

PEMANFAATAN EKSTRAK JINTAN HITAM UNTUK MENURUNKAN KADAR ENZIM Lp-PLA₂ SEBAGAI KANDIDAT PENGOBATAN ATEROSKLEROSIS

Retno Susilowati¹, Evika Sandi Savitri dan Kholifah Holil
Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang
Jl. Gajayana 50 Malang
E-mail: ¹susilowatiretno_pd@yahoo.com

ABSTRAK

*Ox-LDL deposits in the sub-endothelial easily occur in individuals who have hyperlipidemia accompanied with oxidative stress. The enzyme Lp-PLA₂ is an enzyme marker of three proatherogenic conditions, those are hyperlipidemia, oxidative stress and inflammation. Black cumin seeds (*Nigella sativa* L.) have antioxidants ingredient that can inhibit lipid peroxidation, and expected to inhibit atherosclerosis through decreased levels of the enzyme Lp-PLA₂ and F₂-Isp. This study used posttest only control group design using experimental animals *Rattus norvegicus* Wistar males. The study analysed the number of foam cells, lipid profile, Lp-PLA₂ and F₂-Isp plasma levels in hyperlipidemia rats were given extracts of black cumin seeds with 3 different doses (0; 3.6 and 7.2 mg / kg). The results showed that the extract of black cumin seeds can decrease serum levels of Lp-PLA₂, tend to reduce the formation of foam cells, but not significant to decreasing levels of F₂-Isp. Black cumin seeds extract can decrease cholesterol, TG, LDL and increase HDL in the blood serum. The extract of black cumin seeds is anti atherogenic by reducing the enzyme Lp-PLA₂ and improve lipid profiles.*

Key words: Black cumin seeds, Lp-PLA₂ enzyme, atherosclerosis

PENGANTAR

Aterosklerosis adalah penyakit inflamasi kronik dan sering terjadi pada individu hiperkolesterol yang mengalami stress oksidasi yang ditunjukkan oleh peningkatan kadar F₂-Isp. Enzim Lp-PLA₂ merupakan enzim marker tiga kondisi proaterogenik yaitu hiperlipidemi, stress oksidasi dan inflamasi proaterogenik. Aterosklerosis merupakan etiologi primer penyakit kardiovaskuler telah menjadi penyebab kematian terbesar di dunia (WHO, Mendis *et al.*, 2011). Sebanyak 30–40% penderita CVD memiliki kadar kolesterol normal (Winkler *et al.*, 2007; Davidson, 2008). Paparan diet hiperkolesterol selama 4 minggu pada babi diabetes mampu meningkatkan enzim Lp-PLA₂ dalam plasma hampir maksimal dan tidak berbeda nyata dengan paparan 3 dan 6 bulan (Shi *et al.*, 2007), namun potensinya menghambat pembentukan sel busa masih perlu dibuktikan. Hal ini menunjukkan bahwa Lp-PLA₂ merupakan biomarker risiko aterosklerosis yang akurat, namun penurunan Lp-PLA₂ plasma sampai saat ini belum dimanfaatkan sebagai indikator keberhasilan pengobatan.

Jintan hitam merupakan sumber antioksidan mampu meningkatkan SOD, GSH dan katalase sebagai antioksidan sehingga mampu menurunkan stress oksidasi dan menurunkan peroksidasi lipid (Kanter *et al.*, 2005; Al-Makki, 2006; Hakim, 2007). Jintan hitam mampu menurunkan MDA di liver yang diinduksi oleh CCl₄ (Kanter *et al.*, 2003). Ekstrak etanol jintan hitam telah menunjukkan fungsinya sebagai

antiinflamasi pada ginjal yang diinduksi oleh etilen glikol (Hadjzadeh *et al.*, 2007). Pemberian jintan hitam dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi oksidan STZ, namun tidak menurunkan kadar glukosa darah mencit normal (Susilowati, 2006) serta meningkatkan kadar GOT dan GPT hepar mencit yang dipapar oksidan CCl₄ (Susilowati, 2009). Hal ini menunjukkan bahwa jintan hitam dapat menghambat peroksidasi lipid, sehingga diduga mampu menurunkan kadar enzim Lp-PLA₂ dan F₂-Isp dalam plasma darah sehingga mampu menghambat aterosklerosis. Keseimbangan oksidasi yang baru terbentuk akibat pemberian jintan hitam dapat meningkatkan efluk kolesterol dari sel busa di sub intima pembuluh darah diduga diperankan oleh peningkatan HDL sehingga diharapkan dapat dimanfaatkan pada pengobatan aterosklerosis. Penelitian ini mengungkap potensi ekstrak jintan hitam untuk menghambat dan mengobati aterosklerosis melalui potensinya menurunkan stres oksidasi yang dilihat dari penurunan kadar Lp-PLA₂ dan F₂-Isp serta menghambat pembentukan sel busa.

BAHAN DAN CARA KERJA

Obyek dalam penelitian ini adalah tikus menggunakan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan yang diperoleh dari Pusvetma Surabaya. Penelitian ini dilakukan menggunakan rancangan penelitian *post test only control group design*. Biji jintan hitam dalam penelitian ini diperoleh

dari Balai Materia Medika Batu-Malang. Pembuatan ekstrak jintan hitam dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut alkohol dan penguapan pelarut dilakukan menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40° C hingga diperoleh ekstrak kental.

Variabel bebas penelitian ini adalah pemberian ekstrak jintan hitam dengan 3 dosis berbeda (0; 3,6 dan 7,2 mg/kgbb) yang diberikan kepada tikus diet normal maupun hiperkolesterol. Terdapat 5 variasi perlakuan yaitu Diet Hiperkolesterol + JH Dosis 0 mg/kgbb (HK-JH0); Diet Hiperkolesterol + JH Dosis 3,6 mg/kgbb (HK-JH1); Diet Hiperkolesterol + JH Dosis 7,2 mg/kgbb (HK-JH2); Diet Normokolesterol + JH Dosis 0 mg/kgbb (NK-JH0) dan Diet Normokolesterol + JH Dosis 7,2 mg/kgbb ((NK-JH2). Pemberian ekstrak jintan hitam dilakukan selama 1 bulan. Pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis 7,2 mg/ekor pada tikus normokolesterol dilakukan untuk mengetahui gambaran efek jintan hitam dosis tinggi pada individu normal yang melakukan pencegahan atherogenesis.

Variabel tergantung penelitian ini adalah profil lipid plasma (total kolesterol, trigliserida, LDL, HDL), kadar Lp-PLA₂ dan F₂-isoprotan dalam plasma, serta jumlah sel busa pada jaringan aorta yang diamati pada akhir perlakuan.

Kadar Lp-PLA₂ dan F₂-Isp diukur menggunakan metode Elisa. Jumlah sel busa diamati pada irisan beku aorta dengan pewarna oil red O. Kadar kolesterol, TG, LDL dan HDL diukur menggunakan metode enzimatik.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar Lp-PLA₂ dan F₂-Isp dan profil lipid (Tc, TG, LDL, HDL) serum diantara dosis ekstrak nigella yang berbeda dilakukan analisis ANOVA. Jika terdapat perbedaan yang signifikan maka untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda nyata, dilakukan uji lanjut LSD. Untuk mempermudah analisis data, pada penelitian ini digunakan *software* SPSS dengan output data berupa tabel hasil analisis.

HASIL

Kadar Lp-PLA₂ dalam serum darah

Pada penelitian ini, untuk mempercepat peningkatan enzim Lp-PLA₂, setelah diberi pakan kolesterol selama 30 hari, tikus hiperkolesterol ini diinduksi diabetes dengan induktan STZ yang disuntikan secara intraperitoneal dengan multiple dosis sebanyak 30 mg/kgBB sebanyak 3 kali dengan selang pemberian 5 hari. Pada hari ke 15 dilakukan pengukuran kadar glukosa darah. Hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus normal adalah berkisar antar 80–110 mg/dl sedangkan kadar glukosa tikus hiperkolesterol cukup variatif, sehingga untuk kelompok perlakuan digunakan

Tabel 1. Hasil uji LSD Kadar Enzim Lp-PLA₂ dalam Serum Darah Tikus Hiperkolesterol yang diberi ekstrak biji jintan hitam

Perlakuan	Rerata ± Std (ng/mL)	Notasi
HK-JH0	562,22 ± 63,91	A
HK-JH1	467,39 ± 55,50	B
HK-JH2	351,39 ± 45,35	C
NK-JH0	170,28 ± 11,66	D
NK-JH2	208,50 ± 38,62	D

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti dengan notasi berbeda menunjukkan berbeda signifikan pada taraf kesalahan 0,05

tikus hiperkolesterol dengan kadar gula sebesar minimal 130 mg/dl.

Dari hasil ekstraksi jintan hitam dengan pelarut alkohol diperoleh rendemen rata-rata sebesar 40%. Berdasarkan penelitian sebelumnya dosis jintan hitam untuk manusia adalah 1 g per hari. Melalui nilai konversi untuk tikus sampai akhir penelitian diperkirakan memiliki rata-rata berat badan 100 g, maka dosis untuk masing-masing tikus sebesar 3,6 mg untuk dosis 1 dan 7,2 mg untuk dosis 2 yang dilarutkan dalam CMC 0,1%. Ekstrak diberikan setiap hari dengan cara disonde dan tikus dosis 0 diberi CMC 0,5 ml CMC 0,1%.

Data kadar enzim Lp-PLA₂ serum diantara 4 perlakuan yang berbeda memiliki nilai statistik Levene 1,938 dengan nilai signifikansi $p > 0,05$ dan nilai Z Kolmogorov-Smirnov 0,463 dengan nilai $Z > 0,05$ sehingga data memenuhi kaidah parametrik homogenitas dan distribusi normal. Hasil uji *One Way* ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap kadar enzim Lp-PLA₂ (F hitung 63,364; $F < 0,01$). Hasil uji lanjut menggunakan LSD menunjukkan bahwa kadar enzim Lp-PLA₂ perlakuan HK-JH0 berbeda signifikan dengan kadarnya pada HK-JH1 dan HK-JH2. Pemberian ekstrak jintan hitam dosis 1 dapat menurunkan kadar enzim Lp-PLA₂ serum seiring meningkatnya dosis meskipun pemberian dosis 2 belum bisa menurunkan kadar Lp-PLA₂ hingga kembali normal (NK-JH0). Pemberian ekstrak jintan hitam pada tikus normal tidak mempengaruhi kadar enzim Lp-PLA₂ dalam serum (Tabel 1).

Kadar F₂-Isp dalam Serum Darah

Data kadar F₂-Isp serum diantara 4 perlakuan yang berbeda memiliki nilai statistik Levene 0,751 dengan nilai signifikansi $p > 0,05$ dan nilai Z Kolmogorov-Smirnov 1,034 dan signifikansi $Z > 0,05$ sehingga data memenuhi kaidah parametrik homogenitas dan distribusi normal. Hasil uji *One Way* ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh tidak nyata terhadap kadar F₂-Isp (F hitung

Tabel 2. Rerata Kadar F_2 -Isp dalam Serum Darah Tikus Hiperkolesterol yang diberi ekstrak biji jintan hitam

Perlakuan	Rerata \pm STD (ng/mL)
HK-JH0	5332,6 \pm 393,26
HK-JH1	5436,2 \pm 359,54
HK-JH2	5369,2 \pm 158,79
NK-JH0	5198,8 \pm 341,21
NK-JH2	5332,6 \pm 393,26

0,325; $F > 0,05$). Kadar F_2 -Isp diantara 5 perlakuan yang berbeda memiliki rerata kadar F_2 -Isp yang sama (Tabel 2).

Kadar Kolesterol dalam Serum Darah

Data kadar kolesterol serum diantara 4 perlakuan yang berbeda memiliki nilai statistik Levene 1,415 dengan nilai signifikansi $p > 0,05$ dan nilai Z Kolmogorov-Smirnov 0,463 dan nilai signifikansi $p > 0,05$ sehingga data memenuhi kaidah parametrik homogenitas dan distribusi normal. Hasil uji One Way ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap kadar kolesterol dalam serum darah tikus (F hitung 294,390; $F < 0,01$). Hasil uji lanjut menggunakan LSD menunjukkan bahwa kadar enzim Lp-PLA₂ perlakuan HK-JH0 berbeda signifikan dengan kadarnya pada HK-JH1 dan HK-JH2. Pemberian ekstrak jintan hitam dosis I dapat menurunkan kadar kolesterol serum seiring meningkatnya dosis meskipun pemberian dosis II belum bisa menurunkan kadar kolesterol hingga kembali normal (NK-JH0). Pemberian ekstrak jintan hitam pada tikus normal tidak mempengaruhi kadar enzim Lp-PLA₂ dalam serum (Tabel 3).

Kadar Triglicerida dalam Serum Darah

Data kadar triglicerida serum diantara 4 perlakuan yang berbeda memiliki nilai statistik Levene 1,496 dengan nilai signifikansi $p > 0,05$ dan nilai Z Kolmogorov-Smirnov $Z < 1,96$ dengan signifikansi $p > 0,05$ sehingga data memenuhi kaidah parametrik homogenitas dan distribusi normal.

Tabel 3. Hasil uji LSD Kadar Kolesterol dalam Serum Darah Tikus Hiperkolesterol yang diberi ekstrak biji jintan hitam

Perlakuan	Rerata \pm STD (mg/dL)	Notasi
HK-JH0	235,49 \pm 6,73	A
HK-JH1	180,62 \pm 6,26	B
HK-JH2	143,27 \pm 7,40	C
NK-JH0	122,39 \pm 2,33	D
NK-JH2	139,23 \pm 5,33	C

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti dengan notasi berbeda menunjukkan berbeda signifikan pada taraf kesalahan 0,05

Tabel 4. Hasil uji LSD Kadar Triglicerida dalam Serum Darah Tikus yang diberi Ekstrak Jintan Hitam

Perlakuan	Rerata \pm STD (mg/dL)	Notasi
HK-JH0	176,12 \pm 5,28	A
HK-JH1	149,77 \pm 7,88	B
HK-JH2	124,13 \pm 3,08	C
NK-JH0	113,07 \pm 8,27	D
NK-JH2	125,06 \pm 4,88	C

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti dengan notasi berbeda menunjukkan berbeda signifikan pada taraf kesalahan 0,05

Hasil uji *One Way* ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap kadar triglicerida serum (F hitung 84,52; $F < 0,01$). Hasil uji lanjut menggunakan LSD menunjukkan bahwa kadar triglicerida perlakuan HK-JH0 berbeda signifikan dengan kadarnya pada HK-JH1 dan HK-JH2. Pemberian ekstrak jintan hitam dosis 1 dapat menurunkan kadar triglicerida serum seiring meningkatnya dosis meskipun pemberian dosis 2 belum bisa menurunkan triglicerida hingga kembali normal (NK-JH0) (Tabel 4).

Kadar LDL dalam Serum Darah Tikus

Data kadar LDL serum diantara 4 perlakuan yang berbeda memiliki nilai statistik Levene 7,214 dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ dan nilai Z Kolmogorov-Smirnov 0,500 sehingga data tidak memenuhi kaidah parametrik homogenitas, tetapi data memiliki distribusi normal. Hasil uji non papametrik menunjukkan bahwa perbedaan perlakuan menimbulkan perbedaan kadar LDL (nilai statistik Welch sebesar 1,074 dan Statistik Brown-Forsythe sebesar 446,214 keduanya memiliki signifikansi $p < 0,01$). Hasil uji lanjut non parametrik menggunakan Tamhene menunjukkan bahwa kadar LDL perlakuan HK-JH0 berbeda signifikan dengan kadarnya pada HK-JH1 dan HK-JH2 Pemberian ekstrak jintan hitam dosis I dapat menurunkan kadar LDL serum seiring meningkatnya dosis dan pemberian dosis II belum bisa menurunkan kadar LDL hingga kembali normal (belum sama dengan NK-JH0). Pemberian ekstrak jintan hitam pada tikus normal tidak mempengaruhi LDL dalam serum (Tabel 5).

Tabel 5. Hasil uji Tamhene LDL dalam Serum Darah Tikus

Perlakuan	Rerata \pm STD (mg/dL)	Notasi
HK-JH0	158,45 \pm 4,25	A
HK-JH1	88,32 \pm 6,10	B
HK-JH2	46,66 \pm 7,07	C
NK-JH0	23,00 \pm 0,93	D
NK-JH2	35,51 \pm 7,95	D

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti dengan notasi berbeda menunjukkan berbeda signifikan pada taraf kesalahan 0,05

Tabel 6. Hasil uji LSD Kadar HDL dalam Serum Darah Tikus yang diberi Ekstrak Jintan Hitam

Perlakuan	Rerata \pm STD (mg/dL)	Notasi
HK-JH0	39,64 \pm 6,79	A
HK-JH1	63,18 \pm 3,57	B
HK-JH2	74,60 \pm 3,49	C
NK-JH0	78,23 \pm 4,48	C
NK-JH2	125,79 \pm 5,29	D

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti dengan notasi berbeda menunjukkan berbeda signifikan pada taraf kesalahan 0,05

Kadar HDL dalam Serum Darah

Data kadar HDL serum diantara 4 perlakuan yang berbeda memiliki nilai statistik Levene 0,885 dengan nilai signifikansi $p > 0,05$ dan nilai Z Kolmogorov-Smirnov 0,886 dengan signifikansi $p > 0,05$ sehingga data memenuhi kaidah parametrik homogenitas dan distribusi normal. Hasil uji *One Way* ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap kadar HDL (F hitung 208,174; $F < 0,01$). Hasil uji lanjut menggunakan LSD menunjukkan bahwa kadar HDL perlakuan HK-JH0 berbeda signifikan dengan kadarnya pada HK-JH1 dan HK-JH2. Pemberian ekstrak jintan hitam dosis 1 dapat meningkatkan kadar HDL serum seiring meningkatnya dosis, pemberian dosis 2 bisa meningkatkan kadar HDL hingga kembali normal (sama dengan NK-JH0). Pemberian ekstrak jintan hitam pada tikus normal meningkatkan kadar HDL dalam serum melebihi normal (Tabel 6).

Jumlah sel busa

Data jumlah sel busa perluas bidang pandang mikroskop pada perbesaran 10×40 di antara 4 perlakuan yang berbeda memiliki nilai statistik Levene 0,877 dengan nilai signifikansi $p > 0,05$ dan nilai Z Kolmogorov-Smirnov 0,929 dengan signifikansi $p > 0,05$ sehingga data memenuhi kaidah parametrik homogenitas dan distribusi normal. Hasil uji *One Way* ANOVA menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh tidak nyata terhadap jumlah sel busa (F hitung 0,522; $F > 0,05$). Rerata jumlah sel busa di antara keempat perlakuan berbeda tersebut dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Rerata Jumlah Sel Busa dalam Pembuluh Darah Aorta Tikus yang diberi Ekstrak Jintan Hitam

Perlakuan	Rerata \pm STD (sel/bp)
HK-JH0	3,67 \pm 0,93
HK-JH1	3,1 \pm 1,59
HK-JH2	3,42 \pm 1,26
NK-JH0	1,85 \pm 2,47
NK-JH2	2,32 \pm 2,10

Keterangan: pengamatan sel busa dilakukan pada perbesaran mikroskop cahaya 10×40

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa diet hiperkolesterol yang diberikan telah dapat meningkatkan risiko aterosklerosis yang ditandai dengan meningkatkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL dan menurunkan HDL dalam serum darah tikus. Dibandingkan diet normokolesterol, diet hiperkolesterol memiliki kandungan tambahan utama berupa kolesterol, asam kolat dan lipid. Kolesterol dan lipid dalam diet pada umumnya meningkatkan masukan lipid ke dalam metabolisme lipid. Asam kolat adalah komponen garam empedu primer yang berfungsi sebagai pengemulsi lemak. Sekresi garam empedu termasuk didalamnya asam kolat meningkatkan penyerapan lemak oleh usus. Dengan demikian tingginya kolesterol, lemak dan asam kolat bersinergi meningkatkan metabolisme lemak jalur eksogenous. Tingginya absorpsi lemak meningkatkan pembentukan kilomikron dalam sirkulasi yang pada akhirnya meningkatkan pembentukan VLDL, LDL dalam sirkulasi disertai peningkatan kadar kolesterol total dan trigliserida tikus diet hiperkolesterol.

Peningkatan LDL, kolesterol dalam sirkulasi juga ditingkatkan lagi dengan menurunnya HDL yang mestinya berperan untuk mentransport balik kolesterol ke hepar agar dapat dieliminasi dari dalam tubuh. Teori menyebutkan bahwa HDL dapat terbentuk dari HDL diskoidal yang tersusun oleh ApoA-1 yang dihasilkan oleh hepar dan metabolisme VLDL dan kilomikron remnant dalam sirkulasi, dengan *phospholipid transfer protein* dan *cholesteryl ester transfer protein* yang mempertukarkan kolesterol dari HDL dengan trigliserida IDL membentuk HDL (Gotto, 2004). Dengan mendasarkan pada statemen tersebut semestinya peningkatan VLDL akan meningkatkan HDL. Namun pada kondisi hiperkolesterol biasanya disertai dengan stress oksidasi sehingga LDL akan terperangkap dalam jaringan sehingga tidak dapat ditransport balik ke hepar lewat HDL, sementara itu tahap esterifikasi kolesterol pada apoA-1 yang baru terbentuk merupakan tahap kritis perkembangan HDL dan hal ini sulit terbentuk pada individu hiperkolesterol.

Tingkat stress oksidasi mestinya dapat tercermin dari meningkatnya marker stress oksidasi seperti F_2 -Isp maupun Lp -PLA₂. Pada penelitian ini kadar F_2 -Isp tidak berbeda signifikan diantara perlakuan yang berbeda hal ini disebabkan karena F_2 -Isp baru meningkat pada fase lebih lanjut dari tahap atherogenesis (Halliwell dan Gutteridge, 1999) yang belum terjadi pada penelitian ini. Namun demikian dengan mendasarkan pada peningkatan Lp -PLA₂ yang berbeda sangat signifikan pada penelitian, karena Lp -PLA₂ hanya terbentuk jika terjadi stress oksidasi (Manhein *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2009) maka dapat

dipastikan bahwa pada tikus hiperkolesterol tanpa pemberian jintan hitam mengalami peningkatan stress oksidasi.

Peningkatan kadar Lp-PLA₂ terjadi karena reaksi terhadap meningkatnya stres oksidasi sehingga mengoksidasi senyawa lipid termasuk fosfolipid. Kadar Lp-PLA₂ melebihi normal bersifat proinflamasi karena enzim Lp-PLA₂ menghidrolisis fosfatidilkolin sebagai jenis fosfolipid yang banyak dijumpai dalam membran sel maupun lipoprotein sehingga menghasilkan lisoPC dan oxFA. LisoPC bersifat proinflamasi karena dapat menstimulasi jaringan endotel mengekspresi molekul adhesi. Dengan demikian peningkatan Lp-PLA₂ disertai ataupun tidak dengan peningkatan LDL akan diikuti dengan reaksi inflamasi yang dapat memfasilitasi pembentukan sel busa. Lipoprotein terdeposit dalam makrofag terjadi karena lipoprotein tersebut teroksidasi sehingga difagosit oleh makrofag tanpa disertai down regulasi.

Tikus hiperkolesterol yang mendapatkan ekstrak jintan hitam mengalami peningkatan HDL hingga normal, bahkan dapat meningkatkan kadar HDL melebihi tikus diet normokolesterol. Pemberian biji jintan hitam dapat meningkatkan kadar HDL darah kelinci hiperkolesterol (Khadiga *et al.*, 2009). HDL sangat berperan dalam transport balik kolesterol ke hepar. Di dalam hepar kolesterol dapat dieliminasi dalam bentuk empedu, sehingga pemberian jintan hitam dapat menurunkan kadar kolesterol, trigliserida dan LDL dari tikus hiperkolesterol.

Meskipun penurunan jumlah sel busa belum menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik, kecenderungan penurunan jumlah sel busa terlihat dalam penelitian ini. Penurunan jumlah sel busa ini dimungkinkan karena peningkatan kadar HDL yang terjadi bersifat antiaterogenik. HDL memiliki sifat antiaterogenik melalui beberapa cara antara lain:

1. HDL memiliki enzim hidrolisis peroksida seperti glutathione phospholipid peroxidase (Barter *et al.*, 2004), paraoxonase dan clustrin sebuah enzim esterase yang disintesis dan disekresi oleh hati yang berfungsi untuk menghidrolisis phospholipid teroksidasi dan lipid peroksida (Barter *et al.*, 2004; Krishaswamy, *et al.*, 2006), dengan demikian kadar fosfolipid teroksidasi dan lipid peroksida menurun. Kita ketahui bahwa membran sel termasuk membran endotel sebagian besar tersusun oleh senyawa fosfolipid. Jika fosfolipid penyusun membran mengalami oksidasi maka fungsi membran terganggu dan senyawa maupun sel dalam sirkulasi mudah melintasi endotel dan terjadi reaksi inflamasi.
2. HDL sebagai mediator transport molekul oksidan. Kandungan ApoA-1 pada HDL dapat melepas LDL

lipid hydroperoksida (suatu oksidan). HDLCE-O-(O)-H (*Cholesteryester hydroperoxide*) secara cepat dilepas ke sel hati (Barter *et al.*, 2004).

3. HDL juga menurunkan kemampuan oxLDL menginduksi interaksi monosit ke endotel (Krishaswamy, *et al.*, 2006), HDL menurunkan molekul adhesi di endotel seperti VCAM dan ICAM sehingga menurunkan infiltrasi monosit ke sub endotel. HDL sebagian besar tersusun oleh ApoA-1 dan fosfatidil kolin. Secara invitro fosfatidil kolin mampu menghambat sitokin dalam mengekspresi VCAM dalam kultur HUVEC's, karena itu HDL juga menghambat migrasi monosit ke sub endotel dan menghambat reaksi inflamasi (Barter *et al.*, 2004; Hattori *et al.*, 2004).

Uji fitokimia pada fraksi etanol jintan hitam mengandung senyawa flavonoid, tanin dan alkaloid (Nickavar *et al.*, 2005). Analisis dengan GC-MS, menunjukkan bahwa minyak jintan hitam mengandung minyak esensial yang terdiri dari 30 senyawa dan sebanyak 92% atau 25 senyawa merupakan monoterpenoid. Kandungan senyawa dan kadarnya dalam prosen adalah sebagai berikut: terpenoid hidrokarbon alpha pinen 13,75%, limonen 2,25%, p-cymen 43,58%; terpenoid phenol carvacrol 2,53% dan terpenoid keton timoquinon 1,65% (Toma *et al.*, 2010). Jintan hitam juga mengandung mineral utama yaitu potassium, kalsium, fosfor dan magnesium, selain itu juga mengandung sodium, besi, mangan, seng dan tembaga (Sultan, *et al.*, 2009). Sementara itu, suplementasi flavonoid dan Zn dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti SOD, katalase dan glutathione peroksidase (Ardiani, 2011). Pemberian ekstrak jintan hitam maupun timoquinon terbukti meningkatkan aktivitas SOD (Kanter *et al.*, 2005) dan katalase (Al-Makki, 2006). Dengan demikian, kandungan flavonoid dan Zn dalam ekstrak jintan hitam akan meningkatkan aktivitas enzim SOD sehingga menurunkan stres oksidasi (ditandai penurunan F₂Isp) sehingga akan menurunkan pembentukan oxLDL dan akhirnya menurunkan pembentukan sel busa dalam penelitian ini.

Enzim Lp-PLA₂ dihasilkan oleh makrofag sel busa yang terbentuk karena tikus mengalami peningkatan stress oksidasi. Tikus diet hiperkolesterol yang mendapatkan ekstrak jintan hitam dapat dipastikan mendapatkan tambahan kandungan antioksidan sehingga dapat menurunkan tingkat stress oksidasi. Penurunan tingkat stres oksidasi ini akan menurunkan terbentuknya senyawa fosfolipid teroksidasi yang merupakan stimulus terjadinya transkripsi gen Lp-PLA₂. Dengan demikian pemberian ekstrak jintan hitam dapat menurunkan kadar Lp-PLA₂ dalam serum seperti terjadi pada penelitian ini.

Penelitian ini menunjukkan bahwa, pemberian ekstrak jintan hitam tidak berpengaruh signifikan menurunkan tetapi hanya cenderung menurunkan jumlah sel busa. Hal ini dimungkinkan karena 1) pembentukan sel busa memerlukan waktu cukup lama, sehingga pemberian diet hiperkolesterol selama 30 hari belum dapat menunjukkan peningkatan secara signifikan, 2) oxLDL yang terdeposit tidak dikenali lagi oleh reseptor ABCA-1 sehingga proses RCT tidak bisa berjalan, dan proses regresi sel busa tidak dapat terjadi, 3) bahan aktif dalam ekstrak jintan sebagai antioksidan berfungsi terbatas pada penghambatan perkembangan pembentukan sel busa.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak jintan hitam dapat menghambat pembentukan sel busa perkembangan aterosklerosis yang didukung oleh:

1. Pemberian ekstrak jintan hitam dapat menurunkan kadar Lp-PLA₂ dalam serum.
2. Pemberian ekstrak jintan hitam tidak nyata menurunkan terbentuknya F₂-Isp dalam serum.
3. Pemberian ekstrak jintan hitam belum nyata menurunkan pembentukan sel busa.
4. Pemberian ekstrak nigella dapat menurunkan kadar kolesterol, TG, LDL dan meningkatkan HDL dalam serum darah

KEPUSTAKAAN

- Al-Makki, H.A. 2006. A Mechanistic Study of Protective Effect of Thymoquinone on Hepatotoxicity of Acetaminophen in Mice, Departement of Pharmacology College of Pharmacy, King Saud University: 1–3.
- Ardiani, F., Wiryatun, L., dan Emy, H. 2011. Ekstrak air daun Ceplikan (*Rualia tuberosa* L) berpengaruh terhadap kadar SGOT dan SGPT dan Gambaran histologist Hepar Mencit DM. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia* 8(2).
- Barter, P.J., Nicholls, S., Rye, K.A., Anatharamaiah, G.M., Navab, M., dan Fogelmen, A.M. 2004. Antiinflammatory Properties of HDL, *Circulation Research* 95: 764–772.
- Davidson. 2008. Non Invasive Surrogate Markers in Atherosclerosis. Feisnteian (ed). Non- Invasive Surrogate Markers of Atherosclerosis. *Informa Health Care USA*: 97–109.
- Gotto AM. 2004. Contemporary Diagnosis and Management of Lipid Disorder, Handbooks in Health Care Co., Pennsylvania, USA: 1–53.
- Hadjzadeh, M., Khoei, A., Hadjzadeh, Z., dan Parizady, M. 2007. Ethanolic Extract of *Nigella sativa* L Seed on Ethylene Glycol-Induced Kidney Calculi in Rats, *Urology Journal* 4(2): 86–90.
- Hakim, A. 2005. Affecting Aging: Protection of SOD-deficient *Drossophylla* from Oxidative Stress, 1–5.
- Hattori, H., Kujiraoka, T., Egashira, T., Saito, E., Fujioka, T., Takashashi, S., Ito, M., Cooper, J.A., Stepanova, I.P., Nanjee, N., dan Miller, N.E. 2004. Association of Coronary Heart Disease with Pre-β-HDL Concentrations in Japanese Men, *Cinical Chemistry* 50(3) 589–595.
- Kanter, M., Coskun, O., dan Budancamanak, M. 2005. Hepatoprotective effects of *Nigella sativa* L and *Urtica dioica* L on lipid peroxidation antioxidant enzyme systems and liver enzymes in carbon tetrachloride-treated rats. *World J Gastroenter* 11(42): 6684–6688.
- Kanter, M., Meral, I., Yener, Z., Ozbek, H., dan Demir, H. 2003. Partial Regeneration Proliferation of the β-cells in the Islets of Langerhans by *Nigella sativa* L. In Sterptozotocin-Induced Diabetic Rats, *Tohoku J. Exp. Med* 201: 213–219
- Khadiga, A., Abdel, Ati, A.E., Mustafa, H.E., dan Mohamed. 2009. The effect of dietary *Nigella sativa* seeds on the blood cholesterol and lipoprotein levels of rabbits, *Journal of Animal & Plant Sciences* 3, Issue 3: 227–230.
- Krishnaswamy, P.R., Rao, A., Murali, W., dan Ballal, H.S. 2006. Paraoxonase Activity and Antibodies to Oxidized-LDL in Chronic Renal Failure Patients or Renal Replacement Therapy, *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 21(2): 173–176.
- Mannheim, D., Herrman, J., Versari, D., Gossel, M., Meyer, F.B., McConnell, J.P., Lerman, L.O., dan Lerman, A. 2008. Enhanced Expression of Lp-PLA₂ and Lysophosphatidylcholine in Symptomatic Carotid Atherosclerotic Plaques. *Stroke* 39(5): 1448–1455.
- Nickavar, B., Faraz, M., Katayoun, J., dan Mohammad, A.R.A. 2003. Chemical Composition of Fixed and Volatile Oils of *Nigella sativa* L. from Iran. Department of Pharmacognosy. School of Pharmacy. Shaheed Beheshti University of Medical Science.
- Shi, Y., Zhang, P., Zhang, L., Osman, H., Mohler, E.R., Macphee, C., Zalewski, A., Postle, A., dan Wilensky. 2007. Role of Lipoprotein-associated Phospho-lipase A₂ in Leukocyte Activation and Inflammatory Responses. *Atherosclerosis* 191: 54–62.
- Sultan, M.T., Masood, S.B., Faqir, M.A., Amer, J., Saeed, A., dan Muhammad, N. 2009. Nutritional Profile of Indigenous Cultivar of Black Cumin Seeds and Antioxidant Potential of Its Fixed and Essential Oil. *Pakistan Journal Botani* 41(3): 1321–1330.
- Susilowati, R. 2006. Habbatus Sauda sebagai Ameliorant Fungsi Pankreas pada Mencit Diabetes. *Jurnal El-Qudwah* 1: 118–130.
- Susilowati, R. 2009. Pengaruh Jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap GPT dan GOT Mencit. *Jurnal Hayati* 3D: 27–30.
- Wang, W.Y., Li, J.L., Yang, D., Xu, W., Zha, R., dan Wang, Y. 2009. oxLDL stimulates lipoprotein-associated phospholipase A2 expression in THP-1 monocytes via PI3K dan p38 MAPK pathways, *Cardiovascular Research*: 1–8.

- Winkler, K., Hoffmann, M.M., Winklmann, B.R., Friedrich, I., Schafer, G., Seelhorst, U., Wellnitz, B., Wieland, H., Boehm, B.O., dan Marz, W. 2007. Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Predicts 5-Year Cardiac Mortality Independently of Established Risk Factors and Adds Prognostic Information in Patients with Low and Medium High-sensitivity C-Reactive Protein. *Clinical Chemistry* 53: 1440–1447.
- Halliwell, B., dan Gutteridge, J.M.C. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine* 3rd ed., Oxford University Press, New York: 27–250.
- WHO, Mendis, S., Puska, P., dan Norrving, B. (editor). 2011. *Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control*, Geneva.
- Toma, C.C., Simu, G.M., dan Hanganu, D. 2010. Chemical Composition of the Tunisian *Nigella sativa* Essential Oil. *Farmacia* 58(4): 458–465.