : Kelompok terkondisi DM (hasil induksi alloksan) setelah pengobatan dengan ekstrak jintan hitam dosis 10 g/kg bb perhari selama 14 hari.
- P4 : Kelompok terkondisi DM (hasil induksi aloksan) setelah pengobatan dengan ekstrak jintan hitam dosis 15 g/kg bb perhari selama 14 hari.

Hasil uji statistik analisis varians satu arah (*One-way analysis of variant*) menunjukkan perbedaan yang nyata dikarenakan F hitung  $>$  F tabel ( $0,05$ ), dimana F hitung = 16,912 sedangkan F (tabel) ( $0,05$ ) = 2,87. Selanjutnya dilakukan uji jarak Duncan dengan hasil yang diperoleh menunjukkan, perlakuan P0 (Gambar 4.2)

dengan nilai tertinggi tidak berbeda nyata dengan P3 (gambar 4.5) tetapi berbeda nyata dengan P1,P2 dan P4. Perlakuan P1 berbeda nyata ( $P<0,05$ ) dengan P0,P2,P3 dan P4. Perlakuan P2 (Gambar 4.4) tidak berbeda nyata dengan P4 (Gambar 4.6) tetapi berbeda nyata dengan P0,P1 dan P3. Untuk memperjelas jumlah sel pulau *Langerhans* dari hasil penelitian ini diilustrasikan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Jumlah rerata sel pulau *Langerhans* tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada berbagai perlakuan

Hasil perlakuan P2,P3, dan P4 menunjukkan berkurangnya kerusakan pada pulau *Langerhans*, yaitu ditandai dengan banyaknya jumlah sel pulau *Langerhans* pada perlakuan dibandingkan dengan perlakuan P1 sebagai kontrol positif (Gambar 4.3). Hasil perlakuan jantan terbaik ditunjukkan pada perlakuan P3 yaitu jantan hitam dosis 10 g/kg bb dengan rerata jumlah sel pulau *Langerhans* 92,32 (gambar 4.5) tidak berbeda nyata dengan P0 sebagai kontrol negatif (Gambar 4.2).



Gambar 4.2. Gambaran mikroskopis sel pulau *Langerhans* perlakuan P0  
 (pembesaran 1000 kali dengan pewarnaan HE)

Keterangan: —→ pulau *Langerhans*  
 A= Sel mengalami nekrosis  
 B= Sel normal



Gambar 4.3. Gambaran mikroskopis sel pulau *Langerhans* perlakuan P1  
 (pembesaran 1000 kali dengan pewarnaan HE)

Keterangan: —→ pulau *Langerhans*



Gambar 4.4. Gambaran mikroskopis sel pulau Langerhans perlakuan P2 (pembesaran 1000 kali dengan pewarnaan HE)

Keterangan: —→ pulau *Langerhans*



Gambar 4.5. Gambaran mikroskopis sel pulau Langerhans perlakuan P3 (pembesaran 1000 kali dengan pewarnaan HE)

Keterangan: —→ pulau *Langerhans*



Gambar 4.6. Gambaran mikroskopis sel pulau Langerhans perlakuan P4  
(pembesaran 1000 kali dengan pewarnaan HE)

Keterangan: —→ pulau *Langerhans*

## **BAB 5**

# **PEMBAHASAN**

## BAB 5 PEMBAHASAN

Penelitian pendahuluan telah dilakukan Barus (2008) sebelumnya untuk mengetahui efek alloksan terhadap kadar gula darah sehingga benar dipastikan bahwa tikus tersebut mengalami hiperglikemia yang merupakan salah satu gejala *diabetes mellitus*. Hasil pemeriksaan glukosa darah yang dilakukan Rahma (2012), menunjukkan pemberian ekstrak jintan hitam pada perlakuan P3 dengan dosis 10 g/kg bb merupakan hasil yang terbaik dengan kadar glukosa darah mencapai 72,27 mg/dl, tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif (P0) yaitu 64,102 mg/dl. Kadar glukosa darah tertinggi didapatkan pada perlakuan P1 yaitu sebesar 127,432 mg/dl.

Hasil analisis data yang diperoleh P1 sebagai kontrol positif  $48,3660^c \pm 13,51515$ , menunjukkan adanya penurunan rata-rata jumlah sel pulau *Langerhans* dibandingkan dengan pada kelompok P0 sebagai kontrol negatif yaitu  $97,6680^b \pm 6,90266$ . Hasil ini membuktikan bahwa alloksan merupakan bahan diabetogenik yang bersifat merusak sel pulau *Langerhans* khususnya sel  $\beta$  pankreas. Perusakan sel  $\beta$  pankreas ini dibenarkan oleh Suharmiati (2006) yang menyatakan bahwa alloksan dapat menyebabkan hiperglikemia akibat dari rusaknya sel  $\beta$ .

Proses terjadinya diabetes mellitus tipe I yang disebabkan oleh alloksan diungkapkan oleh Takasu *et al* bahwa alloksan menstimulasi  $H_2O_2$  yang akan menghasilkan radikal hidroksil (OH) sehingga terjadi kerusakan DNA pada sel  $\beta$ . Rusaknya sel  $\beta$  akan menyebabkan insulin berkurang dan terjadi hiperglikemia. Dengan penjelasan yang singkat proses ini dapat disimpulkan :

Alloksan  $\rightarrow$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  $\rightarrow$  kerusakan DNA(sel  $\beta$ )  $\rightarrow$  DM tipe I

Dapat dilihat pada Tabel 4.1. bahwa pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam terhadap jumlah sel pulau *Langerhans* pada dosis 5 g/kg bb (P2) adalah  $75,9660^b \pm 9,13196$ , pada dosis 10 g/kg bb (P3) adalah  $92,3260^a \pm 10,65596$ , dan pada dosis 15 g/kg bb (P4) adalah  $70,0320^b \pm 11,77784$ . Perlakuan tanpa alloksan sebagai kontrol negatif jumlah selnya adalah  $97,6680^a \pm 6,90266$  dan perlakuan pemberian alloksan sebagai kontrol positif adalah  $48,3660^c \pm 13,51515$ .

Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis 10 g/kg bb (P3) efektif untuk memperbaiki sel pulau *Langerhans*. Hasil ini sejalan dengan penelitian Khanam and Dewan (2008), yang menyatakan bahwa terapi diabetes menggunakan jintan hitam dengan dosis 10 g/kg bb dapat memberikan proteksi yang signifikan terhadap sel  $\beta$  pankreas.

Perlakuan jintan hitam dengan dosis 5 g/kg bb (P2) dan 15 g/kg bb (P4) belum efektif jika digunakan sebagai dosis terapi DM, tetapi dosis tersebut dapat mengurangi kerusakan sel pulau *Langerhans*. Tidak efektifnya penggunaan dosis 5 g/kg bb (P2) sebagai dosis minimal dapat disebabkan karena kurang lamanya jangka waktu pemberian ekstrak jintan hitam. Jumlah sel pulau *Langerhans* pada perlakuan dosis 15 g/kg bb (P4) mengalami penurunan jika dibandingkan dengan perlakuan P3, hal ini dapat disebabkan karena dosis yang diberikan terlalu tinggi sehingga larutan menjadi pekat dan sulit dicerna oleh tikus (Hendrik, 2005).

Menurut Prayitno dan Batubara (2008), kecepatan absorpsi obat tergantung dari kecepatan obat melarut pada tempat absorpsi, derajat ionisasi, pH tempat absorpsi, dan sirkulasi darah di tempat obat melarut. Untuk preparat cair dan suspensi,



kekentalan (*viscosity*) yang tinggi dapat menghambat daya difusi molekul obat dari permukaan partikelnya, hal ini dapat memperlambat proses absorpsi.

Jintan hitam digunakan sebagai terapi karena memiliki kandungan antioksidan yang mampu melindungi tubuh dengan cara mengurangi tingkat *oxidative stress* dan menjaga integritas sel  $\beta$  pankreas, (Kanter *et al.*, 2004).

Hasil penelitian Abdelmeguid (2010), menekankan bahwa terapi jintan hitam dan *thymoquinon* efektif dalam mengurangi hiperglikemia pada tikus. Jintan hitam dan *thymoquinon* memiliki sifat antioksidan kuat dengan menghambat peroksidasi lipid dan meningkatkan aktivitas enzim *superoxide dismutase* (SOD) dan enzim antioksidan lainnya seperti *gluthanione peroxidase* (GPx), dan *catalase* serta melindungi sel  $\beta$  dari stres oksidatif sehingga terjadi perbaikan struktur selular dan subelular sel  $\beta$  yang mengakibatkan meningkatnya produksi insulin.

Alloksan dengan produk reduksinya yaitu asam dialurik menghasilkan radikal bebas akibat adanya auto oksidasi alloksan dengan  $O_2$ . Proses ini disertai dengan terbentuknya radikal superoksida ( $O_2^-$ ). Enzim SOD dapat mencegah terjadinya reaksi antara  $O_2^-$  (*superoxide anion radical*) dengan  $NO^-$  (*nitric oxide*) yang dapat menghasilkan  $ONOO^-$  (*peroxinitrite anion*) yang sangat toksik. Peningkatan aktivitas SOD menyebabkan meningkatnya jumlah  $H_2O_2$  (*hidrogen peroxidase*), namun *gluthanione peroxidase* (GPx) dan *catalase* akan bertindak menetralkan  $H_2O_2$  (*hidrogen peroxidase*) menjadi air ( $H_2O$ ). Hal ini yang menyebabkan konsentrasi intraseluler  $H_2O_2$  lebih stabil dan mencegah kemungkinan berubah menjadi  $OH^-$  (*hydroxyl oxide*) yang sangat berbahaya bagi sel-sel beta pankreas. Jika senyawa radikal bebas dapat dicegah maka sel beta

dapat memproduksi insulin untuk menjaga konsentrasi kadar glukosa darah agar tidak mengalami perubahan (Reiter *et al*, 2006). Menurunnya pembentukan radikal bebas, memberikan kesempatan bagi tubuh untuk melakukan regenerasi sel yang rusak atau mati melalui mekanisme pembentukan sel baru , sehingga jumlah sel  $\beta$  pankreas secara berangsur-angsur akan kembali normal (Luczaj and Skrzydlewska, 2004). Keadaan tersebut diatas akan berakibat pada peningkatan produksi insulin sehingga jumlah insulin akan cukup untuk menekan hiperglikemia ke keadaan normal.

Menurut Ilaiyaraja and Khanum (2010), penelitian tentang toksisitas akut dan kronis jintan hitam pada tikus tidak menunjukkan bukti adanya efek toksik sehingga jintan hitam dinilai aman untuk mengobati penyakit DM.

## **BAB 6**

# **KESIMPULAN DAN SARAN**

## BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan bahwa jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat meningkatkan jumlah sel pulau *Langerhans* tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *diabetes mellitus*.

### 6.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, peneliti menyarankan:

Ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat digunakan sebagai terapi alternatif bagi hewan penderita *diabetes mellitus* dengan dosis yang disesuaikan.

**RINGKASAN**

## RINGKASAN

Rizki Kriestya Mayasari. Manfaat Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Jumlah Sel Pulau Langerhans Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) yang diinduksi Diabetes Mellitus. Dibawah bimbingan Boedi Setiawan, M. P., drh sebagai pembimbing utama dan Tri Nurhajati, MS., drh sebagai pembimbing serta.

Diabetes melitus merupakan kondisi dimana sel  $\beta$  pada pulau *Langerhans* pankreas mengalami kerusakan, sehingga jumlah insulin yang disekresikan menurun. Kondisi tersebut tergolong diabetes melitus tipe I. Diabetes tipe ini disebabkan oleh hilangnya atau rusaknya fungsi sel  $\beta$  pankreas sebagai penghasil insulin. Individu yang peka secara genetik akan memberikan respon berupa infeksi virus dengan memproduksi autoantibodi terhadap sel  $\beta$ . Gambaran histologinya terlihat hilangnya atau berkurangnya jumlah sel  $\beta$  dan mengecilnya ukuran dari pulau-pulau Langerhans (Pineda and Dooley, 2003).

Jintan hitam memiliki bahan aktif yang kompleks dengan kandungan utama *thymoquinon* yang berfungsi sebagai antioksidan. Jintan hitam digunakan sebagai terapi DM karena mampu melindungi tubuh dengan cara mengurangi tingkat *oxidative stress* dan menjaga integritas sel  $\beta$  pankreas, (Kanter *et al.*, 2004). Kandungan *tyymoquinon* dalam jintan hitam telah menunjukkan efek terapi yang menguntungkan. Khanam *et.al* (2009), menyatakan bahwa jintan hitam berfungsi sebagai antimikrobia, antidiabetik, antinefrotoksik, dan anti lemak.

Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan galur wistar sebanyak 25 ekor yang sehat berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 100-150 gram yang kemudian diacak dan ditempatkan pada 5 kelompok perlakuan. Perlakuan I (P0) sebagai kontrol negatif diinjeksi NaCl fisiologis, perlakuan II (P1) sebagai kontrol positif diinduksi alloksan dosis 150 mg/kg bb, perlakuan III (P2) diinduksi alloksan dosis 150 mg/kg bb dan ekstrak jintan hitam dengan dosis 5 g/kg bb, perlakuan IV (P3) diinduksi alloksan dosis 150 mg/kg bb dan ekstrak jintan hitam dengan dosis 10 g/kg bb, perlakuan V (P4) diinduksi alloksan dosis 150 mg/kg bb dan ekstrak jintan hitam dengan dosis 15 g/kg bb. Pemberian jintan hitam dilakukan selama 14 hari.

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL). Analisis statistik yang digunakan adalah *analisis of variant* (ANOVA) kemudian dilanjutkan dengan uji jarak Duncan.

Hasil yang diperoleh menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah sel pulau langrhans ( $P < 0,05$ ). Perlakuan P0 dengan nilai tertinggi tidak berbeda nyata dengan P3 tetapi berbeda nyata dengan P1,P2 dan P4. Perlakuan P1 berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan P0,P2,P3 dan P4. Perlakuan P2 tidak berbeda nyata dengan P4 tetapi berbeda nyata dengan P0,P1 dan P3. Hasil perlakuan jintan terbaik ditunjukkan pada perlakuan P3 yaitu jintan hitam dosis 10 g/kg bb dengan rata-rata jumlah sel pulau Langerhans 92,32 tidak berbeda nyata dengan P0 sebagai kontrol negatif.

Berdasarkan hasil analisis data, dapat disimpulkan jintan hitam bermanfaat sebagai terapi pengobatan diabetes mellitus terpapar alloksan, yaitu ditandai

dengan banyaknya jumlah sel pulau Langerhans pada perlakuan P2,P3, dan P4 dibandingkan dengan perlakuan P1 sebagai kontrol positif. Pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis 10 g/kg bb merupakan dosis efektif untuk mempertahankan sel pulau *Langerhans*. Hasil ini sejalan dengan penelitian Khanam and Dewan (2008) yang menyatakan bahwa terapi diabetes menggunakan jintan hitam dengan dosis 10 g/kg bb dapat memberikan proteksi yang signifikan terhadap sel  $\beta$  pankreas. Perlakuan jintan hitam dengan dosis 5 g/kg bb dan 15 g/kg bb belum efektif jika digunakan sebagai dosis terapi DM, tetapi dosis tersebut dapat mengurangi kerusakan sel pulau *Langerhans*. Jumlah sel pada perlakuan dosis 15 g/kg bb mengalami penurunan jika dibandingkan dengan perlakuan P3, hal ini dapat disebabkan karena dosis yang diberikan terlalu tinggi sehingga larutan menjadi pekat dan sulit dicerna oleh tikus.

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan bahwa jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat memperbaiki kerusakan sel pulau *Langerhans* tikus putih (*Rattus norvegicus*) *diabetes mellitus* eksperimental.

Ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) dapat digunakan sebagai terapi alternatif bagi hewan penderita diabetes dengan dosis yang disesuaikan.



## DAFTAR PUSTAKA

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdelmeguid, N. E., Fakhoury, R., Kamal, S. M. And Al Wafai, R. J. 2010. Effects of *Nigella sativa* and thymoquinone on biochemical and subcellular changes in pancreatic  $\beta$ -cells of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes*, 2: 256–266.
- Adnyana, I.K., E., yulinah, A.A. Sumardji, E. Kumolosari, M.I. Iwo, J.I. Sigit, Suwendar. 2004. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Ethanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Unit Bidang Ilmu Farmakologi-Toksikologi Departemen Farmasi FMIPA ITB Bandung, vol. XXIX, No. 2. 43-49.
- Ahmed, S.M., V. Swamy, P. Gopkumar, and R. Dhapanal. 2005. Anti-diabetic Activity of Terminalia Cattapa Linn. Leaf Extract in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Iranian J. Pharm & Therapeutics*. <http://ijpt.iums.ac.ir> [30 September 2007]
- Amindariati, S. 2003. Histologi II. Universitas Airlangga. Surabaya. 2-3
- Attia, Y.A., A.E.R.E.T. El-Din, H.S. Zeweil, A.S. Hussein, E.S.M. Qota, and M.A. Arafat. 2008. The Effect of Supplementation of Enzyme on Laying and Reproductive Performance in Japanese Quail Hens Fed Nigella Seed Meal. *J. Poult. Sci*, 45: 110 – 115.
- Barus, H. 2008. Pengaruh Pemberian Melatonin Terhadap Gambaran Histopatologi Sel Pulau Langerhans Pankreas Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Eksperimental Diabetes Melitus Tipe I.[Skripsi] Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Bashandy, A.E.S. 2006. Effect of Fixed Oil *Nigella sativa* on Male Fertility in Normal and Hyperlipidemic Rats. *Intl. J. Pharmacol*. 2(1): 104-109.
- Boorman GA, Beth WG. 1999. *Pathology of the Mouse*. USA: Cache River Press.
- Chougale, A.D., S.N. Panaskar, P.M. Gurao, and A.U. Arvindeka. 2007. Optimization of Alloxan Dose is Essential to Induce Stable Diabetes for Prolong Period. *Asian Journal of Biochemistry*, 2: 402-408
- Dellmann, H.D., J.R. Carithers. 1996. *Cytology and Microscopic Anatomy*. Williams & Wilkins. USA. 217, 323-324.
- El-Dakhakhny M., N.J. Madi, N. Lambert, and H.P. Ammon. 2002. *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *J Ethnopharmacol* 81:161-164.

- Filipponi, P., F. Gregorio, S. Cristallini, C. Ferrandina, I. Nicoletti, and F. Santeusano. 2008. Selective Impairment of Pancreatic A Cell Suppression by Glucose During Acute Alloxan – Induced Insulinopenia: in Vitro Study On Isolated Perfused Rat Pancreas. [Internet]. [cited 2009 February 18]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3522213>
- Foster, D.W. Diabetes Mellitus. In: Isselbacher. K.J., E. Braunwald, J.D. Wilson, J.B. Martin, A.S. Fauci, and D.L. Kasper. 2000. Harrison Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam. Edisi 13. Vol 5. Alih bahasa: Asdie. A.H. Jakarta: ECG: 217-2196.
- Ganong, W.F. 2001. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi ke-20. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 480-485.
- Gustaviani, R. 2007. Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Mellitus. dalam : Sudoyo A.W., B. Setiyohadi , I. Alwi , M. Simadibrata , dan S. Setiati. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam . Edisi IV. Jilid III. Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, :1857 – 9.
- Hasmono, D., A.N. Arijanto, dan J. Khotib. 2005. Peran Protein Tirosin Fosfatase pada Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit ( *Mus musculus* ) yang Menderita Diabetes Mellitus Tipe 2. Majalah farmasi Airlangga. 5(2).
- Hendrik. 2005. Habbatus Sauda Dalam Menangani Berbagai Penyakit Dan Kesehatan Tubuh. Surakarta: Pustaka Umat; P. 81-105.
- Hilman, I. 2005. Mengambil Hikmah dari *Habbatus Sauda'* : Miftah Darus Sa'adah. Majalah Al-Furqon Edisi 6 tahun 2006.
- Hutapea, J.R. (1994) *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (III)*, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia, p:163.
- Ilaiyaraja, N and F. Khanum. 2010. *Nigella Sativa* L: A Review Of Therapeutic Applications. India: Journal of Herbal Medicine and Toxicology 4 (2) 1-8
- Kanter, M., Cosku, N O., Korumaz, A., Oter, S. 2004. Effects of *Nigella sativa* on oxidative stress and B-cells damage in streptozotocin-induced diabetic rats. The anatomical record part A: Discoveries in molecular cellular and evolutionary biology. 299A (1):685-691.
- Karam J.H, and P.H. Forsham. 1998. Hormon – Hormon Pankreas dan Diabetes Melitus. Dalam: Greenspan FS, Baxter JD, editor. Endokrinologi dasar dan klinik. Jakarta : EGC: 742 – 55.
- Khanam M and Z.F. Dewan. 2008. Effect of The Crude and The N-Hexane Extract of *Nigelle Stiva* Linn.(Kalajira) Upon Diabetic Rats. Bangladesh J. Pharmacol 2008; 4: 17-20

- Khanam, M., Z.F. Dewan, T.C. Rehnuma, A. Farhana, U.N. Zeba, and S. Shahin. 2009. Pre Treatment by The Crude N-Hexane Extract of *Nigella sativa* Linn. (Kalajira) Alleviates Diabetes Mellitus. 2008. Bangladesh J. Pharmacol. 8:12
- Kusriningrum, R. 2010. Perancangan Percobaan. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat dengan Hewan Coba. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.9.
- Labak, K.M. 2006. Diabetes: A Common Problem for Pets. Illinois : University of Illinois at Urbana-campaign. Available from:  
[http://vetmed.illinois.edu/petcolumns/petcols\\_article\\_page.php?OLDPETC OLID=512](http://vetmed.illinois.edu/petcolumns/petcols_article_page.php?OLDPETC OLID=512)
- Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Lenzen, S. 2008. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Induced Diabetes. Institute of Clinical Biochemistry, Hannover Medical School. Germany. Feb;51(2):216-26
- Lindseth, G.N. 2003. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit : Gangguan hati, kandung empedu, dan pankreas. Volume 1. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 477.
- Luczaj W and Skrzydlewska E. 2004. Antioxidative Properties of Black Tea in Accohol Intoxication. Food Chem. Toxicol., 42: 2045-2051.
- Mansi, K.M.S. 2006. Effects of Oral Administration of Water Extract of *Nigella Sativa* on The Hypothalamus Pituitary Adrenal Axis In Experimental Diabetes. *Intl. J. Pharmacol* 2 (1): 104 – 109.
- Mansour M.A., Nagi MN, El-Khatib AS, Al-Bekairi AM. 2002. Effect Thymoquinone on antioxidant enzyme activities lipid peroxidatin and DT-diaphorase and different tissues rats. *Cell Biochem Funct.* 2002 Jun;20(2):143-51
- Nelson, R.W. 2000. Complications of Insulin Therapy in Diabetic Cats. Department of Medicine and Epidemiology University of California. Davis. California. Proceedings Of The 23rd Waltham/Osu Symposium. 64-69.
- Nolte, S.M. and J.H. Karam, 2004. Pancreatic Hormones and Antidiabetic Drugs. In Basic and Clinical Pharmacology, Katzung, Lange, B. (Ed.) 9<sup>th</sup> ed, pp: 693-712.

- Permata, D.A. 2006. Potensi Rebusan Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Terhadap Perbaikan Pankreas Tikus Putih Hiperglikemia. [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Pineda, M.H. and M.P. Dooley. 2003. Veterinary Endocrinology and Reproduction. 5<sup>th</sup> ed. Iowa State Pres. Iowa.
- Prabowo, H.P. 1997. Hubungan Peningkatan Kadar Glukosa Darah dengan Jumlah Sel Pulau Langerhans Kelenjar Pankreas (Studi Eksperimental pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Jantan) [Skripsi]. Surabaya: Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Priyatno dan Lilian Batubara. 2008. Farmakologi Dasar. Leskonfi: Jakarta.
- Price S.A., and L.M. Wilson. 2005. Patofisiologi konsep klinis proses – proses penyakit. Edisi 6. Volume 2. Alih bahasa : Pendit BU, Hartanto H, Wulansari P, Mahanani DA. Jakarta : EGC, : 1260 – 70.
- Reiter, R.J., F. Gultekin, L.J. Flores, M.P. Terron, and D. Tan. 2006. Melatonin: potential utility for improving public health. TAF Prev. Med. Bull. 5(2): 131-148.
- Rahma, N. 2012. Efek Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Penderita Diabetes Melitus Tipe 1 (Ekperimental) [Skripsi]. Surabaya: Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Schmidt-Nielsen, K. 1994. Animal Physiology : Adaptation and Environment. 4<sup>th</sup> ed. Cambridge University Press. USA. 497.
- Schteingart, D.E. 2003. Patofisiologi Konsep Klinis Proses - Proses Penyakit : Pankreas : Metabolisme Glukosa dan Diabetes Mellitus. Volume 2. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta. 1259.
- Sopia, S. 2009. Pengaruh Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus Wistar Hiperlipidemia. [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Suharmiati. 2003. Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat. Cermin Dunia Kedokteran. No. 140. Surabaya: Departemen Kesehatan RI. Halaman 10.
- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of The Rat Pancreas. Physiological Research 50 (6): 537-46
- Takasu, N., T. Asawa, I. Komiya, Y. Nagasawa and T. Yamada. 1991. Alloxan-Induced DNA Strand Breaks In Pancreatic Islets. The Journal of Biological Chemistry. 266(4):2112-2114.

- Tjay ,T.H. dan K. Rahardja, 2007. Obat - Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek - Efek Sampingnya. Elexmedia Kompetindo kelompok Kompas - Gramedia. Jakarta. 738-760.
- Thippeswamy N.B., and K.A. Naidu. Antioxidant Potency of Cumin Varieties—Cumin, Black Cumin and Bitter Cumin—on Antioxidant Systems. Received: 22 June 2004 /Revised: 20 October 2004 / Published online: 12 January 2005
- Tjokropawiro, A. 2003. Diabetes Melitus : Klasifikasi, Diagnosis dan Terapi. Edisi ketiga. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Turner, C.D. and J.T. Bagnara. 1988. Endokrinologi Umum. Airlangga University Press. Surabaya. 325, 347.
- Watkins, D., S.J. Cooperstein, and A. Lazarow. 2008. Effect of Alloxan on Permeability of Pancreatic Islet Tissue in Vitro. [Internet]. [Februari 2010].
- Yuriska, F.A. 2009. Efek Aloksan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar. [Skripsi]. Semarang: universitas Diponegoro.

LAMPIRAN

### Lampiran 1. Jumlah Sel Pulau Langerhans Kelenjar Pankreas

#### P0

Sediaan Histologi		1	2	3	4	5
Irisan satu	Pulau 1	88	71	95	110	106
	Pulau 2	122	100	88	77	85
Irisan dua	Pulau 1	102	121	103	119	118
	Pulau 2	94	130	92	69	71
Irisan tiga	Pulau 1	72	109	89	70	124
	Pulau 2	90	105	109	87	114
rata-rata		94,67	106	96	88,67	103

#### P1

Sediaan Histologi		1	2	3	4	5
Irisan satu	Pulau 1	29	47	25	62	78
	Pulau 2	54	69	48	74	33
Irisan dua	Pulau 1	23	42	35	65	52
	Pulau 2	29	51	27	87	60
Irisan tiga	Pulau 1	72	35	39	56	41
	Pulau 2	43	49	20	70	36
rata-rata		41,67	48,83	32,33	69	50

#### P2

Sediaan Histologi		1	2	3	4	5
Irisan satu	Pulau 1	81	103	79	71	57
	Pulau 2	58	82	100	49	66
Irisan dua	Pulau 1	78	90	88	58	89
	Pulau 2	63	51	77	64	50
Irisan tiga	Pulau 1	70	87	96	85	96
	Pulau 2	104	70	90	59	68
rata-rata		75,67	80,5	88,33	64,33	71



**P3**

Sediaan Histologi		1	2	3	4	5
Irisan satu	Pulau 1	92	103	105	95	75
	Pulau 2	74	118	72	68	80
Irisan dua	Pulau 1	84	96	86	72	94
	Pulau 2	116	126	101	76	132
Irisan tiga	Pulau 1	83	80	97	88	102
	Pulau 2	78	128	79	81	90
rata-rata		87,83	108,5	90	80	95,5

**P4**

Sediaan Histologi		1	2	3	4	5
Irisan satu	Pulau 1	73	64	70	87	66
	Pulau 2	81	58	80	102	45
Irisan dua	Pulau 1	105	43	61	78	58
	Pulau 2	70	54	75	69	89
Irisan tiga	Pulau 1	79	62	84	81	65
	Pulau 2	65	45	50	85	57
rata-rata		78,83	54,33	70	83,67	63,33

## Lampiran 2. Analisa jumlah sel pulau langerhans dengan SPSS

### Oneway

#### Descriptives diabetes mellitus

Langerhans

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	5	97,6680	6,90266	3,08696	89,0972	106,2388	88,67	106,00
2	5	48,3660	13,51515	6,04416	31,5847	65,1473	32,33	69,00
3	5	75,9660	9,13196	4,08394	64,6272	87,3048	64,33	88,33
4	5	92,3260	10,65596	4,76549	79,0949	105,5571	79,80	108,50
5	5	70,0320	11,77784	5,26721	55,4079	84,6561	54,33	83,67
Total	25	76,8716	20,33199	4,06640	68,4790	85,2642	32,33	108,50

#### Test of Homogeneity of Variances

Langerhans

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,305	4	20	,871

#### ANOVA

Langerhans

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7657,491	4	1914,373	16,912	,000
Within Groups	2263,863	20	113,193		
Total	9921,354	24			

**Post Hoc Tests**

**Homogeneous Subsets**

**langerhans**

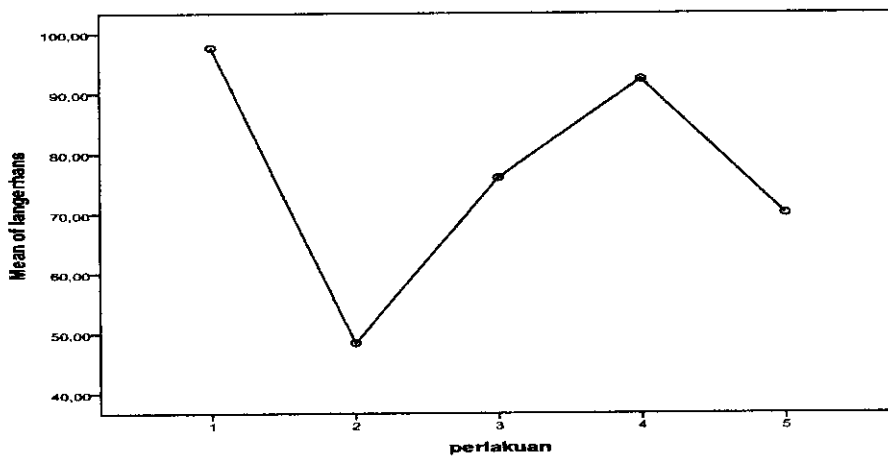
Duncan<sup>a</sup>

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2	5	48,3660		
5	5		70,0320	
3	5		75,9660	
4	5			92,3260
1	5			97,6680
Sig.		1,000	,388	,437

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

**Means Plots**



**Case Processing Summary<sup>a</sup>**

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
langerhans * perlakuan	25	100,0%	0	,0%	25	100,0%

a. Limited to first 100 cases.

Case Summaries<sup>a</sup>

			langerhans
Perlakuan 1	1	1	94,67
		2	106,00
		3	96,00
		4	88,67
		5	103,00
		Total	N
2	1	1	41,67
		2	48,83
		3	32,33
		4	69,00
		5	50,00
		Total	N
3	1	1	75,67
		2	80,50
		3	88,33
		4	64,33
		5	71,00
		Total	N
4	1	1	87,83
		2	108,50
		3	90,00
		4	79,80
		5	95,50
		Total	N
5	1	1	78,83
		2	54,33
		3	70,00
		4	83,67
		5	63,33
		Total	N
Total	N		25

a. Limited to first 100 cases.

### Lampiran 3. Cara Penghitungan Dosis

#### Dosis Alloksan :

Dosis efektif = 150 mg/kg bb intraperitoneal.

Sehingga dosis untuk 1 ekor tikus putih dengan berat 100 gr adalah :

$$\frac{100}{1000} \times 150 \text{ mg/kg bb} = 15 \text{ mg/ekor ad 1 cc NaCl fisiologis}$$

#### Dosis jintan hitam :

Dosis standart efektif = 10 g/kg bb peroral.

Menggunakan log dosis 3, log 10, dan log 30.

$$\begin{aligned} \text{Dosis 1} &= \frac{\text{Log } 3}{\text{Log } 10} \times 10 \text{ g/kg bb} = \frac{0.5}{1} \times 10 \text{ g/kg bb} \\ &= 5 \text{ g/kg bb} \end{aligned}$$

Dosis untuk 1 ekor tikus putih dengan berat 100 gr adalah :

$$\frac{100}{1000} \times 5 \text{ g/kg bb} = 0.5 \text{ g/ekor}$$

Ekstrak jintan yang dibutuhkan adalah 0,5 ml

$$\begin{aligned} \text{Dosis 2} &= \frac{\text{Log } 10}{\text{Log } 10} \times 10 \text{ g/kg bb} = \frac{1}{1} \times 10 \text{ g/kg bb} \\ &= 10 \text{ g/kg bb} \end{aligned}$$

Sehingga dosis untuk 1 ekor tikus putih dengan berat 100 gr adalah :

$$\frac{100}{1000} \times 10 \text{ g/kg bb} = 1 \text{ g/ekor}$$

Ekstrak jintan yang dibutuhkan adalah 1 ml

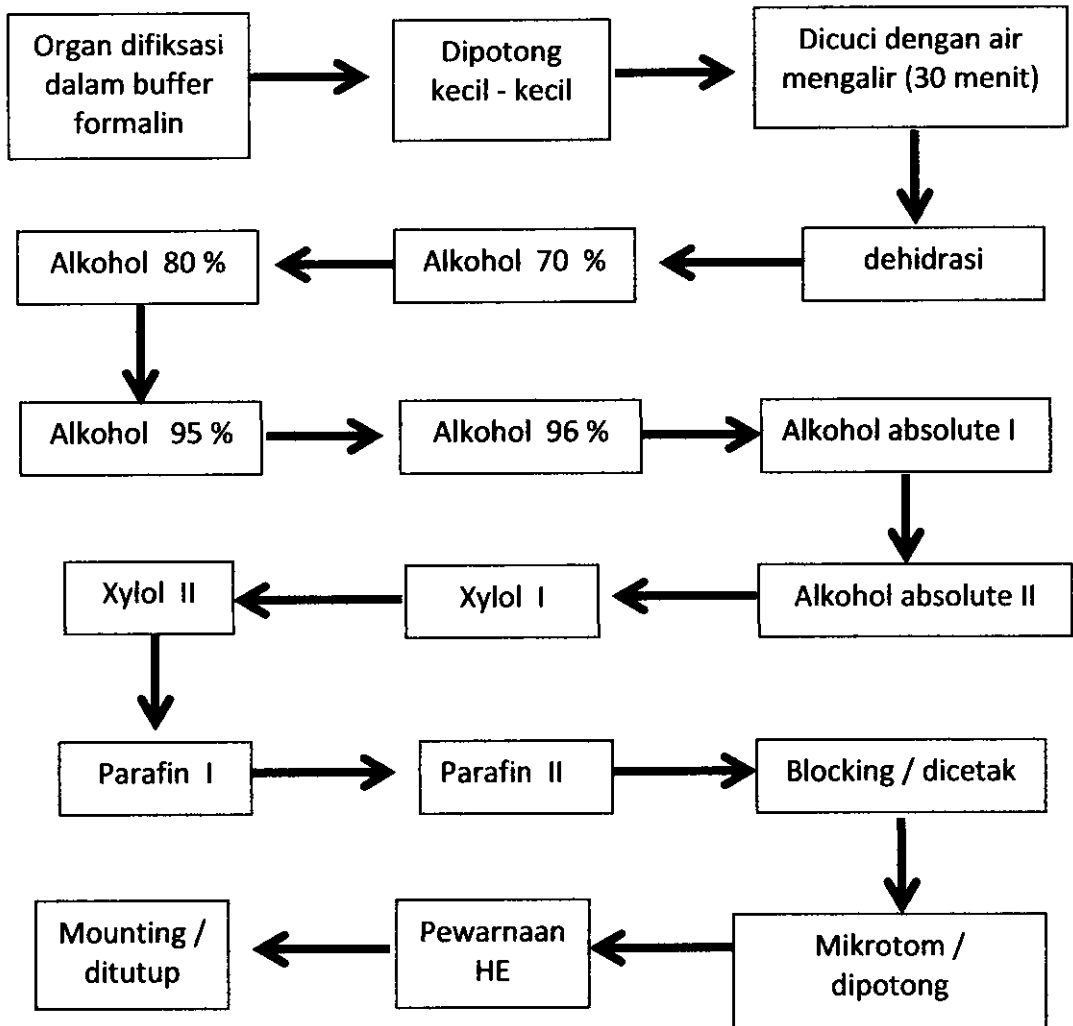
$$\begin{aligned}\text{Dosis 3} &= \frac{\text{Log } 30}{\text{Log } 10} \times 10 \text{ mg/kg bb} = \frac{1.5}{1} \times 10 \text{ g/kg bb} \\ &= 15 \text{ g/kg bb}\end{aligned}$$

Sehingga dosis untuk 1 ekor tikus putih dengan berat 100 gr adalah :

$$\frac{100}{1000} \times 15 \text{ g/kg bb} = 1,5 \text{ g/ekor}$$

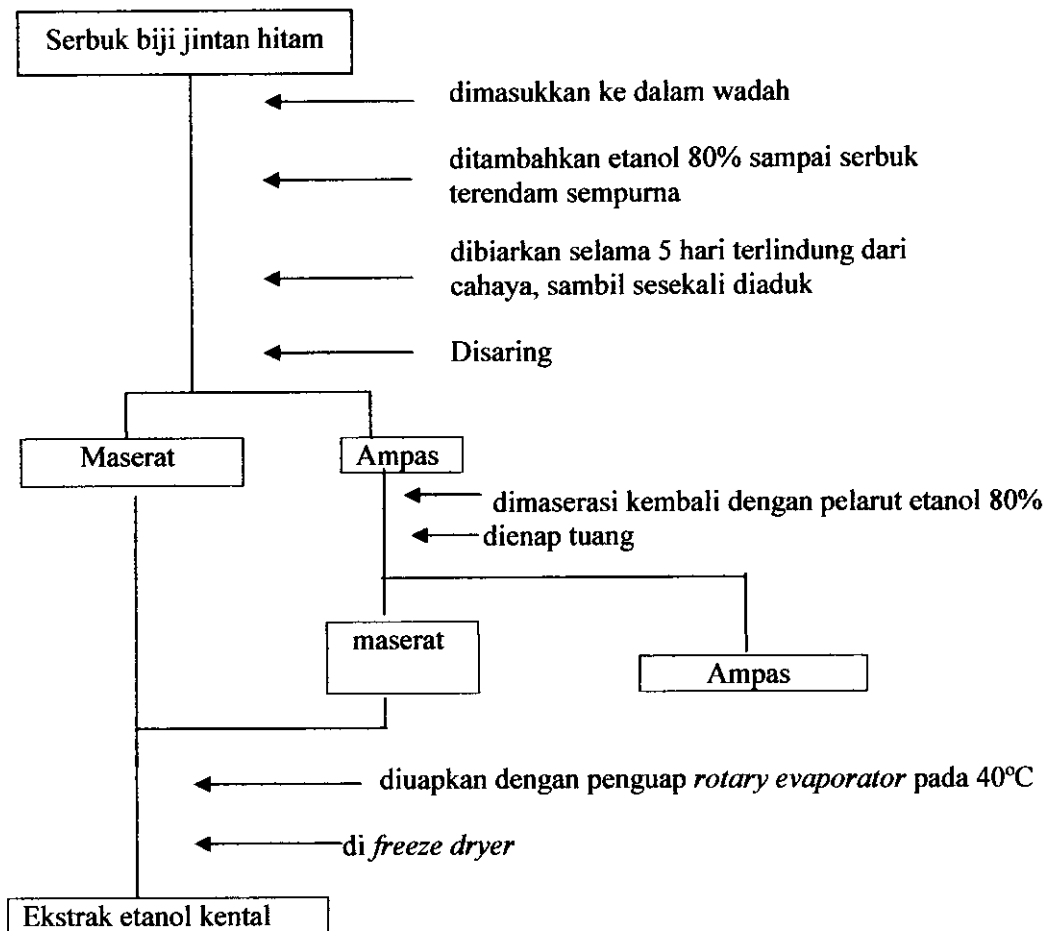
Ekstrak jintan yang dibutuhkan adalah 1,5 ml

**Lampiran 4. Skema Rangkaian Pembuatan Preparat Histologi Dengan Metode Hematoxylin Eosin (HE)**



Sumber : Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.

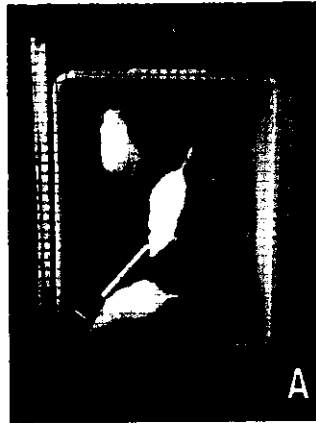
### Lampiran 5. Bagan Pembuatan Ekstrak Etanol



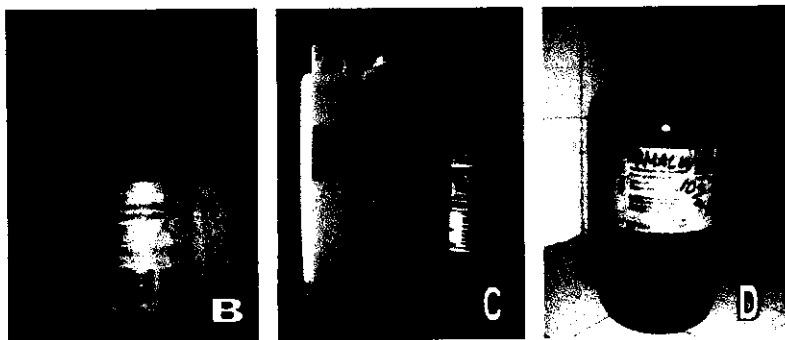
Sumber : Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga.



## Lampiran 6. Alat dan bahan penelitian



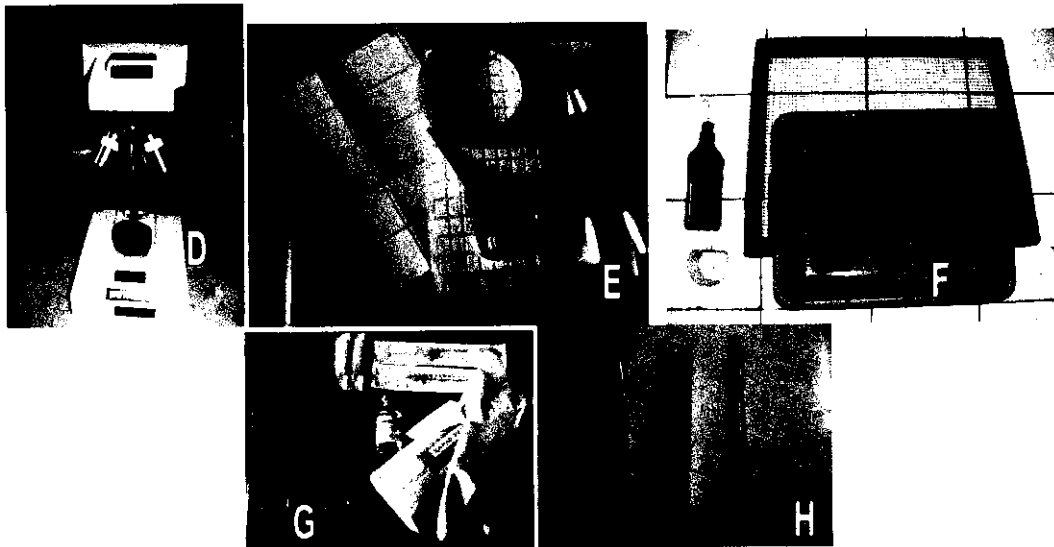
Gambar 1. Hewan coba



Gambar 2. Bahan penelitian

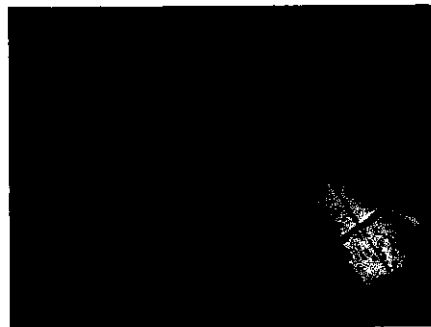
(A). Alloksan, (B). NaCl fisiologis dan Alkohol 70% (C). formalin 10%





Gambar 3. Alat-alat penelitian

- |                         |  |
|-------------------------|--|
| (A). Timbangan          | (E). Alat Tulis  |
| (B). Alat (Sput) Sonde  | (F). Kandang, sekam, tempat makan                                    |
| (C). Timbangan Digital  | (G). Kapas, sarung tangan, tabung, <i>syring e</i> dan <i>needle</i> |
| (D). Mikroskop Elektron | (H) Peralatan Bedah  |



Gambar 4. Induksi dengan cara Intraperitoneal (IP)



Gambar 5. Proses pengambilan organ melalui pembedahan