

## Efek Protektif *Thymoquinone* Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* yang Diinduksi Rifampisin

Victoria Hawarima<sup>1</sup>, Susianti<sup>2</sup>, dan Syazili Mustofa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>2</sup>Bagian Anatomi, Patologi Anatomi dan Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>3</sup>Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

### Abstrak

Hepar merupakan organ terbesar pada tubuh, menyumbang sekitar 2% berat tubuh total. Kerusakan pada hepar dapat disebabkan oleh obat-obatan, salah satunya adalah rifampisin. Rifampisin merupakan salah satu obat utama untuk tuberkulosis (TB). Oleh karena itu, penggunaan obat ini tidak dapat dihindari dan digunakan dalam jangka panjang. Rifampisin memiliki efek hepatotoksik, efek toksiknya terkait stres oksidatif dan sitokin proinflamasi. Bahan aktif dari jintan hitam, yaitu *thymoquinone* memiliki efek hepatoprotektif, melalui mekanisme sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efek protektif *thymoquinone*, terhadap gambaran histopatologi hepar tikus yang diinduksi rifampisin dan untuk mengetahui adanya pengaruh peningkatan dosis *thymoquinone* pada efek protektif, terhadap gambaran histopatologi hepar tikus yang diinduksi rifampisin. Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang dibagi ke dalam 5 kelompok dan diberi perlakuan selama 14 hari, yaitu K1 (kontrol negatif yang hanya diberi akuades), K2 (kontrol positif yang hanya diberi rifampisin 1 g/kgBB), P1 (perlakuan 1, yang diberi rifampisin 1 g/kgBB dan *thymoquinone* 5 mg/kgBB), P2 (perlakuan 2, yang diberi rifampisin 1 g/kgBB dan *thymoquinone* 10 mg/kgBB), dan P3 (perlakuan 3 yang diberi rifampisin 1 g/kgBB dan *thymoquinone* 20 mg/kgBB). Berdasarkan hasil penelitian, terdapat efek protektif *thymoquinone* yang dilihat dari derajat degenerasi bengkak keruh sel hepar. Selain itu, terdapat peningkatan efek hepatoprotektif dengan peningkatan dosis 5 mg/kgBB dan 10 mg/kgBB, namun tidak pada dosis 20 mg/kgBB.

**Kata kunci:** hepar, rifampisin, *thymoquinone*

## The Protective Effects of Thymoquinone to Liver Histopathology of White Rat (*Rattus norvegicus*) Strains *Sprague dawley* Induced by Rifampicin

### Abstract

The liver is the largest organ in the body, accounting for about 2% of total body weight. Damage to the liver could be caused by drugs, one of them is rifampicin. Rifampicin is one of the main drugs for tuberculosis (TB), therefore the use of this drug cannot be avoided and used in the long term. Rifampicin has a hepatotoxic effect, its toxic effects are related to oxidative stress and proinflammatory cytokines. The active ingredients of black cumin, namely thymoquinone, have hepatoprotective effects through a mechanism as an antioxidant and anti-inflammatory. This research was to investigate the protective effect of thymoquinone to liver histopathology of rat induced by rifampicin and to determine the effect of increasing doses of thymoquinone to protective effects against liver histopathological of rat induced by rifampicin. This study used 30 rats (*Rattus norvegicus*) male *Sprague dawley* were divided into five groups and were treated for 14 days, i.e K1 (negative control which was only given distilled water), K2 (positive control which is only given rifampicin 1 g/kgBW), P1 (treatment 1 by rifampicin 1 g/kgBW and thymoquinone 5 mg/kgBW), P2 (treatment 2 by rifampicin 1 g/kgBW and thymoquinone 10 mg/kgBW), and P3 (treatment 3 by rifampicin 1 g/kgBW and thymoquinone 20 mg/kgBW). Based on the results of the study, there were protective effects of thymoquinone which were seen from the degree of degeneration of cloudy swollen liver cells. In addition, there was an increase in the hepatoprotective effect with an increase in the dose of 5 mg/kgBB and 10 mg/kgBB, but not at a dose of 20 mg/kgBB.

**Keywords:** liver, rifampicin, thymoquinone.

**Korespondensi:** Victoria Hawarima, Jl. Untung Suropati No. 1, Bandar Lampung, HP 089662221958, e-mail: hawarimavictoria@gmail.com.

### Pendahuluan

Hepar merupakan organ terbesar pada tubuh, menyumbang sekitar 2% berat tubuh total, atau sekitar 1,5 kg pada rata-rata manusia dewasa. Selain sebagai organ terbesar, hepar

juga memiliki peranan penting dalam tubuh, antara lain penyaringan dan penyimpanan darah, metabolisme (karbohidrat, protein, lemak, hormon, dan zat kimia asing). Hati juga berperan dalam pembentukan empedu, penyimpanan

vitamin dan besi, dan pembentukan faktor koagulasi.<sup>1</sup>

Penyebab penyakit hepar bervariasi, antara lain virus, efek toksik dari obat-obatan, alkohol, racun, jamur, dan lain-lain. Angka pasti prevalensi dan insiden penyakit hepar di Indonesia belum diketahui, tetapi data WHO menunjukkan bahwa Indonesia termasuk dalam peringkat endemik yang tinggi untuk penyakit hepar yang disebabkan oleh virus.<sup>2</sup> Meskipun Indonesia merupakan daerah endemik tinggi untuk penyakit hepar akibat virus, namun kerusakan hepar karena obat dapat menjadi masalah kesehatan yang berkembang. Diseluruh dunia, diperkirakan tingkat kejadian tahunan dari *drug-induced liver injury* (DILI) adalah 13,9-24 kasus per 100.000 penduduk. Antimikroba merupakan salah satu penyebab paling umum dari DILI.<sup>3</sup> Selain itu, dalam dua survei dari Eropa, menunjukkan bahwa angka kematian yang disebabkan oleh obat penginduksi kerusakan hepar, dilaporkan sebesar 5,9% dan 11,9%, masing-masing disebabkan oleh antibiotik, obat-obatan penurun lipid (antihiperlipidemia), antidepresan, dan analgesik.<sup>4</sup>

Obat yang dapat menyebabkan kerusakan hepar, salah satunya adalah rifampisin. Rifampisin merupakan salah satu obat utama untuk tuberkulosis (TB), oleh karena itu penggunaan obat ini tidak dapat dihindari. Indonesia berada pada ranking kelima negara dengan beban TB tertinggi di dunia.<sup>5</sup> Prevalensi penduduk Indonesia yang didiagnosis TB paru oleh tenaga kesehatan tahun 2013 adalah 0,4%, tidak berbeda dengan tahun 2007. Lima provinsi dengan TB paru tertinggi adalah Jawa Barat (0,7%), Papua (0,6%), DKI Jakarta (0,6%), Gorontalo (0,5%), Banten (0,4%), dan Papua Barat (0,4%).<sup>6</sup> Pada sebuah penelitian pada hepatosit tikus, efek toksik rifampisin terkait stres oksidatif dan akumulasi lipid.<sup>7</sup> Selain itu, rifampisin dapat meningkatkan kadar *Alanine aminotransferase* (ALT), *Aspartate aminotransferase* (AST), *laktat dehidrogenase*, fosfatase asam, alkalin fosfatase, serta meningkatkan kadar trigliserida, kolesterol, dan asam lemak bebas di dalam serum.<sup>8</sup> Gambaran histopatologi kerusakan hepar akibat rifampisin, muncul sebagai nekrosis yang tergantung dosis, degenerasi vakuoler, dan infiltrasi sel radang.<sup>9</sup>

Kerusakan hepar dapat diperbaiki dengan pemanfaatan obat-obat tradisional.

Salah satu tanaman yang digunakan untuk pengobatan tradisional adalah jintan hitam (*Nigella sativa*). Secara tradisional, biji jintan hitam sering digunakan oleh masyarakat, khususnya di Timur Tengah dan beberapa negara Asia.<sup>10</sup> Salah satu kandungan jintan hitam yang mempunyai banyak manfaat adalah *thymoquinone*. *Thymoquinone* terbukti memiliki berbagai manfaat yang baik bagi kesehatan, sebagai anti inflamasi dan imunomodulator, antiparasit, antibakteri, antioksidan, serta proteksi terhadap nefrotoksisitas dan hepatotoksisitas.<sup>11-16</sup>

Menurut penelitian Alsaif (2007),<sup>17</sup> dilaporkan bahwa kandungan jintan hitam, yaitu *thymoquinone*, dapat mencegah kerusakan hepar pada tikus putih yang diinduksi etanol melalui mekanisme sebagai antioksidan dan antiinflamasi.<sup>17</sup> Selain itu, *thymoquinone* memiliki efek sitoprotektif melalui mekanisme antioksidan.<sup>18</sup> Oleh karena itu, penulis melakukan penelitian tentang efek protektif *thymoquinone* terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.

## Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan metode rancangan acak terkontrol dengan pola *post test only control group design*.

Penelitian dilaksanakan selama 4 bulan, terhitung mulai bulan September sampai Desember 2016. Penelitian dilakukan di *Animal House*, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk proses pemeliharaan dan perlakuan, pembuatan preparat dilakukan di laboratorium Balai Penelitian Veteriner (BALITVET) Bandar Lampung, dan pengamatannya dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 10 sampai 16 minggu yang diperoleh dari laboratorium Balai Penelitian Veteriner (BALITVET) Palembang. Sampel penelitian sebanyak 25 ekor, dipilih secara acak yang dibagi dalam 5 kelompok, sesuai dengan rumus Frederer.<sup>19</sup> Untuk mengantisipasi adanya kriteria eksklusi, maka dilakukan koreksi dengan menambahkan 10% dari jumlah anggota tiap kelompok. Jadi, sampel yang dibutuhkan untuk

cadangan sebanyak 1 ekor tikus per kelompok perlakuan. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok.

Kriteria pengambilan sampel terdiri dari kriteria inklusi, yaitu memiliki berat badan 200-300 gram, berjenis kelamin jantan, dan berusia  $\pm$  10 sampai 16 minggu. Kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah sakit (penampakan rambut kusam, rontok, atau botak, dan aktivitas kurang atau tidak aktif, keluarnya eksudat yang tidak normal dari mata, mulut, anus, serta genital), terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium, dan mati selama masa pemberian perlakuan.

Bahan penelitian terdiri dari *thymoquinone* yang didapat dari SIGMA ALDRICH dan rifampisin yang didapat dari apotik. Bahan penelitian *thymoquinone* dengan dosis 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, dan 20 mg/kgBB serta rifampisin dengan dosis 1 g/kgBB diberikan secara oral melalui sonde lambung. Bahan tambahan berupa makanan hewan, dan akuades.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan El-sheikh (2015), dosis *thymoquinone* 10 mg/kg per oral terbukti mempunyai mekanisme proteksi hepatorenal melalui efek antiinflamasi, antioksidan, antiapoptosis, dan antinitrosatif. Pemilihan 2 dosis lainnya didapatkan dari setengah dosis dan 2 kali dosis 10 mg/kg, dikarenakan untuk mengetahui apakah dengan dosis tersebut *thymoquinone* tetap memiliki efek protektif. Pemberian *thymoquinone* selang 2 jam setelah rifampisin, agar rifampisin diabsorpsi terlebih dahulu, hal tersebut juga berdasarkan penelitian sebelumnya, yaitu pemberian obat tradisional setelah 2 jam pemberian rifampisin.<sup>20</sup> Berdasarkan penelitian Dhuley & Naik (1998), dosis rifampisin 1 g/kgBB terbukti hepatotoksik, dan pemberian selama 14 hari dapat menyebabkan kerusakan hepar. Gambaran histopatologi hepar dilakukan menggunakan mikroskop cahaya, dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang, berdasarkan ada tidaknya degenerasi bengkak keruh hepatosit tiap lapangan pandang kemudian ditentukan persentasinya. Derajat kerusakan hepar ditentukan dengan adanya degenerasi bengkak keruh 0-100%.<sup>21</sup>

Seluruh hewan coba, dibagi secara random (acak) ke dalam lima kelompok percobaan. Kelompok 1 (K1) sebagai kontrol

negatif, hanya diberi akuades. Kelompok 2 (K2) sebagai kontrol positif, diberikan rifampisin dengan dosis 1 g/kgBB. Kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 (P1, P2, dan P3) adalah kelompok perlakuan coba dengan pemberian rifampisin dosis 1 g/kgBB, kemudian selang 2-4 jam dilakukan pemberian *thymoquinone* dosis 5 mg/kgBB untuk kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2) dengan dosis *thymoquinone* sebanyak 10 mg/kgBB, dan kelompok perlakuan 3 (P3) dengan dosis *thymoquinone* sebanyak 20 mg/kgBB. *Thymoquinone* merupakan bahan aktif dalam bentuk serbuk, sehingga harus dilarutkan terlebih dahulu dalam minyak zaitun. Oleh karena itu, setiap kelompok diberikan minyak zaitun sebanyak 0,5 ml untuk K1 dan K2, sedangkan P1, P2, P3 telah diberikan dalam bentuk campuran dengan *thymoquinone*. Pemberian rifampisin dan *thymoquinone* diberikan selama 14 hari.

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop diuji menggunakan program SPSS versi 22.0. Hasil penelitian, dianalisis secara statistik dengan uji normalitas data (*Saphiro-Wilk*). Setelah dilakukan uji normalitas, didapatkan distribusi data tidak normal maka digunakan analisis non parametrik *Kruskal-Wallis* yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

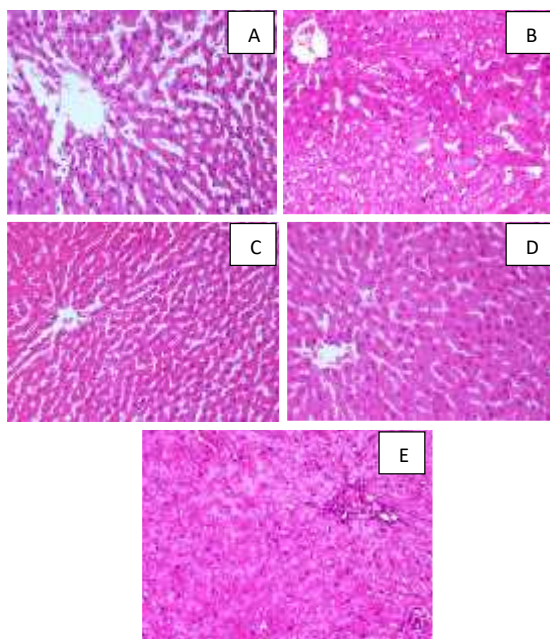
## Hasil

Pada penelitian ini, jumlah sampel yang digunakan adalah 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*, berumur 10 sampai 16 minggu yang dibagi dalam 5 kelompok, yaitu K1, K2, P1, P2 dan P3, dimana masing-masing kelompok berjumlah 6 ekor tikus pada tiap kelompok. Rerata berat badan tikus saat dilakukan perlakuan adalah 200 gram dan pemberian rifampisin serta *thymoquinone* dilakukan berdasarkan berat rerata tikus tersebut. Kelompok K1 sebagai kontrol negatif, hanya diberi akuades. Kelompok K2 sebagai kontrol positif, diberikan rifampisin dengan dosis 1 g/kgBB. Kelompok P1, P2, dan P3 adalah kelompok perlakuan coba dengan pemberian rifampisin dosis 1 g/kgBB, kemudian selang 2-4 jam, dilakukan pemberian *thymoquinone* dosis 5 mg/kgBB untuk kelompok P1, kelompok P2 dengan dosis *thymoquinone* sebanyak 10 mg/kgBB, dan kelompok P3 dengan dosis *thymoquinone* sebanyak 20 mg/kgBB. Pemberian rifampisin

dan *thymoquinone* diberikan selama 14 hari.

Setelah masa perlakuan hewan coba selesai, kemudian dilakukan laparatomi pada tikus yang telah di narkosis dengan ketamin dan diambil hepar untuk dibuat sediaan mikroskopis. Preparat histopatologi hepar tikus dianalisis dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Gambaran histopatologi hepar pada preparat diinterpretasikan dengan 5 lapang pandang. Penilaian kerusakan hepar berdasarkan ada tidaknya degenerasi bengkak keruh hepatosit tiap lapangan pandang kemudian ditentukan persentasinya (0-100%).

Berikut ini adalah gambaran histopatologi hepar tikus pada setiap kelompok penelitian.

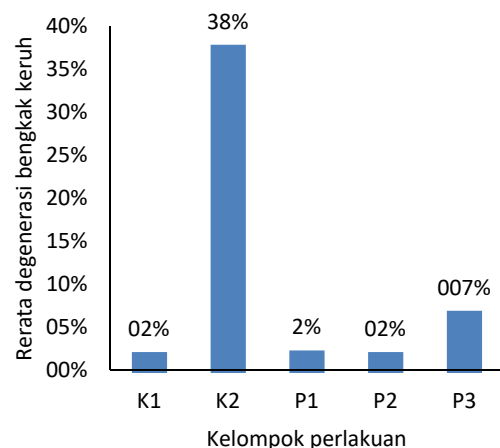


**Gambar 1. Gambaran histopatologi hepar tikus (perbesaran 400x). Ket : kelompok A: K1, B: K2, C: P1, D: P2, dan E: P3**

Pada kelompok K1, terlihat hepatosit tersusun radier yaitu dari perifer lobulus ke vena sentralis sebagai pusatnya. Bentuk vena sentralis tampak normal. Sinusoid tampak normal dengan pola radier ke pusat lobulus membentuk vena sentralis dan tidak tampak degenerasi bengkak keruh pada hepatosit. Pada kelompok K2, terlihat hepatosit tersusun tidak beraturan, batas antar hepatosit dan bentuk sinusoid tidak jelas. Selain itu, tampak degenerasi bengkak keruh pada hepatosit. Pada kelompok P1, terlihat hepatosit tersusun beraturan membentuk pola radier, batas antar hepatosit dan bentuk sinusoid mulai jelas terlihat. Selain itu, terlihat hepatosit yang

sebelumnya mengalami degenerasi bengkak keruh mengalamipenurunan. Kelompok P2, terlihat hepatosit tersusun beraturan membentuk pola radier, batas antar hepatosit dan bentuk sinusoid cukup jelas terlihat. Selain itu, hampir di setiap lapang pandang tidak terlihat hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak. Pada kelompok P3, terlihat hepatosit tersusun tidak beraturan batas antar hepatosit dan bentuk sinusoid tidak jelas. Selain itu, tampak degenerasi bengkak keruh pada hepatosit, namun mengalami penurunan jika dibandingkan K2.

Hasil analisis mikroskopis gambaran kerusakan hepatosit pada tikus, didapatkan hasil rerata hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh dari 5 lapang pandang kelompok uji, pada K1 yaitu 1,8%, K2 yaitu 37,6%, P1 yaitu 2%, P2 yaitu 1,8%, dan P3 yaitu 6,64%.



**Gambar 2. Grafik perbandingan hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh**

Berdasarkan grafik terlihat peningkatan yang signifikan jumlah hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh pada K2 jika dibandingkan dengan K1. Rerata degenerasi bengkak keruh pada P1, P2, dan P3 menurun jika dibandingkan dengan K2. Jika dibandingkan antara K1, P1, dan P2, hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh tidak berbeda jauh dan hampir mendekati gambaran hepatosit normal.

Data ini kemudian diolah dengan menggunakan program statistik. Rerata jumlah hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh, di uji normalitasnya dengan *Saphiro-Wilk* dan didapatkan 3 kelompok memiliki nilai  $p>0,05$  yang berarti data berdistribusi normal,

namun data pada kelompok 1 dan 4 menunjukkan hasil distribusi tidak normal ( $p < 0,05$ ). Maka dilakukan transformasi data pada kelompok 1 dan 4, namun data tetap berdistribusi tidak normal, oleh karena itu dilakukan uji *Kruskal-Wallis* yang merupakan uji alternatif untuk data numerik dengan kelompok lebih dari 2, tidak berpasangan, dan tidak normal. Pada penelitian ini diperoleh nilai  $p < 0,05$  yaitu  $p = 0,009$  yang memiliki arti terdapat paling tidak dua kelompok data yang mempunyai perbedaan rata-rata yang bermakna. Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan paling bermakna.

**Tabel 1. Hasil perhitungan dengan uji *Post Hoc Mann Whitney***

| Kelompok | K1     | K2     | P1     | P2     | P3     |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| K1       | -      | 0,008* | 0,822  | 1,000  | 0,131  |
| K2       | 0,008* | -      | 0,009* | 0,008* | 0,047* |
| P1       | 0,822  | 0,009* | -      | 0,822  | 0,112  |
| P2       | 1,000  | 0,008* | 0,822  | -      | 0,131  |
| P3       | 0,131  | 0,047* | 0,112  | 0,131  | -      |

Keterangan: \*:Bermakna

Kelompok K1, memiliki perbedaan yang bermakna dengan K2 karena memiliki  $p < 0,05$ . Tetapi jika K1 dibandingkan dengan P1, P2, dan P3, maka memiliki  $p > 0,05$  yang artinya tidak terdapat perbedaan bermakna. Kelompok K2, memiliki perbedaan yang bermakna dengan P1, P2, dan P3 yaitu memiliki  $p < 0,05$ . P1 yang dibandingkan dengan P2 dan P3 tidak memiliki perbedaan yang bermakna, P2 dan P3 juga tidak memiliki perbedaan yang bermakna diantara keduanya, ditandai dengan  $p > 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan gambaran degenerasi bengkak keruh pada K1 yang merupakan kelompok kontrol negatif, dengan K2 yang merupakan kelompok kontrol positif. Selain itu, terdapat juga perbedaan gambaran degenerasi bengkak keruh pada K2 dengan kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 yang diberikan *thymoquinone* dengan dosis 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, dan 20 mg/kgBB.

### Pembahasan

Berdasarkan hasil mikroskopis gambaran histopatologi hepar tikus didapatkan bahwa pada kelompok kontrol negatif yang hanya

diberikan akuades memiliki struktur hepar normal. Hepatosit tersusun radier, yaitu dari perifer lobulus ke vena sentralis sebagai pusatnya, bentuk vena sentralis tampak normal, sinusoid tampak normal dengan pola radier ke pusat lobulus membentuk vena sentralis. Selain itu, rerata persentase hepatosit yang mengalami pembengkakan pada kelompok kontrol negatif lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 3, sedangkan kelompok perlakuan 2 mempunyai rerata persentase yang sama. Pada kelompok kontrol positif yang hanya diinduksi zat toksik berupa rifampisin dengan dosis 1 g/kgBB selama 14 hari, gambaran mikroskopisnya menunjukkan kerusakan hepatosit. Gambaran histopatologi kelompok ini menunjukkan kerusakan hepar yang paling parah dibandingkan kelompok lainnya yaitu sebesar 58%. Kerusakan yang dimaksud adalah hepatosit tersusun tidak beraturan batas antar hepatosit dan bentuk sinusoid tidak jelas. Selain itu, tampak degenerasi bengkak keruh pada hepatosit.

Jejas toksik dari rifampisin, dapat menyebabkan gagalnya mekanisme regulasi pompa ion natrium-kalium intrasel sehingga terbentuk pembengkakan sel, pembentukan gelembung sitoplasma, dan hilangnya perlekatan intrasel, selanjutnya terjadi perubahan pada mitokondria berupa pembengkakan (bengkak keruh).<sup>20</sup> Hasil penelitian ini, juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Dhuley & Naik (1998), yang menunjukkan bahwa hepar yang diinduksi rifampisin 1 g/kgBB menunjukkan kerusakan pada hepar dengan menginduksi peningkatan enzim CYP450, peroksidase lipid, aktivitas *super oxide dismutase* (SOD), trombositopenia, anemia hemolitik, leukopenia transien dan peningkatan *nucleated cell* pada sumsum tulang belakang, serta penurunan berat kelenjar thymus secara signifikan pada tikus.<sup>21</sup>

Kerusakan sel hepar dapat terjadi karena rifampisin mempunyai efek hepatotoksik. Rifampisin merupakan penginduksi *cytochrome P450* (CYP450), jika reaksi energi tinggi yang melibatkan enzim *cytochrome P-450* menyebabkan ikatan kovalen obat dengan protein intrasel, maka akan terjadi disfungsi intraseluler berupa hilangnya gradien ion, penurunan kadar ATP, dan disrupsi aktin pada permukaan hepatosit yang menyebabkan pembengkakan sel dan berakhir dengan ruptur sel.<sup>22</sup>

Metabolisme utama rifampisin adalah dideasetilasi oleh enzim *cytochrome* P-450 dan *cytochrome* P-450 2E1 (CYP 2E1). CYP-450 memediasi generasi metabolit toksik obat dan ikatan kovalen ke makromolekul hepar. Selain itu, berbagai bentuk *cytochrome*, seperti CYP1A1, CYP1A2, dan CYP2E1, terlibat dalam generasi radikal bebas dan rifampisin sebagai mediator generasi radikal bebas dapat berhubungan dengan perubahan dalam ekspresi CYPs.<sup>23,24</sup> Radikal bebas yang terbentuk ini, akan berikatan dengan makromolekul hepar yang akan menyebabkan kerusakan hepatosit yang nantinya bisa menyebabkan sampel jaringan hepar mengalami kerusakan yang dinilai melalui peningkatan aktivitas enzim ALT.<sup>25</sup>

Rifampisin merupakan penginduksi CYP450. Di dalam hepar, CYP450 berada di retikulum endoplasma halus dan mikrosom. CYP450 berperan sebagai biokatalis dalam reaksi hidrosilasi metabolisme xenobiotik (bahan asing yang masuk dalam tubuh). Pada reaksi hidrosilasi, 1 atom oksigen ( $O_2$ ) akan membentuk molekul air dan 1 atom lainnya masuk ke xenobiotik dan membentuk xenobiotik yang lebih polar. Apabila terlalu banyak xenobiotik yang masuk, maka akan semakin tinggi penggunaan  $O_2$  untuk menghasilkan ATP. Sehingga terjadi pemakaian cepat  $O_2$  (*respiratory burst*).

*Respiratory burst* membentuk NADPH oksidase, reaksi yang dikatalis oleh NADPH oksidase akan menyebabkan terjadinya pembentukan anion superperoksida ( $O_2^-$ ) yang kemudian diikuti pembentukan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ).  $H_2O_2$  yang bertemu zat besi ( $Fe^{2+}$ ) akan membentuk radikal hidroksil ( $OH^\cdot$ ).  $OH^\cdot$  merupakan *reactive oxygen species* (ROS) yang paling poten dan menjadi pencetus reaksi berantai yang membentuk lipid peroksida. Lipid peroksida dapat merusak struktur lemak di membran sel yang menyebabkan peningkatan permeabilitas sel, sehingga molekul seperti  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $H_2O$ , dan lainnya yang berada diluar membran dapat masuk dan menyebabkan pembengkakan sel, menurunnya integritas membran sel bahkan sampai lisis, kerusakan mitokondria, kerusakan DNA inti, dan kerusakan lainnya.<sup>26</sup> Rifampisin juga dapat menginduksi mediator inflamasi dan meningkatkan produksi sitokin yang diinduksi *nitric oxide* (NO) dan *interleukin* 8 (IL-8) dalam epitel sel hepar. NO dan IL-8 memberi efek proinflamasi dalam hepar.<sup>27</sup>

Berdasarkan uraian pada hasil penelitian, kelompok perlakuan yang diberikan *thymoquinone* yaitu P1, P2, dan P3 mempunyai gambaran histopatologi dengan derajat kerusakan yang berbeda-beda tetapi lebih ringan jika dibandingkan K2. Melalui analisis *Pos Hoc* jumlah sel hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh pada K2 jika dibandingkan dengan P1, P2, dan P3 menunjukkan perbedaan yang signifikan, yaitu  $p < 0,05$ , nilai tersebut berarti menunjukkan bahwa tikus yang diberikan *thymoquinone* dosis 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, dan 20 mg/kgBB mampu memberikan efek protektif terhadap hepar yang diinduksi rifampisin, meskipun pada P3 memiliki persentase degenerasi bengkak keruh lebih tinggi dibandingkan P1 dan P2.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *thymoquinone* memiliki efek hepatoprotektif yaitu antioksidan dan antiinflamasi. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan El-sheikh (2015), yang melaporkan dosis *thymoquinone* 10 mg/kg per oral terbukti mempunyai mekanisme proteksi hepatorenal melalui efek antiinflamasi, antioksidan, antiapoptosis, dan antinitrosatif.<sup>20</sup> *Thymoquinone* memiliki kemampuan untuk menghambat *iron-dependent* peroksidasi lipid dengan cara *concentrations-dependent*. Dengan karakteristik ini, *thymoquinone* dapat mengurangi stres oksidatif dan meningkatkan pertahanan antioksidan dalam tubuh. *Thymoquinone* juga dapat menurunkan malondialdehid dan biomarker lain dari stres oksidatif secara paralel dengan peningkatan total kandungan *thiol* dan tingkat *glutathione*.<sup>28-30</sup>

*Thymoquinone* dapat meningkatkan *glutathione*. *Glutathione* peroksidase bekerja dengan mengatalisis destruksi  $H_2O_2$  dan hidroperoksida lipid melalui konversi *glutathione* tereduksi menjadi teroksidase, sehingga lipid membran dan hemoglobin terlindung dari oksidasi oleh peroksida.<sup>26</sup> *Thymoquinone* juga dapat mengurangi NADH, sehingga mengurangi perubahan NADH-NAD<sup>+</sup> yang menyebabkan penghambatan lipogenesis di hepatosit.<sup>31</sup>

*Thymoquinone* mempunyai efek antiinflamasi, salah satunya dengan cara menurunkan level dari sitokin proinflamasi.<sup>32</sup> Menurut penelitian Umar *et al.* (2012), pemberian *thymoquinone* dapat menurunkan level dari berbagai mediator proinflamasi antara lain IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , dan PGE.<sup>33</sup> Sitokin

inflamasi di hepatosit dapat mempromosikan jalur sinyal yang menginduksi kerusakan sel. Selain itu, *thymoquinone* adalah inhibitor poten generasi eicosanoid yaitu tromboksan B2 dan leukotrien B4, dengan menghambat baik siklooksigenase dan lipoxigenase enzim.<sup>32</sup>

Pemberian *thymoquinone* dosis 5 mg/kgBB dan 10 mg/kgBB mampu memberikan efek hepatoprotektif dibuktikan dengan perbaikan hepatosit, seperti yang terlihat dalam rerata gambaran degenerasi bengkak keruh yaitu sebesar 2% dan 1,8%. Perbaikan tersebut disebabkan oleh efek antioksidan dan antiinflamasi pada *thymoquinone* yang telah dijelaskan sebelumnya. Pada P3 yang diberikan *thymoquinone* dengan dosis 20 mg/kgBB mempunyai rerata gambaran degenerasi bengkak keruh sebesar 6,64%. Berdasarkan hal tersebut, *thymoquinone* dengan dosis 20 mg/kgBB kurang mampu dalam memberikan efek hepatoprotektif meskipun rerata persentase degenerasi bengkak keruhnya lebih rendah dibandingkan rerata bengkak keruh kelompok kontrol positif yaitu sebesar 37,6%. Salah satu penyebab dari kurangnya efek protektif dapat dikarenakan tingginya dosis *thymoquinone* yang diberikan.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif adalah radikal bebas, senyawa ini terbentuk di dalam tubuh dan dipicu oleh bermacam-macam faktor. Ketika paparan radikal bebas dalam tubuh berlebihan maka tubuh dapat mengalami gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, molekul termodifikasi yang tidak dapat dikenali oleh sistem imun dan bahkan mutasi. Semua bentuk gangguan tersebut dapat memicu munculnya berbagai penyakit, mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker.<sup>34</sup>

Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan.<sup>35</sup> Hal tersebut sejalan dengan penelitian Dewi (2011) yang menjelaskan bahwa antioksidan dengan dosis berlebih dapat berubah menjadi prooksidan sehingga dapat memperparah kerusakan akibat dari radikal bebas.<sup>36</sup>

## Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian *thymoquinone* mempunyai efek hepatoprotektif. Terdapat peningkatan efek hepatoprotektif dengan peningkatan dosis 5 mg/kgBB dan 10 mg/kgBB, namun tidak pada dosis 20 mg/kgBB.

## Daftar Pustaka

1. Guyton AC, Hall JE. Buku ajar fisiologi kedokteran. Jakarta: EGC; 2012.
2. Dirjen Binfar dan Alkes. Pharmaceutical care untuk penyakit hepar. Jakarta: Depkes RI; 2007.
3. Suk KT, Kim DJ. Drug-induced liver injury: Present and future. *Clinical and Molecular Hepatology*. 2012; 18(3):249-254.
4. Wai CT. Presentation of drug-induced liver injury in Singapore. *Singapore Medical Journal*. 2006; 47(2):116–20.
5. Dirjen P2PL. Terobosan menuju akses universal: strategi nasional pengendalian TB di Indonesia 2010-2014. Jakarta: Kemenkes RI; 2011.
6. Balitbang Depkes. Riset kesehatan dasar. Jakarta: Kemenkes RI; 2013.
7. Mashhadian NV, Jafari MR, Sharghi N, Sanati T. Protective effects of vitamin c and NAC on the toxicity of rifampin on HepG2 cells. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2013; 12(1):141–46.
8. Santhosh S, Sini TK, Anandan R, Mathew PT. Effect of chitosan supplementation on antitubercular drugs-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicology*. 2006; 219(1-3):53–9.
9. Chen J, Raymond K. Roles of rifampicin in drug-drug interactions: Underlying molecular mechanisms involving the nuclear pregnane X receptor. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2006; 5(3):1–11.
10. Al-Naqeep GN, Ismail MM, Al-Zubairi AS, Esa NM. Nutrients composition and minerals content of three different samples of *Nigella sativa* L. cultivated in Yemen. *Asian Journal of Biological Sciences*. 2009; 2:43–8.
11. Sulistiawati F, Radji M. Potensi pemanfaatan *Nigella sativa* L. sebagai imunomodulator dan antiinflamasi. 2014; 1(2):65-77.
12. Hapsari DA. Pengaruh pemberian minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) dosis bertingkat terhadap parasitemia mencit Balb-c yang diinduksi *Plasmodium berghei* [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro; 2011.

13. Hosseinzadeh H, Bazzaz BSF, Haghi MM. Antibacterial activity of total extracts and essential oil of *Nigella sativa* L. seeds in mice. *Pharmacolgy Online*. 2007; 2: 429–35.
14. Alenzi FQ, Altamimi MAA, Kujan O, Tarakji B, Tamimi W, Bagader O, et al. Antioxidant properties of *Nigella sativa*. *Journal of Molecular and Genetic Medicine*. 2013; 7(3):3–7.
15. Purnomo H. Pengaruh pemberian ekstrak jinten hitam (*Nigella sativa*) sebagai hepatoprotektor pra pemberian parasetamol dosis tinggi tunggal terhadap fungsi hepar tikus putih (*Strain Wistar*) [Tesis]. Surabaya: Universitas Airlangga; 2008.
16. Shiddiqi T. Pengaruh minyak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap kerusakan histologis ginjal mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi parasetamol [Skripsi]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret; 2008.
17. Alsaif MA. Effect of thymoquinone on ethanol-induced hepatotoxicity in wistar rats. *Journal of Medical Sciences*. 2007; 7(7): 1164–70.
18. Mousavi SH, Tayarani NZ, Asghari M, Sadeghnia HR. Protective effect of *Nigella sativa* extract and thymoquinone on serum/glucose deprivation-induced PC12 cells death. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 2010; 30(4):591–98.
19. Federer W. *Statistics and society: Data collection and interpretation*. New York: Marcel Dekker; 1991.
20. Robbins SL, Kumar V, Cotran SR. *Buku ajar patologi robbins*. Edisi ke-7. Jakarta: EGC; 2007.
21. Dhuley JN, Naik SR. Modulation of rifampicin toxicity by 6 MFA, an interferon inducer obtained from fungus *Aspergillus ochraceus*. *Environ Toxicol Pharmacol*. 1998; (5(4):237–43.
22. Navarro VJ, Senior JR. Drug-related hepatotoxicity. *N Engl J Med*. 2006; 354(7): 731–9.
23. Zhao J. Protective effects of metallothionein on isoniazid and rifampicin- induced hepatotoxicity in mice. *PLoS ONE*. 2013; 8(8): 720–58.
24. Swamy AHMV, Kulkarni RV, Koti BC, Gadad PC, Thippeswamy AHM, Gore A. Hepatoprotective effect of *Cissus quadrangularis* stem extract against rifampicin-induced hepatotoxicity in rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012; 74(2):183–87.
25. Gaze DC. The role of existing and novel cardiac biomarkers for cardioprotection. *Current Opinion in Investigational Drugs*. 2007; 8(9):711–7.
26. Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. *Biokimia harper*. Jakarta: EGC; 2013.
27. Yuhas Y, Berent E, Ashkenazi S. Effect of rifampin on production of inflammatory mediators in HepG2 liver epithelial cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2011; 55(12):5541–46.
28. Seronello S, Sheikh MY, Choi J. Redox regulation of hepatitis C in nonalcoholic and alcoholic liver. *Free Radic Biol Med*. 2007; 43: 869–82.
29. Mohamed A, Afridi DM, Garani O, Tucci M. Thymoquinone inhibits the activation of NF-kappaB in the brain and spinal cord of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Biomed Sci Instrum*. 2005; 41:388–93.
30. El-Tawil O, Moussa SZ. Antioxidant and hepatoprotective effects of thymoquinone against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in isolated rat hepatocyte. *J Egypt Soc Toxicol*. 2006; 34:33–41.
31. Khalife KH, Lupidi G. Non enzymatic reduction of thymoquinone in physiological conditions. *Free Radic Res*. 2007; 41:153–61.
32. Bai T, Yang Y, Wu YL, Jiang S, Lee JJ, Lian LH, et al. Thymoquinone alleviates thioacetamide-induced hepatic fibrosis and inflammation by activating LKB1-AMPK signaling pathway in mice. *Int Immunopharmacol*. 2014; 19:351–57.
33. Umar S, Zargan J, Umar K, Ahmad S, Katiyar CK, Khan HA. Modulation of the oxidative stress and inflammatory cytokine response. *Chem Biol Interact*. 2014; 197(1):40–6.
34. Winarsi H. *Antioksidan alami dan radikal bebas*. Yogyakarta: Kanisius; 2007.
35. Gordon. *The mechanism of antioxidant action in vitro*. London: Science Publisher; 1990.
36. Dewi UK, Saraswati TR. Efek rebusan daun tapak dara pada dosis dan frekuensi yang berbeda terhadap kerusakan dan akumulasi glikogen pada hepar mencit (*Mus musculus*). *Bioma*. 2009; 11(1):1-5.