

**EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa* .L)
TERHADAP SEL HELA**

**THE CYTOTOXIC EFFECT OF BLACK CUMIN (*Nigella sativa* .L)
ON HELA CELLS**

Dhina Amalia Putri¹, Erna Mirani², Imam D.Mashoedi³

¹Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (Unissula) Semarang

²Bagian Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (Unissula) Semarang

³Bagian Ilmu Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (Unissula) Semarang

ABSTRAK

Jinten hitam atau *Nigella sativa* .L yang sudah lama dikenal sebagai pengobatan tradisional akhir-akhir ini dilaporkan dari berbagai penelitian mempunyai efek sitotoksik terhadap lini sel kanker manusia dan berpotensi sebagai anti kanker. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui lebih lanjut mengenai efek sitotoksik ekstrak biji jinten hitam terhadap sel hela atau sel kanker serviks. Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan *post-test only control group design*. Sel hela ditumbuhkan dalam 36 well (sumuran) yang terdiri dari seri konsentrasi sampel, doxorubisin dan kontrol sel. Seri konsentrasi sampel terdiri dari 9,09%, 10%, 11,11%, 12,5%, 14,28%, 16,67%, 20%, 25%, 33,3%, dan 50% dengan tiga kali pengulangan. Efek sitotoksik berupa kematian sel hela diamati dengan metode penghitungan langsung (*direct counting*) dengan pewarna *trypan blue*. Prosentase kematian sel hela tertinggi terdapat pada konsentrasi 25% yaitu 79,72% sedangkan prosentase kematian sel hela terendah pada konsentrasi 10% yaitu 58,35. Prosentase kematian sel hela pada doxorubisin adalah 90,67%. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara ekstrak biji jinten hitam dengan doxorubisin ($p > 0,05$). LC_{50} yang dihasilkan dari analisa probit pada ekstrak biji jinten hitam ini adalah sebesar 19,738 μ l/ml. Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa* .L) memiliki efek sitotoksik dan berpotensi sebagai anti kanker.

Kata kunci: efek sitotoksik, biji jinten hitam, *Nigella sativa* .L, sel hela

ABSTRACT

Black cumin or Nigella sativa .L has long been r as a traditional medicine. studies has shown its cytotoxic effects against human cancer cell lines and anti-cancer potential. This research was conducted to find out more about the cytotoxic effects of black cumin seeds extract (Nigella sativa. L) of hela cell or cervical cancer cells. This laboratory experimental research used a post-test only control group design. Hela cell was grown in 36 wells with various concentration of doxorubicin and control cells. Sample concentration series included 9.09%, 10%, 11.11%, 12.5%, 14.28%, 16.67%, 20%, 25%, 33.3%, and 50% with three times repetition. Cytotoxic effects of hela cell death was observed with direct methods (direct counting) using trypan blue dye. The highest and the lowest percentage for the death of hela cell was found at the concentration of of 25% (79,72%) and 10% (58,35% respectively. The percentage hela cell death for doxorubicin was 90,67%. Kruskal Wallis test showed no significant difference between black cumin seed extract with doxorubicin ($p > 0.05$). Probit analysis showed that LC_{50} of black cumin seeds extract (Nigella sativa. L) was 19.738 μ L/ml. In conclusion, black cumin seed extract (Nigella sativa. L) has a cytotoxic effect and anti-cancer potential.

Keywords: cytotoxic effects, black cumin seed, *Nigella sativa. L*, hela cell

PENDAHULUAN

Jinten hitam (*Nigella sativa* linn) yang sudah lama dikenal sebagai pengobatan tradisional dalam kurun waktu 10-20 tahun terakhir ini telah banyak diteliti mengenai

manfaatnya. Hasil penelitian melaporkan bahwa ekstrak biji jinten hitam dengan *thymoquinone* sebagai zat aktif utamanya mempunyai efek sitotoksik terhadap lini sel kanker manusia, anti kanker hati, imunomodulasi (peningkatan fungsi sel-sel limfosit T dan B, sel NK, sel makrofag, sel CTL, produksi IL-2 dan 3, TNF- β_4) dan menginduksi apoptosis. *Thymoquinon* juga diketahui dapat menghambat sel-sel kanker yang telah resisten terhadap pengobatan anti kanker sebelumnya seperti cisplatin dan doxorubisin. Penelitian lainnya juga menyebutkan bahwa ekstrak jinten hitam mengandung asam-asam lemak yang secara *in vitro* mempunyai efek sitotoksik sebesar 50% terhadap kanker-kanker hati *Ehrlich Ascites Carcinoma* (EAC), *Dalton's lymphoma Ascites* (DLA) dan sel kanker ganas Sarkoma-180, dan secara *in vivo* dapat menghambat perkembangan EAC secara sempurna (Hendrik, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana efek sitotoksik ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa .L*) terhadap sel hela. Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi ilmiah mengenai efek sitotoksik ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa .L*) terhadap sel hela dan sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya serta memberikan informasi kepada masyarakat bahwa ekstrak biji jinten hitam dapat digunakan sebagai alternatif anti kanker. Hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat efek sitotoksik pada dosis LC50 dari ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa .L*) terhadap sel hela.

BAHAN DAN CARA PENELITIAN

Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan rancangan *post test only control group design*. Variabel bebasnya adalah ekstrak biji jinten hitam yang dibuat dalam konsentrasi 9,09%, 10%, 11,11%, 12,5%, 14,28%, 16,67%, 20%, 25%, 33,3%, dan 50%. Variabel tergantungnya adalah sel hela. Sampel sel hela diambil dengan model rancangan acak lengkap yaitu sel hela yang telah dikultur selama 24 jam, dengan morfologi yang utuh, dapat berkembang dan tidak rusak. Sel hela ditumbuhkan dalam 36 *well* (sumuran) untuk digunakan *treatment* (perlakuan) dengan ekstrak yang sudah dibuat dalam sepuluh konsentrasi yang sudah ditentukan dengan tiga kali pengulangan. Sisa sel hela pada enam *well* lainnya digunakan untuk doksorubisin dan kontrol sel. Efek sitotoksik yang diteliti adalah prosentase kematian sel hela yang terwarna dengan

trypan blue dan dihitung secara langsung (*direct counting*) dengan bilik hitung (*haemocytometer*).

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (Unissula) Semarang. Data yang diperoleh dalam penelitian ini selanjutnya diuji normalitas dengan menggunakan uji Shapiro Wilk. Karena sebaran data tidak normal maka dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis. Penentuan LC_{50} menggunakan analisa probit (Dahlan, 2006).

HASIL PENELITIAN

Hasil uji sitotoksik dengan metode penghitungan langsung (*direct counting*) disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Rerata prosentase kematian sel hela pada berbagai konsentrasi ekstrak dan doksorubisin

Konsentrasi (%)	Rerata Prosentase Kematian (%)
9,09	73,77
10	58,35
11,11	68,89
12,50	69,43
14,28	60,04
16,67	58,39
20	60,22
25	79,72
33,33	72,22
50	71,63
Doksorubisin	90,67

Rerata prosentase kematian tertinggi ekstrak biji jinten hitam diperoleh pada konsentrasi 25% yaitu sebesar 79,72% dan rerata prosentase kematian terendah diperoleh pada konsentrasi 10% yaitu sebesar 58,35% sedangkan rerata prosentase kematian doksorubisin adalah sebesar 90,67%. Sebaran data yang dihasilkan dari uji normalitas adalah tidak normal sehingga untuk mengetahui apakah ada perbedaan pada prosentase kematian sel hela antara ekstrak biji jinten hitam dengan doksorubisin digunakan uji alternatif yaitu uji Kruskal Wallis. Hasil yang diperoleh melalui uji ini adalah nilai $p = 0,159$. Oleh karena nilai $0,159 > 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna (signifikan) antara ekstrak biji jinten hitam dengan doksorubisin pada kematian sel hela. Nilai LC_{50} dianalisis dengan analisa probit. Nilai LC_{50} pada ekstrak jinten hitam ini adalah sebesar 19,738 $\mu\text{l/ml}$.

PEMBAHASAN

Data yang diolah dengan uji Kruskal Wallis mencakup data hasil prosentase kematian sel hela dengan perlakuan ekstrak biji jinten hitam dalam berbagai konsentrasi dengan prosentase kematian sel hela dengan perlakuan doksorubisin. Nilai p yang dihasilkan dari uji tersebut adalah 0,159 ($p > 0,05$) yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna (signifikan) antara perlakuan ekstrak biji jinten hitam dalam berbagai konsentrasi dengan perlakuan doksorubisin terhadap kematian sel hela sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji jinten memiliki efek sitotoksik yang sama atau tidak berbeda bermakna dengan efek sitotoksik doksorubisin.

Doksorubisin memiliki rerata prosentase kematian sel hela yang lebih tinggi yaitu 90,67% dibandingkan dengan rerata prosentase kematian sel hela pada ekstrak jinten hitam yaitu 79,72%. Hal ini terjadi karena doksorubisin merupakan zat aktif tunggal yang berfungsi sebagai anti kanker sementara ekstrak biji jinten hitam masih terdiri dari berbagai zat aktif yang fungsinya masih belum diketahui. Uji sitotoksik ekstrak biji jinten hitam ini dilakukan untuk mengetahui potensi toksisitasnya terhadap sel hela. Parameter yang digunakan dalam uji sitotoksik ini adalah LC_{50} yang merupakan manifestasi toksisitas. LC_{50} merupakan konsentrasi suatu zat yang mampu mematikan sel sebesar 50% populasi. Bila nilai $LC_{50} \leq 30 \mu\text{g/ml}$, zat tersebut bersifat sitotoksik atau berpotensi sebagai anti kanker (Djajanegara dan Priyo, 2010). Nilai LC_{50} yang dianalisis dengan analisa probit pada penelitian ini sebesar 19.738 $\mu\text{l/ml}$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji jinten hitam memiliki efek sitotoksik.

Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Gali-Muhtasib *dkk.* (2004a) yang melaporkan biji jinten hitam memiliki potensi aktivitas kemoterapi (efek sitotoksik) terhadap sel-sel kanker kulit yaitu papiloma (SP-1) dan spindle (17) sel karsinoma pada tikus. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian Gali-Muhtasib *dkk.* (2004a) tersebut selain pada sel kanker yang digunakan juga dari bahan sediaan jinten hitam. Penelitian ini menggunakan ekstrak yang diperoleh dari hasil maserasi sedangkan penelitian Gali-Muhtasib *dkk.* (2004a) menggunakan zat aktif yang telah dipisahkan dari ekstrak biji jinten hitam yaitu *thymoquinone*.

Berbagai penelitian melaporkan *thymoquinone* merupakan zat aktif dari biji jinten hitam yang berperan pada efek sitotoksik terhadap sel kanker (Hendrik, 2005). Penggunaan tunggal zat aktif ini pada uji sitotoksik memberikan hasil yang lebih

signifikan daripada penggunaan ekstrak biji jinten hitam karena pada ekstrak selain *thymoquinone* masih terkandung zat aktif lain seperti *p-cimena*, *etil linoleat* dan *asid linoleik* (Hasnah dkk, 2001). Bentuk ekstrak pada penelitian ini adalah ekstrak kental yang diperoleh melalui macerasi dengan pelarut ethanol. Ekstrak ini sulit dijadikan serbuk karena mengandung asam-asam lemak jenuh dan tak jenuh serta minyak atsiri yang cukup banyak (Bruits dan Bucar, 2000) sehingga pada proses pengeringan dan pelarutan dengan media kultur cukup sulit.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode penghitungan langsung (*direct counting*) yang dilakukan di bawah mikroskop dan menggunakan zat pewarna *trypan blue*. Penetapan jumlah sel yang mati setelah di uji sitotoksik dengan metode ini berdasarkan parameter kerusakan membran sel (Marque dkk., 1999). Pada saat sel hela mati, maka akan terjadi kerusakan membran sehingga *trypan blue* dapat terserap masuk ke dalam sel sehingga sel yang mati akan tampak biru sedangkan sel yang hidup masih tampak bening. Perbedaan yang tampak melalui warna sel inilah yang dihitung secara langsung.

Makna dari penelitian ini adalah sebagai informasi bagi masyarakat bahwa biji jinten hitam dapat digunakan sebagai alternatif anti kanker terutama kanker serviks. Kendala dalam penelitian ini adalah pada proses pelarutan ekstrak biji jinten hitam yang kental dengan media kultur saat membuat seri sampel dalam berbagai konsentrasi. Hal ini disebabkan karena ekstrak biji jinten hitam ini memiliki kandungan asam-asam lemak jenuh dan tak jenuh serta minyak atsiri sehingga kelarutan yang didapatkan sangat sedikit.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah pada proses pengambilan data atau penghitungan jumlah sel yang hidup dan sel yang mati dengan metode penghitungan langsung (*direct counting*). Selain membutuhkan keterampilan yang memadai, sifat dari penghitungan ini masih cukup subjektif. Selain itu pewarna *trypan blue* yang digunakan bersifat karsinogenik sehingga bila penghitungan sel tidak dilakukan dengan cepat akan berpengaruh pada hasil data yang diperoleh.

KESIMPULAN

Efek sitotoksik ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa .L*) terhadap sel hela pada konsentrasi 9,09% adalah 73,77%, konsentrasi 10% adalah 58,35%, konsentrasi 11,11% adalah 68,89%, konsentrasi 12,50% adalah 69,43%, konsentrasi 14,28% adalah

60,04%, konsentrasi 16,67% adalah 58,39%, konsentrasi 20% adalah 60,22%, konsentrasi 25% adalah 79,72%, konsentrasi 33,33% adalah 72,22%, dan konsentrasi 50% adalah 71,63%. Nilai LC₅₀ pada ekstrak biji jinten hitam (*Nigella sativa* .L) adalah 19,738 µl/ml.

SARAN

Diperlukan penelitian efek sitotoksik terhadap sel hela dengan zat aktif *thymoquinone* yang telah dipisahkan dari minyak atsiri biji jinten hitam (*Nigella sativa* .L). Diperlukan penelitian mengenai efek sitotoksik biji jinten hitam (*Nigella sativa* .L) terhadap sel hela dengan metode MTT assay.

DAFTAR PUSTAKA

- Amaratina, R., 2009, *Organisasi genom dan varian molekuler Human Papiloma tipe 16 sebagai penyebab karsinoma serviks*, Jurnal Ilmu Kedokteran, Badan Peneliti Kedokteran Fakultas Kedokteran Riau dan IDI Wilayah Riau, (3): 9
- Burits, M., Bucar, F., 2000, Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil, *Phytotherapy Research*, (14): 323–328.
- Dahlan, M.S., 2006, *Statistika Untuk Kedokteran Dan Kesehatan*, seri 1, Arkans, Jakarta, h:1-28, 47-56, 86-97
- Djajanegara, I., Priyo, W., 2010, Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Herba Ceplukan (*Physalis angulata linn*) terhadap sel T47D secara In vitro, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 8 (1):41-47
- Gali-Muhtasib HU, Abou Kheir WG, Kheir LA, Darwiche N, Crooks PA, 2004, Molecular pathway for thymoquinone-induced cell-cycle arrest and apoptosis in neoplastic keratinocytes, *Journal of Anticancer Drugs*, American University of Beirut, (4):389-99
- Hasnah M. Sirat, Norazah Basar and Err Mei Fang, 2001, Analisis Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*), *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, Vol. 7,(1): 245-248
- Hendrik, 2005, *Habbatus Sauda Thibbun Nabawiy dalam Menangani Berbagai Penyakit dan Memelihara Kesehatan Tubuh*, Pustaka Al Umat, Surakarta, h: 70, 81-82, 91
- Mardjikoeno, P., 1999, Tumor Ganas Pada Alat-Alat Jinak, dalam: Wiknjosastro, *Ilmu Kandungan*, Edisi Kedua, YBP-SP FKUI, Jakarta, h: 380-381
- Marque D. Todd, Xiaodong Lin, Leon F. Stankowski, Jr., Manoj Desai, and Grushenka H.I. Wolfgang, 1999, Toxicity Screening of a Combinatorial Library: Correlation of Cytotoxicity and Gene Induction to Compound Structure, *Journal Biomolecular Screening*, (4): 259-268
- Reid, J.L., Peter C.R, Brian W., 2008, *Catatan Kuliah Farmakologi Klinis Edisi 4*, Jakarta, EGC, h:177-178.