Efek protektif kombinasi minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) dan madu pada ginjal tikus yang diberi pajanan cisplatin

Kevin Chikrista^{1,*}, Muhammad In'am Ilmiawan², Mitra Handini³

¹Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat, Indonesia

²Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Kalimantan Barat, Indonesia

³Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura

*Korespondensi: kevinchikrista@gmail.com

Abstrak

Latar belakang: Cisplatin merupakan agen antikanker dengan berbagai efek samping, terutama nefrotoksisitas. Minyak jintan hitam (MJH) dan madu (M) merupakan bahan alam kaya akan antioksidan dan memiliki efek nefroprotektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek nefroprotektif kombinasi minyak jintan hitam dan madu pada tikus yang dipajan cisplatin. **Metode:** Penelitian ini menggunakan 30 tikus yang dibagi menjadi 10 kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), kelompok tunggal MJH dosis I (1 mL/kgBB) (P1), MJH dosis II (2 mL/kgBB) (P2), M dosis I (3,7 mL/kgBB) (P3), M dosis II (7,4 mL/kgBB) (P4), kelompok kombinasi MJH dosis I dan M dosis I (P5), MJH dosis I dan M dosis II (P6), MJH dosis II dan M dosis I (P7), MJH dosis II dan M dosis II (P8) serta kelompok cisplatin (C). Minyak jintan hitam dan madu diberikan selama 21 hari. Pada hari ke-18, semua kelompok, kecuali kelompok kontrol, diberi cisplatin 8 mg/kgBB secara intraperitoneal. **Hasil:** Terdapat perbedaan bermakna pada skor tubulus proksimal normal semua kelompok perlakuan (kecuali P3) dibandingkan dengan kelompok cisplatin ($p < 0,05$). Kombinasi minyak jintan hitam dan madu menghasilkan efek yang sinergis ($CI = 0,234, 0,537, 0,863, 0,586$). **Kesimpulan:** Kombinasi minyak jintan hitam dan madu menghasilkan efek protektif yang sinergis terhadap jaringan ginjal tikus yang diberi pajanan cisplatin.

Kata kunci: antioksidan, minyak jintan hitam, madu, cisplatin, sinergisme

Protective effect of black seed oil (*Nigella sativa*) and honey combination on rats' kidney given exposure to cisplatin

Abstract

Background: Cisplatin is one of anticancer agents that has various side effects, mainly nephrotoxicity. Black seed oil (BSO) and honey (H) are natural ingredients rich in antioxidants and have a nephroprotective effect. This study aimed to assess the nephroprotective effect of the combination of black seed oil and honey on rats induced with cisplatin. **Methods:** Thirty rats were divided into 10 groups: control group; single-treatment groups which were given BSO dose I (1 mL/kgBW) (P1), BSO dose II (2 mL/kgBW) (P2), H dose I (3.7 mL/kgBW) (P3), H dose II (7.4 mL/kgBW) (P4); combination groups which were given BSO dose I and H dose I (P5), BSO dose I and H dose II (P6), BSO dose II and H dose I (P7), BSO dose II and H dose II (P8); and cisplatin group (C). Black seed oil and honey were given orally for 21 days. On the 18th day, all groups except control were given cisplatin 8 mg/kgBB intraperitoneally. **Results:** There were significant differences in the normal proximal tubules score of all treatment groups (except P3) compared to cisplatin groups ($p < 0.05$). The combination groups exerted a synergistic effect ($CI = 0.234, 0.537, 0.863$ and 0.586). **Conclusions:** Combinations of black seed oil and honey exert synergistic protective effects on rats' renal tissue that is induced with cisplatin.

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

Pendahuluan

Cisplatin (cis-diamminedichloroplatinum(II))

merupakan obat antineoplastik anorganik berbahan dasar platinum.¹ Obat ini dapat menimbulkan berbagai efek samping seperti reaksi gastrointestinal, ototoksisitas, neuropatik perifer, dan terutama

nefrotoksitas, yang merupakan alasan utama dibatasinya penggunaan cisplatin. Efek samping ini muncul pada sepertiga pasien pengguna cisplatin.^{2,3} Cisplatin utamanya terakumulasi di tubulus proksimal dan tubulus distal, menyebabkan kerusakan seluler, fungsi renal, serta gagal ginjal akut, melalui beberapa mekanisme, termasuk inhibisi sintesis protein pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), disfungsi mitokondria, kerusakan DNA, dan apoptosis.^{2,4} Pada saat ini, perkembangan pengetahuan tentang bagaimana mengontrol toksisitas renal tanpa mengurangi efek antineoplastik cisplatin merupakan fokus utama dalam penelitian klinis.⁵

Nigella sativa atau yang dikenal sebagai jintan hitam, telah digunakan selama ribuan tahun sebagai tanaman obat-obatan untuk berbagai macam penyakit. Pada ekstrak jintan hitam, ditemukan aktivitas farmakologi yang luas, salah satu yang terutama adalah antioksidan. Aktivitas tersebut diperkirakan merupakan efek dari kandungan kuinon yang ada pada biji tanaman tersebut.⁶ Suatu penelitian menunjukkan bahwa tidak ditemukannya efek toksisitas dari jintan hitam pada ginjal tikus mengusulkan bahwa konsumsi jintan hitam oleh manusia tidak akan menyebabkan efek toksisitas pada fungsi ginjal. Dikatakan bahwa jintan hitam ini bahkan dapat menghasilkan efek nefroprotektif melalui efek antioksidan yang dimilikinya terhadap jaringan ginjal.^{7,8} Beberapa penelitian juga mengungkapkan bahwa ekstrak atau minyak jintan hitam dapat memperbaiki parameter biokimia serum dan urin serta fungsi ginjal secara preventif dan kuratif pada ginjal tikus yang terpajan cisplatin.^{9,10}

Madu dikenal sebagai salah satu agen antioksidan alami, dimana aktivitas antioksidannya diperkirakan berasal dari beberapa senyawa yang terkandung di dalam madu, seperti flavonoid, asam fenolat, dan enzim-enzim antioksidan seperti katalase, superoksida dismutase, glutathione reduktase, dan glukosa oksidase. Pada penelitian lain Ibrahim *et al*¹¹ berhasil menunjukkan bahwa pemberian madu yang dikombinasikan dengan royal jelly dapat meminimalkan kerusakan yang ditimbulkan oleh pajanan cisplatin. Madu dapat bersifat protektif pada ginjal dengan cara menurunkan radikal bebas dan meningkatkan level antioksidan pada sel ginjal.¹²

Penggunaan kombinasi obat telah ada sejak dahulu dan telah digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit. Penggunaan kombinasi obat

digunakan karena dapat bekerja pada beberapa target, dan beberapa penyakit secara simultan. Penggunaan beberapa obat dengan mekanisme kerja yang berbeda juga dapat memberikan efek kepada satu target atau penyakit secara lebih efektif, sehingga dapat dilakukan pengurangan dosis untuk mendapatkan efek yang sama atau mungkin lebih besar.¹³

Madu dan jintan hitam merupakan perintis tanaman obat-obatan. Kedua bahan ini relatif murah, aman, dan memiliki berbagai macam sifat terapi yang menjelaskan penggunaannya untuk mengobati berbagai macam penyakit selama beberapa abad.⁶ Penelitian El-Kholy¹⁴ dan Ameen *et al*¹⁵ menemukan bahwa pemberian minyak jintan hitam dan madu secara bersama-sama akan memiliki efek hepatoprotektif yang lebih besar ketika kedua bahan ini dikombinasikan.

Berdasarkan penjelasan di atas, diketahui bahwa cisplatin sering digunakan sebagai agen antikanker, namun memiliki efek samping terutama yaitu nefrotoksitas. Telah diketahui pula bahwa masing-masing jintan hitam dan madu memiliki efek nefroprotektif melalui aktivitas antioksidannya, memiliki efek hepatoprotektif yang lebih baik jika mereka dikombinasikan dan belum adanya penelitian tentang efek kombinasi dari minyak jintan hitam dan madu terhadap nefroprotektif. Maka dari itu, peneliti ingin melakukan uji efek protektif kombinasi minyak jintan hitam dan madu terhadap organ ginjal yang diberikan pajanan cisplatin.

Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Klinis (pemeliharaan hewan uji dan pemberian perlakuan) dan Laboratorium Mikroskopik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura (pembacaan preparat histopatologi) mulai dari bulan April hingga Desember 2017. Penelitian ini merupakan studi in vivo dengan pendekatan eksperimental murni. Hewan uji yang digunakan sebagai subjek penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa galur Wistar berumur 2-3 bulan dengan berat badan 180-220g.

Sebelum penelitian, dilakukan skrining fitokimia pada minyak jintan hitam, yaitu senyawa kuinon. Minyak jintan hitam sebanyak 5 ml ditambahkan NaOH 1 N kemudian diamati perubahan warnanya. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya

warna merah atau kuning. Dilakukan juga skrining fitokimia pada madu, yaitu senyawa asam fenolik dan flavonoid. Pemeriksaan senyawa asam fenolik dilakukan dengan cara menambahkan 2 ml madu ke tabung reaksi dan ditambahkan larutan FeCl_3 (1:1) sebanyak 3 tetes. Hasil positif yaitu timbul warna biru kehitaman. Pemeriksaan senyawa flavonoid dilakukan dengan cara sebanyak 2 ml madu dalam tabung reaksi ditambahkan 0,5 ml HCl pekat dan 3-4 potongan kecil logam Mg. Perubahan warna diamati dalam waktu 10 menit. Hasil positif ditandai perubahan warna menjadi merah muda-ungu.

Hewan uji diaklimasi selama 1 minggu dengan pemberian makanan menggunakan pakan standar dan minum secara *ad libitum*. Pengelompokan subjek perlakuan terdiri dari 10 kelompok yang dipilih secara acak. Setiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Kelompok kontrol (K) diberi dosis NaCl 0,9% 1 ml/kgBB 1 kali secara intraperitoneal pada hari ke-18. Kelompok cisplatin (C) dan semua kelompok perlakuan (P1-P8) diberikan cisplatin 8 mg/kgBB secara intraperitoneal pada hari ke-18. kelompok P1 dan P2 diberikan minyak jintan hitam dosis 1 dan 2 ml/kgBB oral, kelompok P3 dan P4 diberikan madu dosis 3,7 dan 7,4 ml/kgBB oral, kelompok P5, P6, P7 dan P8 diberikan kombinasi minyak jintan hitam dan madu oral dengan dosis masing-masing 1 dan 3,7 ml/kgBB, 1 dan 7,4 ml/kgBB, 2 dan 3,7 ml/kgBB, 2 dan 7,4 ml/kgBB. Minyak jintan hitam, madu dan kombinasinya masing-masing diberikan 1 kali sehari pada hari ke-1 sampai 21.

Minyak jintan hitam dan madu sebagai kombinasi diberikan secara terpisah. Cisplatin dalam sediaan vial (1 mg/ml) diberikan 1 jam setelah pemberian minyak jintan hitam dan madu. Pada hari ke-22, tikus dianestesi dengan tabung berisi eter dan dianestesi. Selanjutnya organ ginjal diambil dari tikus untuk pembuatan preparat histopatologi.

Pengukuran dilakukan dengan menghitung tubulus dalam beberapa lapang pandang pada perbesaran 400x hingga mencapai 100 tubulus. Dari 100 tubulus tersebut, dihitung jumlah tubulus yang normal dan tidak mengalami kelainan histopatologi. Kelainan histopatologi yang dimaksud antara lain degenerasi hidropik, nekrosis, dilatasi tubulus, hilangnya *brush border*, dan pembentukan *cast*. Setiap tubulus yang memiliki kelainan tersebut dianggap telah mengalami kerusakan.

Hasil data yang diperoleh diolah dengan IBM SPSS Statistics v20.0 for Windows dan Compusyn.

Uji statistik dilakukan dengan uji Kruskal-Wallis yang dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Uji kombinasi obat dilakukan dengan metode Combination index (CI).

Penelitian ini telah lolos kaji etik oleh Divisi Kaji Etik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dengan Surat Keterangan Lolos Kaji Etik No: 3360/UN22.9/DT/2017.

Hasil

Pemeriksaan Fitokimia

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

Pada madu, pemeriksaan senyawa flavonoid menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna sampel menjadi merah. Selain flavonoid, pemeriksaan asam fenolik pada madu juga memberikan hasil positif, yang dibuktikan dengan perubahan warna sampel menjadi hijau kehitaman. Hasil identifikasi senyawa kuinon, flavonoid dan asam fenolik dapat dilihat pada Gambar 1.

Pengamatan Histopatologi Ginjal

Hasil pengamatan histopatologi ginjal tikus dapat dilihat pada Gambar 2. Kelompok K menunjukkan sebagian besar gambaran tubulus proksimal dalam keadaan normal (Gambar 2A). Pada kelompok C ditemukan banyak tubulus proksimal dengan berbagai jenis kerusakan antara lain: degenerasi hidropik (panah merah), nekrosis (panah biru), pembentukan *cast* (panah hitam), dan hilangnya *brush border* (panah hijau) (Gambar 2B). Kerusakan tersebut juga dapat dijumpai pada kelompok perlakuan tunggal (Gambar 3). Derajat kerusakan yang lebih sedikit dapat terlihat pada kelompok kombinasi (Gambar 4).

Skoring dan Analisis Jumlah Tubulus

Besar kerusakan ginjal ditandai dengan berkurangnya tubulus normal pada pengamatan histopatologi. Tubulus proksimal normal dijumlahkan dan dirata-ratakan untuk setiap tikus, kemudian rata-rata setiap tikus dijumlahkan dan dibuat rata-rata kelompok. Rata-rata kerusakan tiap kelompok dapat dilihat pada Gambar 5.

Gambar 1. Hasil Identifikasi Fitokimia. (A) Kuinon, (B) flavonoid dan (C) asam fenolik.

Gambar 2. Gambaran histopatologi ginjal. (A) Kelompok kontrol, (B) Kelompok cisplatin. HE, objektif 40x. Degenerasi hidropik (panah merah), nekrosis (panah biru), pembentukan cast (panah hitam), hilangnya brush border (panah hijau).

Gambar 3. Gambaran histopatologi ginjal kelompok perlakuan tunggal (A-D). HE, objektif 40x. Degenerasi hidropik (panah merah), nekrosis (panah biru), pembentukan cast (panah hitam), hilangnya brush border (panah hijau).

Gambar 4. Gambaran histopatologi ginjal kelompok perlakuan kombinasi (A-D). HE, objektif 40x. Degenerasi hidropik (panah merah), nekrosis (panah biru), pembentukan cast (panah hitam), hilangnya brush border (panah hijau).

Kelompok perlakuan (P1-P8) menunjukkan skor tubulus proksimal normal yang lebih tinggi dari kelompok cisplatin dan hanya kelompok P3 yang tidak memberikan perbedaan secara bermakna dengan kelompok cisplatin ($p=0.275$). Skor pada semua kelompok perlakuan (P1-P8) masih berbeda secara bermakna dengan kelompok kontrol ($p<0,05$).

Hal ini menunjukkan bahwa pemberian bahan uji baik minyak jintan hitam dan madu secara tunggal maupun kombinasinya memiliki efek protektif

terhadap nefrotoksisitas yang ditimbulkan oleh cisplatin namun belum mencapai normal. Pada analisis Indeks Kombinasi atau Combination Indeks (CI), didapati semua kelompok kombinasi memiliki efek sinergis. Semakin kecil nilai indeks kombinasi, maka semakin sinergis dosis kombinasi tersebut. Didapatkan bahwa kelompok P5 memiliki efek sinergis yang paling baik (0,234). Hasil CI dapat dilihat pada Tabel 1.

Gambar 5. Hasil perhitungan jumlah tubulus proksimal normal ($\pm$ SD). Keterangan: Uji Kruskal-Wallis H; $p < 0,05$; a Uji Mann-Whitney: $p < 0,05$ terhadap kelompok C. b Mann-Whitney: $p < 0,05$ terhadap kelompok K. c Mann-Whitney: $p < 0,05$ dibandingkan satu dengan yang lainnya.

Tabel 1. Hasil analisis indeks kombinasi

Kelompok Kombinasi	Dosis Perlakuan		Nilai Indeks Kombinasi (CI)	Interpretasi
	MJH (ml/kgBB)	M (ml/kgBB)		
P5	1	3.7	0,234	Sinergis kuat
P6	1	7.4	0,537	Sinergis
P7	2	3.7	0,863	Sinergis
P8	2	7.4	0,586	Sinergis

Keterangan: MJH (Minyak Jintan Hitam); M (Madu); CI (Combination Index).

Pembahasan

Pemeriksaan Fitokimia

Hasil penelitian Hadi *et al*¹⁶ menunjukkan bahwa salah satu kandungan dari minyak jintan hitam adalah *thymoquinone*. Pada penelitian ini, peneliti tidak melakukan pemeriksaan *thymoquinone* melainkan senyawa kuinon. Hal ini didukung oleh pernyataan Farhadi *et al*¹⁷ yang menyatakan bahwa *thymoquinone* adalah turunan dari kuinon. Hasil pemeriksaan senyawa asam fenolik dan flavonoid sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ngoi *et al*¹⁸ yang menunjukkan bahwa madu Trigona memiliki kandungan fenolik dan flavonoid. Rahma *et al*¹⁹ juga menyatakan bahwa secara umum madu mengandung senyawa antioksidan yaitu polifenol yang terdiri atas asam fenolik dan flavonoid.

Analisis Statistik Skor Tubulus

Pada analisis statistik skor tubulus normal, semua kelompok perlakuan kecuali P3 memiliki nilai skor yang berbeda bermakna terhadap kelompok cisplatin. Hal ini menandakan bahwa pemberian minyak jintan hitam memberikan efek protektif dari kerusakan yang ditimbulkan oleh cisplatin. Hasil ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Farooqui *et al*¹⁰ yang mengungkapkan bahwa pemberian minyak jintan hitam dengan dosis 2 ml/kgBB mampu melindungi ginjal dari kerusakan yang diinduksi oleh cisplatin. Hasil tersebut juga menandakan bahwa pemberian madu secara tunggal baru dapat memberikan efek protektif dari kerusakan yang diinduksi cisplatin menggunakan dosis 7,4 ml/kgBB (hasil konversi satuan 10 g/kgBB). Hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Ibrahim *et al*¹¹ yang mengungkapkan bahwa madu dengan dosis 20 mg/kgBB dapat melindungi nefrotoksitas yang diinduksi cisplatin.

Minyak jintan hitam dan madu memberikan efek protektif terhadap ginjal melalui efek antioksidan yang dimilikinya. Sebuah studi yang dilakukan oleh Dollah *et al* mengatakan bahwa *thymoquinone*

menunjukkan potensi antioksidan yang kuat melalui kemampuan menetralkan berbagai jenis radikal bebas sebelum mereka mencapai target seluler. Pada studi lainnya yang dilakukan oleh Farooqui *et al*¹⁰, minyak jintan hitam menunjukkan efek protektifnya dalam tiga cara yang berbeda: Pertama, minyak jintan hitam dengan kandungan senyawa yang memiliki sifat penangkal radikal bebas yang poten, dapat menghambat pembentukan ROS secara langsung yang diinduksi cisplatin. Kedua, melalui peningkatan kadar dan aktivitas antioksidan endogen dan enzim antioksidan, minyak jintan hitam dapat menguatkan sistem pertahanan antioksidan ginjal untuk melawan ROS. Ketiga, kandungan asam lemak tak jenuh pada minyak jintan hitam dapat menggantikan komponen PUFA dari membran yang telah dirusak oleh radikal bebas oksigen, sehingga mempercepat proses perbaikan dan regenerasi. Selain itu, suatu penelitian menunjukkan bahwa tidak ditemukannya efek toksisitas dari jintan hitam pada ginjal tikus mengusulkan bahwa konsumsi jintan hitam oleh manusia tidak akan menyebabkan efek toksisitas pada fungsi ginjal. Dikatakan bahwa jintan hitam ini bahkan dapat menghasilkan efek nefroprotektif melalui efek antioksidan yang dimilikinya terhadap jaringan ginjal.^{7,8} Beberapa penelitian juga mengungkapkan bahwa ekstrak atau minyak jintan hitam dapat memperbaiki parameter biokimia serum dan urin serta fungsi ginjal secara preventif dan kuratif pada ginjal tikus yang terpajan cisplatin.^{9,10}

Pada penelitiannya, Rahma *et al*¹⁹ menunjukkan bahwa madu Trigona memiliki senyawa antioksidan dengan aktivitas antioksidan kategori moderat sedangkan pada penelitian Oddo *et al*²⁰, aktivitas antioksidan madu Trigona termasuk kategori antioksidan kuat. Aktivitas antioksidan pada madu utamanya diperankan oleh senyawa asam fenolik dan flavonoid.²¹ Senyawa flavonoid termasuk dalam golongan senyawa polifenol yang bersifat polar dan dapat larut dalam air. Flavonoid dan asam fenolik memiliki aktivitas antioksidan melalui penangkapan radikal bebas serta peredam terbentuknya oksigen

singlet (O-). Berdasarkan strukturnya, flavonoid memiliki lebih dari satu gugus fenol serta mempunyai ikatan rangkap yang terkonjugasi, sehingga mampu untuk menangkal radikal bebas yang mengakibatkan terjadinya penurunan peroksidasi lipid serta peningkatan aktivitas enzim antioksidan seperti SOD, CAT dan GPx. Flavonoid juga mampu mendonorkan satu atom hidrogen dari gugus hidroksifenolik pada saat bereaksi dengan radikal bebas.^{21,22}

Pada madu, terdapat agen-agen antioksidan lainnya yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan seperti vitamin A, C dan E. Vitamin A memiliki kemampuan untuk bergabung dan menetralkan radikal peroksida sebelum terbentuknya peroksidasi lipid. Vitamin C dikenal dengan kemampuan penyumbang elektron yang mencegah akumulasi agen pengoksidasi dan radikal bebas. Vitamin E merupakan molekul lipofilik yang memiliki aksi antioksidan oleh karena kemampuannya untuk menyatu dengan membran biologis sehingga dapat menstabilkan dan melindungi membran terhadap peroksidasi lipid.²³

Pada penelitian ini, didapatkan hasil bahwa semua kelompok perlakuan belum dapat mencapai kondisi normal. Hal yang berbeda ditemukan pada penelitian Farooqui *et al*¹⁰ yang menemukan bahwa pemberian minyak jintan hitam dapat mengurangi perubahan histopatologi yang diinduksi cisplatin dan menjaga struktur tubulus mendekati kelompok normal serta penelitian Ibrahim *et al*¹¹ yang menemukan bahwa pemberian madu sebelumnya memberikan proteksi yang mendekati kelompok normal secara histopatologi dan biokimia. Hal ini dimungkinkan karena pada penelitian Farooqui *et al*¹⁰, dosis cisplatin yang digunakan lebih rendah, yakni 6 mg/kgBB dan pada penelitian Ibrahim *et al*¹¹, pemberian cisplatin dilakukan secara sub-kronis, yakni dua kali dalam seminggu dengan dosis 1 mg/kgBB, selama sepuluh minggu.

Dalam penentuan kelompok dosis yang paling efektif, maka dilihat skor efek terbaik yang ditimbulkan oleh setiap kelompok. Pada penelitian ini, didapatkan bahwa kelompok kombinasi P5 merupakan kelompok dengan skor tertinggi, namun memiliki efek yang tidak berbeda secara bermakna terhadap kelompok P6 dan P8 jika dibandingkan satu dengan yang lainnya ($P>0,05$; Gambar 3.4). Oleh karena itu, peneliti kemudian melihat jumlah dosis yang terkecil dari antara ketiga kelompok dosis tersebut. Didapatkan bahwa kelompok P5, yakni

kombinasi minyak jintan hitam dosis 1 ml/kgBB dan madu dosis 3,7 ml/kgBB, memiliki jumlah dosis terkecil yang perlu dikonsumsi. Dengan ini, peneliti menyimpulkan bahwa kelompok P5 merupakan kelompok dosis yang paling efektif dalam memberikan efek protektif terhadap histologi jaringan ginjal tikus Wistar yang diberi pajanan cisplatin.

Uji Indeks Kombinasi

Pada uji indeks kombinasi, terlihat bahwa semua kelompok kombinasi memiliki nilai indeks kombinasi yang kurang dari satu. Hal ini menyatakan bahwa kombinasi antara minyak jintan hitam dan madu menghasilkan efek yang sinergis. Pada penelitian ini, urutan dosis kombinasi yang memiliki efek sinergis tertinggi sampai terendah berdasarkan nilai CI secara berurutan adalah P5 (0,234), P6 (0,537), P8 (0,586), dan P7 (0,863).

Mohamad *et al*²⁴ mengungkapkan hal yang serupa bahwa antioksidan larut lemak yang dimiliki biji jintan hitam memiliki efek yang sinergis ketika dikombinasikan dengan antioksidan yang terdapat pada madu. Pernyataan ini dibuktikan melalui pemeriksaan kapasitas antioksidan (trolox equivalent) dimana kombinasi biji jintan hitam dengan madu memiliki kapasitas antioksidan yang jauh lebih tinggi dibandingkan madu atau biji jintan hitam saja. Hal ini dapat terjadi dimungkinkan oleh madu dan minyak jintan hitam yang memiliki perbedaan kandungan zat aktif sehingga memiliki mekanisme kerja yang luas dan menimbulkan efek sinergis. Selain itu, unsur pokok utama yang dimiliki oleh minyak jintan hitam, yakni PUFA dan *thymoquinone* bersifat larut lemak, sedangkan madu mengandung antioksidan yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik.²⁴ Pernyataan ini didukung oleh studi Chen *et al*²⁵ yang menyatakan bahwa efek sinergis dapat dihasilkan dari kombinasi obat yang memiliki sasaran kerja multipel pada sebuah jaringan mekanisme yang saling berhubungan, terutama secara seri, paralel ataupun campurannya.

Kesimpulan

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

Konflik Kepentingan

Tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Al-Kharusi N, Babiker HA, Al-Salam S, Waly MI, Nemmar A, Al-Lawati I, et al. Ellagic acid protects against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats: a dose-dependent study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013;17(3):299–310.
- Terada Y, Inoue K, Matsumoto T, Ishihara M, Hamada K, Shimamura Y, et al. 5-Aminolevulinic acid protects against cisplatin-induced nephrotoxicity without compromising the anticancer efficiency of cisplatin in rats in vitro and in vivo. *PLoS One*. 2013;8(12):e80850.
- Kilic U, Kilic E, Tuzcu Z, Tuzcu M, Ozercan IH, Yilmaz O, et al. Melatonin suppresses cisplatin-induced nephrotoxicity via activation of Nrf-2/HO-1 pathway. *Nutr Metab*. 2013;10(1):7.
- Hacker NF, Gambone JC, Hobel CJ, editors. *Hacker & Moore's essentials of obstetrics & gynecology*. Sixth edition. Philadelphia, PA: Elsevier; 2016. 497 p.
- He M, Xue Z, Li J, Zhou B. Brevescapine inhibits high glucose-induced proliferation and migration of cultured vascular smooth muscle cells of rats via suppressing the ERK1/2 MAPK signaling pathway. *Acta Pharmacol Sin*. 2012;33(5):606–14.
- Ahmad A, Husain A, Mujeeb M, Khan SA, Najmi AK, Siddique NA, et al. A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2013;3(5):337–52.
- Dollah MA, Parhizkar S, Izwan M. Effect of *Nigella sativa* on the kidney function in rats. *Avicenna J Phytomedicine*. 2013;3(2):152–8.
- Erboga M, Kanter M, Aktas C, Sener U, Fidanol Erboga Z, Bozdemir Donmez Y, et al. Thymoquinone ameliorates cadmium-induced nephrotoxicity, apoptosis, and oxidative stress in rats is based on its anti-apoptotic and anti-oxidant properties. *Biol Trace Elem Res*. 2016;170(1):165–72.
- Hosseinian S, Rad AK, Hadjzadeh M-A-R, Roshan NM, Havakhah S, Shafiee S. The protective effect of *Nigella sativa* against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Avicenna J Phytomedicine*. 2016;6(1):44–54.
- Farooqui Z, Ahmed F, Rizwan S, Shahid F, Khan AA, Khan F. Protective effect of *Nigella sativa* oil on cisplatin induced nephrotoxicity and oxidative damage in rat kidney. *Biomed Pharmacother*. 2017;85:7–15.
- Ibrahim A, Eldaim MAA, Abdel-Daim MM. Nephroprotective effect of bee honey and royal jelly against subchronic cisplatin toxicity in rats. *Cytotechnology*. 2016;68(4):1039–48.
- Palipoch S, Punsawad C. Biochemical and histological study of rat liver and kidney injury induced by Cisplatin. *J Toxicol Pathol*. 2013;26(3):293–9.
- Chou TC. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacol Rev*. 2006;58(3):621–81.
- El-Kholy WM, Hassan HA, Nour SE, Elmageed ZEA, Matrougui K. Hepatoprotective effects of *Nigella sativa* and bees' honey on hepatotoxicity induced by administration of sodium nitrite and sunset yellow. *FASEB J*. 2009;23:733.
- Ameen NMA, Altubaigy F, Jahangir T, Mahday IA, Mohammed EA, Musa OAA. Effect of *Nigella sativa* and bee honey on pulmonary, hepatic and renal function in Sudanese in Khartoum state. *J Med Plants Res*. 2011;5(31).
- Hadi MY, Mohammed GJ, Hameed IH. Analysis of bioactive chemical compounds of *Nigella sativa* using gas chromatography-mass spectrometry. *J Pharmacogn Phytother*. 2015;8(2):8–24.
- Farhadi F, Karimi G, Mashayekhi-Sardoo H, Shoaehagh P, Mashayekhi-Sardoo A. A review on toxicological properties of thymoquinone a natural broad spectrum ingredient. *Res J Pharmacogn*. 2017;106.
- Ngoi V. Effect of processing treatment on antioxidant, physicochemical and enzymatic properties of honey (*Trigona* spp.). Tunku Abdul Rahman Univ. 2016 Sep;
- Rahma S, Natsir R, Kabo P. Pengaruh antioksidan madu dorsata dan madu rigona terhadap penghambatan oksidasi LDL pada mencit hiperkolestrolemia. *JST Kesehatan*. 2014;4(4):377–84.
- Oddo LP, Heard TA, Rodriguez MA. Composition and antioxidant activity of *Trigona carbonaria* honey from Australia. *J Med Food*. 2008;11(4):789–94.
- Mohamed M, Sulaiman SA, Jaafar H, Sirajudeen KNS. Antioxidant protective effect of honey in cigarette smoke-induced testicular damage in rats. *Int J Mol Sci*. 2011;12(9):5508–21.
- Kamilatussaniah, Yuniastuti A, Iswari R. Pengaruh suplementasi madu kelengkeng terhadap kadar TSA dan MDA tikus putih yang diinduksi timbal (Pb). *J MIPA*. 2015;38(2):108–14.
- Mut-Salud N, Alvarez PJ, Garrido JM, Carrasco E, Aránega A, Rodríguez-Serrano F. Antioxidant intake and antitumor therapy: Toward nutritional recommendations for optimal results. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:6719534.
- Mohamad S, Ibrahim NH, Yusof H. Blood pressure and lipid lowering effects of *nigella sativa* seeds and honey mixture. *IOSR J Nurs Health Sci*. 2014;3(5):89–96.
- Chen D, Liu X, Yang Y, Yang H, Lu P. Systematic synergy modeling: understanding drug synergy from a systems biology perspective. *BMC Syst Biol* [Internet]. 2015;9(1). Available from: <http://www.biomedcentral.com/1752-0509/9/56>.