

Kode>Nama rumpun Ilmu: kesehatan dan biomedik

LAPORAN KEMAJUAN
PENELITIA HIBAH BERSAING



**PENGARUH MINYAK BIJI JINTEN HITAM (MBJH)
SEBAGAI AGEN ANTIAGING PADA PENYAKIT
DEGENERATIF**

Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun

Oleh :

dr. Ardi Pramono, M.Kes., Sp. An. (NIDN:0513126902)

dr. Titiek Hidayati, M.Kes. (NIDN: 0508096801)

DIBIYAI DENGAN
DIPA DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
KEMENTERIAN RISET TEKNOLOGI PENDIDIKAN
NOMOR : DIPA-042.06-0.1.401516/2016 TERTANGGAL 7 DESEMBER 2015

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA
Agustus 2016

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : PENGEMBANGAN MINYAK BIJI JINTEN HITAM (MBJH) (*Nigella sativa*) SEBAGAI AGEN ANTIAGING PENCEGAH PENYAKIT KARDIOVASKULER

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : dokter ARDI PRAMONO MKes, SpAn
Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
NIDN : 0513126902
Jabatan Fungsional : Lektor
Program Studi : Pendidikan Dokter
Nomor HP : 08156800919
Alamat surel (e-mail) : ardipramono@ymail.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : Dr. dr. TITIEK HIDAYATI M. Kes
NIDN : 0508096801
Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
Institusi Mitra (jika ada) : -
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 50.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 148.040.000,00

Mengetahui,
Dekan FKIK



(dr. Ardi P. M.Kes. Sp.An)
NIP/NIK 0513126902

Yogyakarta, 9 - 8 - 2016
Ketua,



(dokter ARDI PRAMONO MKes, SpAn)
NIP/NIK 19691213199807173031

RINGKASAN

Hasil dari penelitian tahap pertama menunjukkan bahwa secara in vitro MBJH efektif sebagai agen antiaging pada kultur endotel dan makrofag yang dipapar oksidan DMBA. DMBA adalah radikal reaktif kandungan dari asap rokok, asap dapur dan kendaraan bermotor yang pada hari ini jumlahnya sangat meningkat. Radikal reaktif bersifat merusak jaringan terutama jaringan endotel sehingga membangkitkan reaksi inflamasi. Inflamasi kronik yang berlebihan bersifat destruktif dan berperan pada patogenesis penyakit autoimun dan degeneratif terutama penyakit kardiovaskuler. Secara umum tujuan penelitian ini adalah mendapatkan sediaan MBJH sebagai agen antioksidan antiaging sebagai pencegah penyakit kardiovaskuler untuk kelompok berisiko tinggi. Tujuan khusus pada tahap kedua adalah (i) Mengetahui dosis efektif MBJH sebagai antiaging; (ii) Mengetahui mekanisme farmakodinamik antiaging MBJH secara in vivo pada hewan uji terpapar radikal bebas.

Metode dan keluaran yang diharapkan: Penelitian ini adalah eksperimental laboratorium secara in vitro dan in vivo. Penelitian dilakukan dalam 2 tahap. Tahap pertama bertujuan mengetahui mekanisme biomolekuler antiaging MBJH secara in vitro pada sel endotel dan makrofag. Penelitian tahap kedua bertujuan untuk mendapatkan data dosis efektif dan mekanisme farmakodinamik MBJH sebagai antiaging secara in vivo pada hewan uji terpapar radikal reaktif. Parameter yang diamati meliputi gambaran respon imun pada darah tepi, kondisi klinis, berat badan hewan uji, kadar NO, Kadar SOD, gambaran histopatologi dan ekspresi gen Nrf2, eNOS, pada jaringan aortae dan limpa. Disamping keluaran berupa data dosis efektif dan mekanisme farmakodinamik antiaging sediaan MBJH juga diharapkan didapatkan keluaran penelitian berupa minimal 1 publikasi ilmiah pada jurnal ilmiah nasional terakreditasi atau publikasi internasional. Secara keseluruhan hasil dari penelitian ini adalah diperoleh sediaan MBJH sebagai antiaging yang dapat dipergunakan sebagai upaya pencegahan penyakit kardiovaskuler yang insidensinya semakin meningkat.

Keywords: antiaging, Minyak biji jinten hitam, penyakit degeneratif, pencegahan penyakit kardiovaskuler.

Daftar Isi

Halaman Judul	1	
Halaman Pengesahan	2	
Ringkasan	3	
Halaman Daftar isi	4	
Bab I	PENDAHULUAN	5
	1.1. Latar Belakang	5
	1.2. Rumusan Permasalahan	6
Bab II	TINJAUAN PUSTAKA	8
	2.1. Polusi Udara, Radikal reaktif dan Dampaknya Pada Kesehatan	8
	2.2. Kandungan Rokok dan Mekanisme Patofisiologi rokok	8
	2.3. Genotoksik dan imunotoksik DMBA (dimetilbenz(a)antrasena)	9
	2.4. Sel endotel, Stres oksidatif, dan Aging pembuluh darah	10
	2.5. Penuaan (Aging) pada Endotel dan Penyakit degeneratif	10
	2.6. Respon imun pada aging	11
	2.7. Kandungan dan aktifitas farmakodinamik Biji Jinten Hitam	12
	2.8. Review Hasil Penelitian tentang Biji Jinten Hitam	14
	2.9. Landasan Teori	15
	2.10. Hipotesis	15
Bab III	TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	16
Bab IV	METODE PENELITIAN	
	3.1. Rancangan Penelitian	16
	3.2. Rencana Penelitian tahap Kedua	17
	3.3. Analisis Data	19
	3.4. Variabel Penelitian	20
Bab V	HASIL YANG DICAPAI	
Bab VI	RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	22
Bab VII	KESIMPULAN DAN SARAN	
	Daftar Pustaka	
	Lampiran	

BAB I

PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Insidensi, prevalensi, morbiditas dan mortalitas penyakit tidak menular dan degenerative akibat proses penuaan (aging) meningkat dari tahun ke tahun di Indonesia. Laporan WHO pada tahun 2008 menyebutkan bahwa dari sekitar 57 juta kematian di seluruh dunia, 36 juta di antaranya (63%) disebabkan oleh penyakit tidak menular. Penyakit kardiovaskular (KV) merupakan penyebab utama kematian pada kelompok penyakit tidak menular (48%) mengungguli kanker (21%). Diperkirakan kecenderungan ini akan semakin meningkat pada tahun 2030.

Sel endotel dan makrofag memegang peranan kunci dalam proses terjadinya penyakit KV akibat proses degeneratif. Pencegahan dan pengendalian penyakit KV dan komplikasinya memerlukan pemahaman mekanisme pathogenesis terjadinya penyakit KV dan komplikasinya secara biomolekular, baik in vivo maupun in vitro. Endotelium dan makrofag adalah komponen sistem pertahanan alami yang berinteraksi langsung dengan radikal reaktif yang ada dalam tubuh. Sebagai lapisan pembungkus organ dalam tubuh, endothelium dilengkapi dengan sistem antioksidan sebagai sistem pertahanan alami terhadap radikal reaktif. Sistem antioksidan endogen melibatkan Nrf2 sebagai faktor transkripsi dan eNOS (Akrom, 2013). Endotel tidak lagi sebagai barier yang bersifat pasif, akan tetapi memainkan peran aktif sebagai regulator sistem homeostasis kardiovaskular, mekanisme hemostasis dan koagulasi, pengaturan vasomotor, angiogenesis dan permeabilitas (Cines et al., 1998). Aktivasi endotel dan disfungsi endotel serta makrofag akibat paparan radikal reaktif mengawali proses berlangsungnya pathogenesis berbagai penyakit degenerative termasuk penyakit kardiovaskular.

Konsumsi antioksidan herbal termasuk MBJH diharapkan dapat menghambat proses degenerative dalam tubuh. Minyak lemak tak jenuh yaitu linoleat dan linolenat dan timokuinon, nigelon dan nigelin (Farrah *et.al.*, 2004; Nickavar *et.al.*, 2003) merupakan antioksidan kuat (El sayed & Fukuhima, 2003; Mousa *et.al.*, 2004; Randhawa *et al.*, 2002; Iddamaldeniya, 2006, 2003; Akrom, 2007). Pengusul telah membuktikan bahwa pemberian MBJH sebelum dan selama diinduksi dimetil benzantrasena (DMBA) pada tikus SD dapat menghambat karsinogenesis ca mammae, meningkatkan jumlah lekosit serta kemampuan hidup hewan uji (Akrom, 2011). Hasil uji laboratorik membuktikan bahwa MBJH bersifat menghambat jalur siklooksigenase dan 5-lipooksigenase dalam metabolisme arachidonat pada leukosit peritoneal tikus dan meningkatkan aktifitas fagositosis makrofag (Randhawa *et.al.*, 2002; Hidayati & Akrom, 2006; Akrom & Wijaya, 2007).

Penelitian sebelumnya telah berhasil mendapatkan MBJH sebagai antihematotoksik (Hidayati, 2012). Pemberian MBJH dosis 0,1 s.d. 0,25 ml/kgBB bersifat antihematotoksik pada tikus SD yang diinduksi DMBA (Hidayati, 2013). Pemberian MBJH 14 hari sebelum induksi DMBA dapat mencegah penurunan jumlah sel CD4Th maupun CD4CD25Treg (Mousa *et.al.*, 2004; el-Aziz *et.al.*, 2005). Namun demikian sampai saat ini uji aktivitas anti oksidan antiaging MBJH secara *in vitro* pada endotem maupun pada makrofag serta secara *in vivo* pada tikus SD yang diinduksi DMBA belum dilakukan.

1.2.Rumusan Masalah Penelitian

Secara umum permasalahan penelitian adalah “Bagaimana efektifitas dan karakteristik aktifitas farmakodinamik minyak biji jinten hitam (MBJH) sebagai antioksidan antiaging?” Rincian rumusan permasalahan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana efektifitas MBJH sebagai antiaging pada tikus SD yang diinduksi oksidan DMBA atau nikotin ?

2. Mengetahui bagaimana aktifitas farmakodinamik MBJH sebagai antioksidan antiaging pengaruh praperlakuan pemberian 14 hari dosis 0.01 ml/kgbb minyak biji jinten hitam pada tikus yang diinduksi nikotin/ekstrak rokok berulang tikus SD terhadap gambaran darah tepi, berat limpa, gambaran histopatologi limpa, ekspresi Nrf2, eNOS dan kadar NO?

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi MBJH sebagai agen antiaging pencegah penyakit kardiovaskuler. Secara khusus penelitian ini bertujuan:

1. Mengetahui bagaimana efektifitas MBJH sebagai antiaging pada tikus SD yang diinduksi oksidan DMBA.
2. Mengetahui bagaimana aktifitas farmakodinamik MBJH sebagai antioksidan antiaging pengaruh praperlakuan pemberian 14 hari dosis 0.01 ml/kgbb minyak biji jinten hitam pada tikus yang diinduksi DMBA berulang tikus SD terhadap gambaran darah tepi, berat limpa, gambaran histopatologi limpa, ekspresi Nrf2, eNOS dan kadar NO.

3.2 Kontribusi Penelitian

Penelitian ini paling tidak akan memberikan manfaat sebagai berikut:

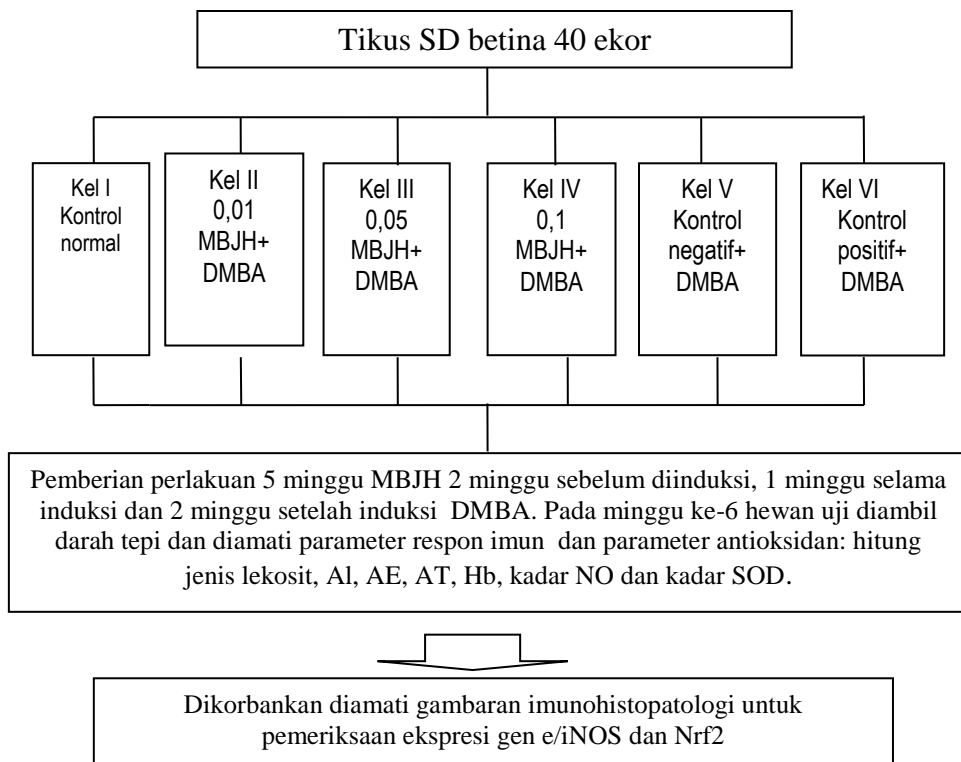
- **Manfaat Teoritik** : Memberikan informasi tentang pentingnya pengamatan mekanisme kerja secara biomolekuler mekanisme antioksidan MBJH pada sel endotel atau makrofag yang dipapar radikal reaktif DMBA baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.
- **Manfaat Metodologik** : Metode *invivo* bisa memberikan gambaran farmakodinamik lebih realistis dan relevan dengan sistem enzim dan perkembangan genetik fenomena imunotoksikologi DMBA.

BAB IV
METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Pada penelitian digunakan beberapa metode sesuai dengan tujuan dan tahapan penelitian. Rancangan penelitian pada tahun kedua eksperimental laboratorik dengan kelompok kontrol pada hewan uji diinduksi DMBA.

Penelitian tahap kedua bertujuan untuk mengetahui efektifitas dan karakteristik mekanisme antioksidatif agen antiaging MBJH secara in vivo pada tikus SD diinduksi DMBA. Penelitian tahun kedua diharapkan diperoleh data tentang dosis efektif dan mekanisme kerja antioksidatif agen anti aging MBJH secara in vivo yang dipublikasikan pada jurnal terakreditasi internasional. Bagan rancangan penelitian acak tersamar tampak pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagan pembagian kelompok hewan uji dengan rancangan penelitian eksperimental acak terkontrol.

B. Penelitian Tahap II

Penelitian tahap kedua dilakukan pada tahun kedua bertujuan untuk mengetahui efektifitas dan karakteristik mekanisme antioksidatif agen antiaging MBJH secara *in vivo* pada tikus SD diinduksi DMBA. Penelitian tahun kedua diharapkan diperoleh data tentang dosis efektif dan mekanisme kerja antioksidatif agen anti aging MBJH secara *in vivo* yang dipublikasikan pada jurnal terakreditasi internasional. Parameter antiaging yang diamati meliputi gambaran histopatologi vaskuler aortae & limpa, nekrosis/apoptosis sel endotel/makrofag, gambaran darah tepi, kadar SOD dan NO serta ekspresi gen Nrf2, dan eNOS.

Prosedur kerja:

1. Karantina dan aklimatisasi hewan uji. Empat puluh ekor tikus galur SD umur 2 minggu dikandangkan dalam kandang plastik yang ditutup dengan anyaman kawat. Sebelum digunakan untuk penelitian tikus diadaptasikan selama 1 minggu di kandang pemeliharaan. Selama karantina dan aklimatisasi hewan uji diberi makan dan minum sesuai standar. Hari keenam aklimatisasi hewan uji secara acak dibagi dalam enam kelompok (Akrom, 2013; Akrom *et al.*, 2013).

2. Uji efektifitas dan mekanisme antiaging *in vivo*.

a) Persiapan dan pengelompokan subyek uji

Empat puluh ekor tikus galur SD umur 3 minggu setelah secara acak dibagi dalam enam kelompok masing-masing 6 ekor kemudian dikandangkan dalam kandang plastik yang ditutup dengan anyaman kawat. Selama penelitian tikus ditimbang setiap minggunya untuk mengetahui perkembangan berat badan.

Kelompok I kelompok normal. Hewan uji pada kelompok ini tidak diberikan perlakuan apapun hanya mendapatkan makan minum standar selama dalam pengujian. Kelompok II, III dan IV merupakan kelompok perlakuan. Hewan uji mendapatkan MBJH dosis 0,01, 0,05 dan 0,1 ml/kgbb dan diinduksi DMBA dosis tunggal 15 mg/ekor. Kelompok V sebagai kontrol negatif, hewan uji

mandapatkan induksi dosis tunggal DMBA dan kelompok VI sebagai kontrol positif, mendapatkan vitamin E/A dan diinduksi DMBA dosis tunggal.

b. Pemeriksaan manifestasi klinis dan darah tepi hewan uji.

Manifestasi klinis hewan uji yang diamati antara lain pengukuran terhadap berat badan, penampilan umum dan kemampuan hidup. Cara pengamatan dan pengukuran parameter manifestasi klinis sebagaimana dilakukan oleh peneliti sebelumnya yaitu penimbangan berat badan dan kondisi klinis dilakukan seminggu sekali dengan menggunakan form observasi dan pengambilan data (Akrom, 2004; Mousa, 2004).

Pemeriksaan darah tepi, jumlah dan hitung jenis leukosit serta darah merah dilakukan sebagaimana prosedur sebelumnya (Akrom, 2004). Sampel sebanyak 1 tetes diteteskan ke obyek glass, sampel dibuat preparat apus, difiksasi dengan metanol, kemudian dicat dengan Giemsa 10%, didiamkan selama 30 menit, lalu dibilas dengan aquades, setelah kering diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Preparat ditetesi minyak emersi untuk memperjelas pengamatan. Cara menghitung jumlah absolut masing-masing jenis leukosit adalah dengan mengalikan persentase jumlah masing-masing jenis leukosit dengan total leukosit. Penghitungan dilakukan oleh Laboran Patologi Klinik Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

c. Pemeriksaan gambaran histopatologi, apoptosis dan nekrosis endotelium

(i). Isolasi pembuluh darah aorta. Aortae terletak dibagian belakang rongga dada, diatas jantung. Aortae diambil dari rongga dada begitu peritonium dibuka, setelah mencit dinarkosa dengan kloroform.

(ii). Pemeriksaan histopatologi aortae Pemeriksaan histopatologis aortae dilakukan sebagaimana peneliti sebelumnya dengan prosedur mulai dari proses jaringan, pengecatan dengan Hematoxylin & Eosin dan analisis hasil penilaian histopatologis. Preparat histologi limpa diamati dengan mikroskop Olympus ® di

Laboratorium Patologi anatomi FK UMY Yogyakarta dengan perbesaran antara 40-200X. Preparat H&E dianalisis perubahan-perubahan yang terjadi pada tingkat seluler secara deskriptif untuk mengetahui perubahan gambaran jaringan limpa. Proses preparasi sediaan histopatologis sampai pembacaan hasil dilakukan oleh ahlinya (Akrom, 2004).

(iii). Isolasi dan uji aktivitas proliferasi, apoptosis dan nekrosis endotel, dan makrofag. Pellet yang didapat diresuspensikan dalam 2 ml *tris Buffered Ammonium chloride* (TBAH) untuk melisis eritrosit. Sel dicampur menggunakan pipet dan didiamkan pada suhu ruangan selama 2 menit. Ditambahkan 1 ml *Fetal Bovine Serum* (FBS) pada dasar tabung menggunakan pipet. Suspensi tersebut kemudian disentrifus dengan kecepatan 1200 rpm 4 C selama 5 menit, dan supernatannya dibuang. Pellet dicuci dengan RPMI 2 x dengan cara dipipet berulang-ulang dan disentrifus pada 1200 rpm 4 C selama 5 menit. Supernatan dibuang dan sel diresuspensikan dengan medium komplet. Sel dihitung menggunakan hemositometer dan ditentukan viabilitasnya dengan trypan blue (Ratnaningsih, 2001).

d). Pemeriksaan ekspresi gen Nrf2, dan eNOS

Darah yang telah ditampung dalam tabung *vacutainer* yang berisi antikoagulan, siap diperiksa dengan *flowcytometer* dengan prosedur sebagai berikut: (i). Spesimen dipipet ke dalam tabung falcon sebanyak 50 μ L.(ii). Tambahkan 10 pL reagen tritest CD FITC/CD per CP. (iii). Campur homogen pada *vortex mixer*, kemudian diinkubasi 15 menit 20-25°C pada ruang gelap. (iv). Encerkan 50 p.L larutan pelisis I Ox FACS dengan akuades sebanyak 450 p.L kemudian campur homogen. (v). Setelah waktu inkubasi selesai, sampel ditambah 450 pL reagen FACS (Ix) yang sudah diencerkan. (vi). Campur homogen, kemudian inkubasi 15 menit 20-25°C pada ruang gelap. (vii). Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan analisis menggunakan alat FACS *flowcytomeler*.

3. Analisis data

Analisis hasil penelitian secara statistik digunakan metode yang berbeda untuk jenis data yang berbeda. Data perkembangan berat badan dianalisis dengan Anava dilanjutkan uji Tukey untuk menganalisis kemaknaan perbedaan nilai rata-rata antar kelompok dan antar waktu pengambilan data. Perbedaan gambaran histopatologis dianalisis secara deskriptif dilanjutkan inferensi (analitik). Perbedaan rata-rata jumlah ekspresi gen, dan kadar antar kelompok diuji dengan Anova ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji multiple comparison. Data manifestasi klinik disajikan secara deskriptif.

4. Variabel Penelitian

(a). Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian adalah DMBA dan minyak biji jinten hitam dengan dosis setara dengan dosis 0,01, 0,05 dan 0,1 ml/kgBB selama 2 minggu sebelum diinduksi DMBA, 1 minggu selama diinduksi DMBA dilanjutkan 2 minggu setelah diinduksi DMBA.

(b). Variabel Terpengaruh

Variabel terpengaruh dalam penelitian ini adalah:

(1). Gambaran darah tepi, dengan parameter yang diamati:

- (i). Jumlah leukosit dan hitung jenis leukosit ; (ii). Jumlah eritrosit ;
- (iii). Kadar Hb dan hematokrit; (iv). Jumlah platelet

(2). Ekspresi gen Nrf2, eNOS, MDA dan SOD:

(c). Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah jenis hewan uji, jenis kelamin, umur dan berat badan hewan uji.

2. Definisi operasional variabel

- a. Pemberian MBJH yaitu pemberian per oral MBJH pada tikus SD kelompok perlakuan dengan tiga dosis perlakuan yaitu dosis 0,01, 0,05, dan 0,1 ml/kgbb tiap tikus perhari selama 5 minggu.

- b. Induksi DMBA dosis tunggal adalah pemberian 15mg/ekor DMBA dalam pelarut corn oil 100 mg/kgbb secara per oral dengan sonde dosis tunggal.
- c. Aktivitas antiaging adalah (i). Perbaikan gambaran darah tepi (jumlah leukosit, eritrosit, trombosit, hitung jenis, Hb dan hematokrit) kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok DMBA dengan kelompok normal sebagai parameter normal; (ii). Peningkatan berat limpa dan perbaikan gambaran histopatologi serta jumlah spleenosit limpa kelompok MBJH jika dibandingkan kelompok DMBA; (iii) Peningkatan ekspresi gen Nrf2, eNOS dan serta kenaikan kadar SOD serta penurunan NO kelompok MBJH jika dibandingkan kelompok DMBA.

BAB V

HASIL YANG DICAPAI

Hasil sementara selama penelitian ini berlangsung yang telah dicapai diantaranya yaitu:

1. Publikasi Jurnal yang termuat dalam buku *proceeding One Day Seminar Stroke* yang diselenggarakan oleh *Continuing Medical Education (CME) FKIK UMY ke-39* bekerjasama dengan *Taskforce for Initiative Cardiovascular and Cancer Center (TICC) FKIK UMY*.

(The Proceeding of one day seminar stoke ISBN 9786022294566)

95

STUDI PENDAHULUAN: PENGEMBANGAN AGEN ANTIAGING *NIGELLA SATIVA* PADA KULTUR SEL ENDOTEL MANUSIA (*HUMAN UMBILICAL VEIN ENDOTHELIAL CELLS*)

Ardi Pramono¹, Ikhlas Muhammad Jenie², Titiek Hidayati³

¹Departemen Biokimia dan Anestesiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

²Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas
Muhammadiyah Yogyakarta

³Departemen Epidemiologi, Kedokteran keluarga dan Kesehatan masyarakat,
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

ABSTRACT

Introduction: Morbiditas dan mortalitas penyakit kardiovaskuler cukup tinggi. Sel endotel memegang peranan kunci dalam proses awal terjadinya penyakit tersebut karena sebagai regulator dalam hemostasis dan koagulasi, pengaturan vasomotor, angiogenesis dan permeabilitas. Zat aktif utama *Nigella sativa* (NS) yaitu limoleat, linolenat, timokuinon, nigelon dan nigelin bersifat antioksidatif. Konsumsi minyak NS diharapkan dapat menghambat proses degeneratif dalam tubuh. Pengujian NS sebagai antiaging pada kultur sel endotel perlu dilakukan. Perlu dikembangkan suatu model *in vitro* untuk pengujian mekanisme antioksidatif pada kultur sel endotel. Kultur sel endotel manusia dari vena umbilikalis atau *human umbilical vein endothelial cells* (HUVEC) akan diajukan sebagai suatu model sel endotel *in vitro*.

Methods: Penelitian dilakukan dengan disain eksperimen *in vitro* pada sel HUVEC. Sel endotel vena diisolasi dari placenta. Kegiatan dalam penelitian adalah melakukan uji coba menanam sel endotel dari vena umbilikalis (HUVEC) dan mengidentifikasi morfologinya. Sel HUVEC yang berhasil ditumbuhkan dipersiapkan untuk pengujian minyak NS sebagai antioksidan.

Result: Penelitian telah mendapatkan produk teknologi berupa kultur primer dan sekunder sel endotel. Kultur primer dan sekunder sel endotel siap untuk dilakukan pengujian efek antioksidatif minyak NS.

Conclusion: Penelitian telah berhasil menumbuhkan kultur HUVEC dan siap dilakukan untuk pengujian efek antioksidatif minyak NS.

Keywords: HUVEC; minyak *Nigella sativa*; antioksidatif

The Proceeding of one day seminar stroke

ISBN 9786022294566

Studi pendahuluan: Pengembangan agen antiaging Nigella sativa pada Kultur Sel Endotel Manusia (*Human Umbilical Vein Endothelial Cells*)

Ardi Pramono¹, Ikhlās Muhammad Jenie², Titiek Hidayati³

¹Departemen Biokimia dan Anestesiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

²Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

³Departemen Epidemiologi, Kedokteran keluarga dan Kesehatan masyarakat, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Penelitian dibiyai oleh dana hibah bersaing diiki Indonesia

Abstract

Background: Morbidity and mortality of cardiovascular disease is high. Endothelial cells play a key role in the onset of the disease process as a regulator in hemostasis and coagulation, vasomotor regulation, angiogenesis and permeability. The main active substance of Nigella sativa (NS) is linoleic, linolenic, timokuinon, nigelon and antioxidative nigelin nature. NS oil consumption is expected to inhibit the degenerative processes in the body. Testing NS as antiaging in cultured endothelial cells needs to be done. Need to develop an in vitro model for testing antioxidative mechanism in cultured endothelial cells. Culture of human endothelial cells from human umbilical vein or umbilical vein endothelial cells (HUVEC) will be proposed as a model of endothelial cells in vitro.

Method: The study was conducted with the design of in vitro experiments in HUVEC cells. Vein endothelial cells isolated from the placenta. Activities in the research is to test planting of umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and identify morphological. HUVEC cells were successfully grown NS oil prepared for testing as an antioxidant.

Results: The study has been getting the product technology in the form of primary and secondary cultures of endothelial cells. Primary and secondary cultures of endothelial cells ready for testing antioxidative effect of NS oil.

Conclusion: The study has been successfully growing HUVEC culture and ready made for testing antioxidative effect of NS oil.

Keywords: HUVEC; Nigella sativa oil; antioxidative

Abstract

Latar belakang: Morbiditas dan mortalitas penyakit kardiovaskuler cukup tinggi. Sel endotel memegang peranan kunci dalam proses awal terjadinya penyakit tersebut karena sebagai regulator dalam hemostasis dan koagulasi, pengaturan vasomotor, angiogenesis dan permeabilitas. Zat aktif utama Nigella sativa (NS) yaitu linoleat, linolenat, timokuinon, nigelon dan nigelin bersifat antioksidatif. Konsumsi minyak NS diharapkan dapat menghambat proses degenerative dalam tubuh. Pengujian NS sebagai antiaging pada kultur sel endotel perlu dilakukan. Perlu dikembangkan suatu model in vitro untuk pengujian mekanisme antioksidatif pada kultur sel endotel. Kultur sel endotel manusia dari vena umbilikalis atau *human umbilical vein endothelial cells* (HUVEC) akan diajukan sebagai suatu model sel endotel in vitro.

Metoda: Penelitian dilakukan dengan disain eksperimen in vitro pada sel HUVEC. Sel endotel vena diisolasi dari placenta. Kegiatan dalam penelitian adalah melakukan uji coba menanam sel endotel dari vena umbilikalis (HUVEC) dan mengidentifikasi morfologinya. Sel HUVEC yang berhasil ditumbuhkan dipersiapkan untuk pengujian minyak NS sebagai antioksidan.

Hasil: Penelitian telah mendapatkan produk teknologi berupa kultur primer dan sekunder sel endotel. Kultur primer dan sekunder sel endotel siap untuk dilakukan pengujian efek antioksidatif minyak NS.

Kesimpulan: Penelitian telah berhasil menumbuhkan kultur HUVEC dan siap dilakukan untuk pengujian efek antioksidatif minyak NS.

Kata kunci: HUVEC; minyak Nigella sativa; antioksidatif

2. Publikasi Jurnal pada *Allied Academies Journals*

From: **Editor- Allied Academies Journals** <em@editorialmanager.com>

Date: 5 July 2016 at 09:31

Subject: Submission Confirmation for Allied Academies-16-706R1

To: Titiek Hidayati <journalclinical1@gmail.com>

Ref.: Ms. No. Allied Academies-16-706R1

Evaluation of black cumin seeds hexane extract as reactive oxygen intermediates (ROI) and phagocytic activity modulator in DMBA induced-rats

Dear Dr Hidayati,

Biomedical Research has received your revised submission.

You may check the status of your manuscript by logging onto Editorial Manager at (<http://www.editorialmanager.com/alliedacademies/>).

Kind regards,

Journal Office

**Evaluation Of Black Cumin Seeds Hexane Extract
as Reactive Oxygen Intermediates (ROI)
and Phagocytic Activity Modulator In DMBA Induced-Rats
Running Title: Evaluation of black cumin seeds**

Titiek Hidayati¹, Ardi Pramono², Ikhlas Muhammad Jenie³, Marsetyawan Hne Soesaty⁴

¹Department of Epidemiology, Faculty of Medicine, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

²Department of Biochemistry and Anesthesia, Faculty of Medicine, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

³Department of Physiology, Faculty of Medicine, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

⁴Department of Histology, Faculty of Medicine, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia

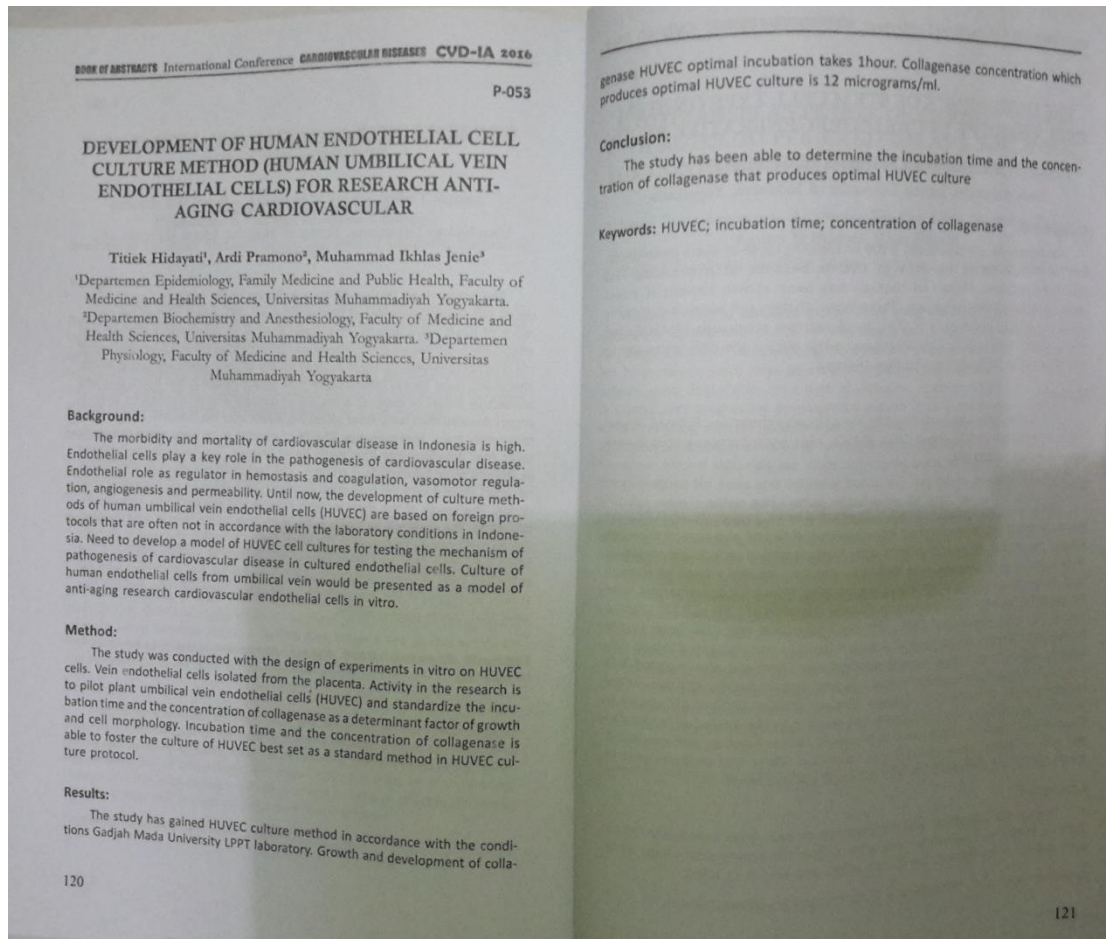
Corresponding Author email: hidayatifikumy@yahoo.co.id

Abstract

Dimethylbenzanthracene (DMBA) compounds were proven to suppress bone marrow activity, immunosuppressive, and genotoxic and carcinogenic. Black cumin seed extract was used as an immunomodulator, which can be developed as a great therapeutic agent for adjuvant chemotherapy in cancer patients as an immunomodulatory agent. The aim of this study is to determine the effect of black cumin seed hexane extract (BCSHE) as an immunomodulator in SD rat's peritoneal macrophages induced by DMBA or without DMBA. In vitro experimental study was performed on rat's peritoneal macrophages cultures induced by DMBA and without DMBA. BCSHE were administered to cultures in five different doses; 1, 5, 25, 125 and 625 ug/ml with control media, tween, and positive control thymoquinone. The test substance was added after the macrophages were activated and then measured by using latex phagocytosis method while ROI secretion assay was measured by using NBT assay method. Results showed that macrophage activation by BCSHE solution increased ROI secretory activity in both SD rat's macrophage induced by DMBA and without DMBA. BCSHE could increase phagocytic activity in-vitro. It can be concluded that BCSHE can increase ROI secretion and phagocytic activity on SD rat's peritoneal macrophages induced by DMBA and without DMBA.

Keywords: black cumin seeds hexane extract, dimethylbenzanthracene, immunomodulator, macrophages

3. *Poster presentation* on Internstionsl Conference Cardiovascular Disease Yogyakarta , 2016.



BAB VI
RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Rencana lanjutan dari penelitian ini adalah:

1. Pengolahan data hasil pengamatan.
2. Publikasi ilmiah.

BAB VII
KESIMPULAN DAN SARAN

1. Dalam pelaksanaan pemberian perlakuan, sebaiknya dibantu dan disuperviseri oleh ahli.
2. Dalam pelaksanaan pembuatan preparat sediaan pengamatan, sebaiknya dilakukan oleh ahli.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A. H., and Pober, J. S. 1994. *Cellular and Molecular Immunology*. Second Ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company
- Akrom, 2004. Efek ekstrak etanol HERBA MENIRAN (*Phyllanthus niruri* L) Terhadap Respon Imun Seluler Mencit Galur SWISS Jantan Selama Diinfeksi *Plasmodium Berghei* : Studi imunomodular fitokimia, *Tesis*, Pasca Sarjana UGM, Yogyakarta
- Akrom, Khoiri, N., Suhana, Y., Mustofa, 2007. Pengaruh pemberian ekstrak etanol biji Jinten hitam (*N.sativa* Lour) terhadap aktivitas fagositosis dan sekresi ROI makrofag mencit jantan galur Balb C secara *in vitro*, *Seminar Nasional Tanaman Obat dan obat tradisional*, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Badan Litbang Kesehatan, Departemen Kesehatan RI, Solo, 10-11 Juli 2007
- Akrom, Wijaya, A., Djannah, S.N., 2007. Effect of the ethanolic extract of *Nigella sativa* on phagocytosis activity of macrophage male swiss mice during infection of *Listeria monocytogenes*, *The 4th International Eijkman Conference*, Bali, 15-18 November 2007
- Albihn A, Lovén J, Ohlsson J, Osorio LM, Henriksson M, 2006. c-Myc-dependent etoposide-induced apoptosis involves activation of Bax and caspases, and PKCdelta signaling, *J Cell Biochem*, 15;98(6):1597-614.
- Al Ghamdi MS, 2001. *The antiinflamator, analgesic and antipyretic activity of Nigella sativa*, 55 : 379-382. Departemen of Pharmacology King Faisal University Collage of Medicine. www.elsevier.com. Desember 2002
- Arora, A, Siddiqui, I.A., Shukla, Y., 2004. Modulation of p53 in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced skin tumors by diallyl sulfide in Swiss albino mice, *Mol Cancer Ther.*,3(11):1459-66.
- Badary OA, Abd-Ellah MF, El-Mahdy MA, Salama SA, Hamada FM, 2007. Anticlastogenic activity of thymoquinone against benzo(a)pyrene in mice, *Food Chem Toxicol*, 45(1):88-92
- Badary OA, Al-Shabanah OA, Nagi MN, Al-Rikabi AC, Elmazar MM, 1999. Inhibition of benzo(a)pyrene-induced forestomach carcinogenesis in mice by thymoquinone, *Eur J Cancer Prev.*,8(5):435-40
- Badary OA, Gamal El-Din AM, 2001. Inhibitory effects of thymoquinone against 20-methylcholanthrene-induced fibrosarcoma tumorigenesis., *Cancer Detect Prev.*,25(4):362-8
- Bajak, E.Z., 2005. Genotoxic stress: novel biomarkers and detection methods uncovering RNAs role in epigenetics of carcinogenesis, *Dissertation*, Karolinska University Press, Sweden

- Bala, K., Ambwani, K., Gohil, N.K. 2011. Effect of different mitogens and serum concentration on HUVEC morphology and characteristics: Implication on use of higher passage cells. *Tissue and Cell* 43: 216-22.
- Baratawidjaja, K.G. 2004. *Imunologi Dasar*. Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Baratawidjaja, K.G. 2006. *Imunologi Dasar*. Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Barletta, E., G. Gorini, P. Vinels, L. Miligi, L. Davico, G. Mugnai, S. Ciolli, F. Leoni, M. Bertini, G. Matullo, and A. S. Costantini. 2004. *Ras gene* mutations in patients with acute myeloid leukemia and exposure to chemical agents. *Carcinogenesis*, 25(5), 749-755
- Baudin, B., Bruneel, A., Bosselut, N., Vaubourdolle, M. 2007. A protocol for isolation and culture of human umbilical vein endothelial cells. *Nature Protocols* 2(3): 481-85.
- Budiono, K., 2006. STUDI KONSUMSI ROKOK UMAT ISLAM INDONESIA, makalah
- Cines, D.B., Pollak, E.S., Buck, C.A., Loscalzo, J., Zimmerman, G.A., McEver, R.P., Pober, J.S., Wick, T.M., Konkle, B.A., Schwartz, B.S., Barnathan, E.S., McCrae, K.R., Hug, B.A., Schmidt, A.M., Stern, D.M. 1998. Endothelial Cells in Physiology and in the Pathophysiology of Vascular Disorders. *Blood* 91(10): 3527-61.
- Dale, M. M., Foreman, J. C. and Fan, T.D. (ed.) 1994. *Textbook of Immunopharmacology*. Oxford : Blackwell Scientific Publications
- Depkes RI, 2000, *Pedoman Pelaksanaan Pedoman Uji Klinik Obat Tradisional*, Departemen Kesehatan R. I., Jakarta
- Depkes RI, 2004, *Masalah Rokok dan Penanggulangannya di Indonesia*, Departemen Kesehatan R. I., Jakarta
- El-Kadi A, Kandil O. 1986, Effect of *Nigella sativa* (the black seed) on immunity. Proceeding of the 4th International Conference on Islamic Medicine, Kuwait. *Bull Islamic Med*; 4: 344-8.
- El Sayed I and Fukushima S, 2003. Chemopreventive potential of volatile oil from black cumin (*Nigella sativa* L) seeds against rat colon carcinogenesis. *J. of Nutrit and Cancer*. 45 (2):195-202
- Farrak, K.M., 2001. Mechanisms of the hypoglycaemic and immunopotentiating effects of *Nigella sativa* L. oil in streptozotocin-induced diabetic hamsters
- Freshney, R.I. *Culture of Animal Cells: A manual of basic technique*. Fourth ed. New York: Wiley-Liss. p 372.
- Galley, H.F., Webster, N.R. 2004. Physiology of the Endothelium. *British Journal of Anaesthesia* 93(1): 105-13.
- Gibbs, J.B., 2000, Mechanism-based Target Identification and Drug Discovery in Cancer Research, *Science* vol 287, 1969-1973

- Gimbrone, M.A., Cotran, R.S., Folkman, J. 1974. Human vascular endothelial cells in culture: Growth and DNA synthesis. *J Cell Biol* 60: 674-84.
- Harborne J.B., 1987, *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Imam Sudiro, Edisi kedua, Penerbit ITB, Bandung.
- Haq, A., Lobo, P.I., Al Tufail, M., Rama, N., R., Al Sedairy, S., T., 1999. Immunomodulatory effect of *Nigella sativa* proteins fractionated by ion exchange chromatography, *Int. J. Immunopharmacol.*, 21(4):283-95
- Hidayati, T., Akrom.** Pengaruh ekstrak etanol jinten hitam terhadap aktivitas fagositosis makrofag mencit Swiss yang diinfeksi *P.berghei* secara in vitro, *Prosiding seminar nasional farmakoterapi*, Program Profesi Apoteker Fakultas Farmasi UAD, Yogyakarta: 14 Januari 2006
- Hodgson E., 2001. In vitro human phase I metabolism of xenobiotics I: pesticides and related chemicals used in agriculture and public health, September 2001., *J Biochem Mol Toxicol.* , 15(6), 296-299
- Iddalmadeniya,S.S., Thabrew, M.L., Wickramasinghe, S.M.D.N., Ratnatunge, N., Thammitiyagodage, M.G., 2006. A long-term investigation of the anti-hepatocarcinogenic potential of an indigenous medicine comprised of *Nigella sativa*, *Hemidesmus indicus* and *Smilax gabra*, *J.Carcinog*, Oct 18; 8(1):6
- Iddalmadeniya,S.S., Thabrew, M.L., Wickramasinghe, S.M.D.N., Ratnatunge, N., Thammitiyagodage, M.G., 2003. Protection against diethylnitrosoamine-induced hepatocarcinogenesis by an indigenous medicine comprised of *Nigella sativa*, *Hemidesmus indicus* and *Smilax gabra*, *J.Carcinog*, Oct 18; 2(1):6
- Jaffe, E.A., Nachman, R.L., Becker, C.G., Minick, C.R. 1973. Culture of human endothelial cells derived from umbilical vein. *J Clin Invest* 52:2745-56.
- Jones, CLA.,2000. Herbal Aids For Cancer. *Nutrition Science News* dalam Chiro.org. www.Chiro.org.
- King, R.J.B., 2000, *Cancer Biology*, 2nd edition, Pearson Education Ltd., London
- Kresno, S.B., 2001. *Imunologi : Dignosis dan Prosedur Laboratorium*. Ed. Keempat. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Kubatka, P., Ahlersova E., Ahlers I., Bojkova B., Kalicka K., Adamekova E., Markova M., Chamilova M. and Cermakova M., 2002, Variability of Mammary Carcinogenesis Induction in Female Sprague-Dawley and Wista: Han Rats : the Effect of Season and Age, *Physiol. Res.* , 51,633-640
- MacDonald,F.,and Ford, C.H.J., 1997, *Molecular Biology of Cancer*, Bios Scientific Publishers, Oxford
- Meiyanto,E.,Susilowati,Sitarina,Arifin,I., 2004a, Efek Antimutagenik ekstrak etanolik daun *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. pada kanker payudara

- tikus terinduksi DMBA melalui induksi enzim GST hepar dalam *Seminar "Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia"* Yogyakarta.
- Meiyanto, E., Sugiyanto, and R. Murwanti, 2004b. Efek Anti Karsinogenesis Ekstrak Etanol Tanaman Daun Dewa (*Gynura procumbens* (Luor) Merr) pada Kanker Payudara Tikus yang diinduksi dengan Dimetilbenz(a)antrazena (DMBA). *Penelitian Hibah Bersaing*, 6-12
- Melendez-Colon, V.J., Luch, A., Seidel, A., Baird, W.M., 2000. Formation of stable DNA adducts and apurinic sites upon metabolic activation of bay and fjord region polycyclic aromatic hydrocarbons in human cell cultures, *Chem Res Toxicol.*, 13(1),10-17
- Melendez-Colon, V.J., Luch, A., Seidel, A., Baird, W.M., 1999. Cancer initiation by polycyclic aromatic hydrocarbons results from formation of stable DNA adducts rather than apurinic sites, *Carcinogenesis*. 20(10),1885-1891
- Miyata, M., Kudo, G., Lee, Y., Yang, T.J., Gelboin, H.V., Gonzalez, F.J., 1999, Targeted Disruption of the Microsomal Epoxide Hydrolase Gene, *J. Biol. Chem.*, 274, 23963-23968.
- Mousa, D., Dilsiz, N., Gumushan, H., 2004. Antitumor activity of an ethanol extract of *Nigella sativa* seeds, *Biologia-Bratislava*, 59(6):735-40
- Nachman, R.L., Jaffe, E.A. 2004. Endothelial cell culture: beginnings of modern vascular biology. *J Clin Invest* 114: 1037-40.
- Nickavar B., Mojab, F., Javidnia, K., Amoli, M.,A., 2003. Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran, *J. Naturforsch*, 58(9-10):629-31
- Pitot, H.C., and Dragan, Y., P., 2001, *Chemical Carcinogenesis*, in Curtis D Klaasen, Casarett & Doull's: *Toxicology, The Basic Science of Poisons*, 6th ed, Mc. Graw Hill. Medical Publishing Division, New York, p. 241-280.
- Purnomosari, D., Paramita, D.K., Aryandono, T., Pals, G., Van Diest, P.J., 2005. A novel BRCA2 mutation in an Indonesian family found with a new, rapid, and sensitive mutation detection method based on pooled denaturing gradient gel electrophoresis and targeted sequencing, *J.Clin.Pathol*, 58, 493-499
- Randhawa, M.A., Al-Ghamdi,MS., 2002 , A review of the pharmaco-therapeutic effects of *Nigella sativa*, *Pakistan J. Med. Res.* Vol.41, No.2
- Robbins, S.L., Contran, R.S., and Kumar, V., 1984, *Neoplasia, Pathologic Basic of Disease*; 3rd, W.B., Saunders Co., Philadelphia, 215-249.
- Roitt, I., 1997, *Roitt's Essential Immunologi*, Ninth Edition, Blackwell Science Ltd, London, 380-385
- Salem,M.L.& Hossain, M.S., 2000. Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against murine cytomegalovirus infection,*Int. J. Pharmacol.*, 22(9):729-40

- Sangat, H.M., Zuhud, E.A.M. dan Damayanti, E.K. 2000. *Kamus Penyakit dan Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia
- Shimada, T., 2006. Xenobiotic – metabolizing enzymes involved in activation and detoxification of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon, *Drug. Metab Pharmacocinet*, 27(4), 257-276
- Shimada, T., Oda, Y., Gillam, E.M.J., Guengerich, P., Inoue, K., 2001, Metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbon and other carcinogen by cytochromes P450 1A1 and P450 1B1 allelic variants and other human cytochromes P450 in salmonella typhimurium NM2009, *Drug Metabolism and Disposition*, 29 (9), 1176-1181
- Singletary K, MacDonald C, Iovinelli M, Fisher C, Wallig M. 1998. Effect of the beta-diketones diferuloylmethane (curcumin) and dibenzoylmethane on rat mammary DNA adducts and tumors induced by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene, *Carcinogenesis*, 19(6), 1039-1043.
- Singletary KW, Stansbury MJ, Giusti M, Van Breemen RB, Wallig M, Rimando A, 2003. Inhibition of rat mammary tumorigenesis by concord grape juice constituents, *J Agric Food Chem*; 3;51(25), 7280-7286.
- Spink, D.C., Spink, B.C., Cao, J.Q., Pasquele, J.A., Pentecost, B.T., Fasco, M.J., Li, Y., Sutter, T.R., 1998. Differential expression of CYP1A1 and CYP1B1 in human breast epithelial cells and breast tumor cells, *Carcinogenesis*, 19(2), 291-298
- Surh, Y., 1999, Molecular Mechanism of Chemopreventive Effect of Selected Dietary and Medicinal Phenolic Substances, *Mut Res*, 428, 305-327
- Surh, Y., 2002, Anti-tumor promoting potential of selected of spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities : a short review, *Food and Chem. Tox.* 40 ,1091-1097
- Surh, Y., 2003. Cancer Chemoprevention With Dietary Phytochemicals. *Nature Revs.* 3. ; 768-80
- Syamsuhidayat, S.S., dan Hutapea J.R., 1997, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Tanaka, A. 1994. Primary culture of HUVEC. *A handout*.
- Tasminatun, S., 2005, Efek antikarsinogenesis ekstrak etanolik daun *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. setelah inisiasi pada kanker payudara dan cerviks tikus terinduksi DMBA, *Tesis*, Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
- Tasminatun, S., dan Makiyah, SNN, 2005, Efek ekstrak etanolik biji *Nigella sativa* pada mencit terinfeksi *Stafilococcus aureus*, *Laporan Penelitian*, Fakultas Kedokteran UMY, Yogyakarta.
- Tjindarbumi, D., dan Mangunkusumo, R., 2002, Cancer in Indonesia, Present and Future, *Jpn J Clin Oncol* ; 32 (Supplement 1) ,17-21
- Tsai, E., Wang, S., Lee, J., and Hung, M., 2001, Act Activation by Estrogen in Estrogen Receptor-negative Breast Cancer Cells, *Cancer Res.*, 61, 8390-8392

- Tullo, A., and E. Sbisà. 2002. Molecular characterization of p53 mutations in primary and secondary liver tumors. *Diagnostic and Therapeutic perspectives. Molecular Biotechnology*, 21, 265-278.
- Underwood, 2004. *General and systematic pathology*, fourth edition, Churchill livingstone, China
- Van der veen, R.C., 2001. Nitric oxide and T helper cell immunity, *International immunopharmacology*, 1, 1491-500
- Van Leeuwen, E.B.M, Molema, G., De Jong, K.P., Van Luyn, M.J.A., Dijk, F., Sloof, M.J.H., Ruiters, M.H.J., Van De Meer, J. 2000. One-step methode for endothelial cell isolation from large human blood vessels using fibrin glue. *Laboratory Investigation* 80(6): 987-9.
- Velde CJH, 1999, Tumor Cerviks *dalam* Velde CJH, Bosman FT, Wagener DJT, Onkologi, Edisi 5, Panitia Kanker RSUP Dr Sardjito Yogyakarta, 467-92
- Wagner, 1984, *Natural Products: their chemistry and biological significance*, Longman, England
- Weber, K.C., Honorio, K.M., Bruni, A.T., Silva, B.F., 2006, The Use Classification Methods for Modeling the Antioxidant Activity of Flavonoid Compounds, *J. Mol. Model*, 12, 915-920
- Wu, S.Q., Aird, W.C. 2005. Thrombin, TNF-alpha, and LPS exert overlapping but nonidentical effects on gene expression in endothelial cells and vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289(2):H873-885.
- Zardi, E.M., Zardi, D.M., Cacciapaglia, F., Dobrina, A., Amoroso, A., Picardi, A., Afeltra, A. 2005. Endothelial dysfunction and activation as an expression of disease: role of prostacyclin analogs. *International Immunopharmacology* 5:437-459.

LAMPIRAN

Lampiran 1:

Lampiran 1:

I. Dukungan

Penelitian tentang antiaging sesuai dengan agenda penelitian di FKIK UMY dan RIP UMY. Ada dua alasan utama mengapa antiaging dari bahan tanaman menjadi focus kegiatan penelitian di UMY, yaitu:

(1). Mendukung pencapaian visi FKIK yaitu meluluskan kedokteran keluarga berkepribadian luhur dan menjunjung tinggi semangat pelayanan. Konsentrasi program pendidikan kedokteran Keluarga di FKIK perlu didukung dengan pengetahuan terbaru dan aktual hasil-hasil penelitian dengan menggunakan objek atau materi yang ada di lapangan. Dengan semangatnya *back to nature* dengan semangat menggunakan obat herbal perlu didukung dengan adanya pengetahuan atau informasi yang memadai dan SDM yang handal agar tujuan menjadikan masyarakat lebih sehat dapat tercapai. Dengan diilhami oleh visi Fakultas maka semua komponen di FKIK UMY berusaha mewujudkan visi tersebut dan menggunakan semua kesempatan yang ada. Skim penelitian di Universitas juga sebagian diarahkan untuk pencapaian tujuan mulia ini.

(2). Mendukung program pemerintah dalam mewujudkan 15 Fitofarmaka tanaman obat asli Indonesia. Sebagai Negara terkaya kedua dalam hal tanaman obat, Indonesia perlu bekerja keras menjadikan SDA sebagai produk unggulan sehingga dapat meningkatkan kesejahteraan dan kesehatan masyarakat Indonesia.

Penelitian ini merupakan jalan panjang yang sudah dirintis sejak 2005/2006 untuk mewujudkan paten herbal terstandar dari biji jinten hitam sebagai agen imunomodulator yang kelak akan dilanjutkan sebagai sediaan fitofarmaka sebagai simbol pencapaian salah satu visi Fakultas dan menyumbang tujuan tersedianya 15 Fitofarmaka obat herbal Indonesia..

III. Sarana

B. Laboratorium

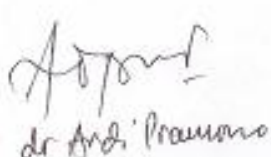
No.	Nama Laboratorium	Kegiatan	Keterangan
1.	Laboratorium biologi molekuler dan Biokimia FK UMY	Pemeriksaan biomolekuler assay guided fractionation. Pemeriksaan flowcytometer.	Kondisi baik
2.	Laboratorium Farmakologi dan Fitokimia UAD	Ekstraksi dan fraksinasi MBJH dan uji ketoksikan akut	Kondisi baik
3.	Laboratorium Patologi FK UMY	Pembuatan sediaan histopatologi dan pembacaan hasil	Kondisi baik
4	UPHP UGM	Uji praklinik efektivitas imunomodulator dan hematoprotektor sediaan	Kondisi baik

C. Peralatan

No.	Nama Peralatan	Keguanaan	Keterangan
1.	Flowcytometer	Pemeriksaan ekspresi Nrf2	Berjalan baik
2.	Laminat air flow	Pemeriksaan SOD dan kultur limfosit untuk biomolekuler assay	Berjalan baik
3.	Elisa reader	Pembacaan kadar NO serum	Berjalan baik
4.	Densitometer/KLT	Standarisasi kadar timokuinon	Berjalan baik

Lampiran 2. Biodata Peneliti

KETUA TIM PENGUSUL

		Kedokteran UMY
		FKIK-UMY Jl. Lingkar Selatan, Kranggan, Dandel • Yogyakarta, 55183 [Postal Code] Phone: [Your Phone] • Fax: [Your Fax] • E-Mail: andipramono@gmail.com
Education:		
S1/profesi dokter FKUGM lulus tahun 1993		
S2 Biomedik UGM lulus tahun 2002		
PPDS1/spesialis Anestesi RS Sarjito/UGM lulus tahun 2008		
Experience		
• Kepala Puskesmas Berbah Sleman		1998-2000
• Dosen Biokimia FK-UMY		2000-sekarang
• Dosen Anestesi FKIK-UMY		2008-sekarang
Publications/Presentations		
• Anestesi umum dan Regional pada ibu sesar dengan PEB		2008
• Efektifitas ketorolac dan tramadol pada pasca operasi seksio sesaria		2009
• Lama rawat inap pasien dengan tramadol dan ketorolac		2009
• Efek ekstrak putri malu pada profil lipid		2010
Research Experience		
• Anestesi umum dan Regional pada ibu sesar dengan PEB		2008
• Efektifitas ketorolac dan tramadol pada pasca operasi seksio sesaria		2009
• Lama rawat inap pasien dengan tramadol dan ketorolac		2009
• Efek ekstrak putri malu pada profil lipid		2010
• Hubungan Polimorfisme GEN TGF- β 1, Kadar TGF- β 1 dan Kadar Nikotin dengan Kejadian Gagal Ginjal Kronik Terminal (GGKT) di Yogyakarta		2013
		

Anggauta (1)**Riwayat Hidup dan Pekerjaan**

1. Nama : dr. Titiek Hidayati
 2. Pekerjaan : Dosen Fakultas Kedokteran UMY
 3. NIK/NBM : 173048/749125
 4. Jenis kelamin : Perempuan
 5. Tempat dan tanggal lahir : Yogyakarta, 8 September 1968
 6. Alamat Rumah : Jl. Kapt. P. Tendean 59 Yk 55252
 7. Pangkat/Golongan : III a
 8. Jabatan : Asisten ahli
 9. Alamat kantor : Fakultas Kedokteran UMY, Jl. Ring road barat, Tamantirto Kasihan Bantul DIY.
 10. Email /No Hp : hidayatifikumy@yahoo.co.id/08157904942
 11. Pendidikan :

a. Formal

Jenjang Pendidikan	Tempat	Tahun selesai	Gelar	Bidang studi
S-1	Fak. Kedokteran UGM	1990	S.Ked	Ilmu Kedokteran
Profesi	Fak. Kedokteran UGM	1994	Dokter	Dokter
S-2	Fak. Pasca sarjana UGM	2006	M.Kes.	Field Epidemiologi
S3	Fak. Pasca Sarjana UGM	2014	Dr	Ilmu Kedokteran dan Kesehatan Masyarakat

b. Tambahan

Pendidikan Tambahan	D. Tempat	Tahun	E. Gelar	Bidang studi
Biomolekuler	Kedokteran UGM	2008	-	Ilmu Kedokteran
Akupunktur medik	Kedokteran UNS	2008	Serifikat	Dokter
Short course teknik konseling berhenti merokok	Fak. Pasca sarjana UGM	2009	serifikat	Field Epidemiologi
Revitalizing primary health care-Road map	WHO, Bangkok	2009	-	epidemiologi
M POWER COURSE Tobacco Union	Union, Bangkok	2010	Serivikat	epidemiologi
GELS Course	RSU Dr Sardjito	2007	sertivikat	Emergensi
ACLS course	RSU Dr Sardjito	2009	serivikat	Emergensi

12. Pengalaman Penelitian

Judul penelitian	Sumber dana dan posisi	Periode Kerja
PENGARUH EKSTRAK ETANOL <i>P.niruri</i> TERHADAP BERAT LIMPA & JUMLAH LIMFOSIT LIMPA PADA MENCIT SWISS JANTAN YANG DIINFEKSI <i>P.berghei</i>	LP3 UMY; peneliti utama	2003-2004
Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Jinten Hitam (Habba Sauda), <i>Nigella Sativa</i> L., sebagai Penghambat Penetasan Telur dan Perkembangan Larvasida <i>Aedes aegypti</i>	Pusat Studi Kedokteran keluarga FK UMY; peneliti utama	2003-2004
PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK AIR HABBA SAUDA (Jinten hitam atau <i>Nigella Sativa</i>) TERHADAP IMUNITAS SELULER PADA MENCIT GALUR SWISS JANTAN YANG DIINFEKSI <i>Plasmodium berghei</i>	Penelitian Kompetisi Dosen LP3 UMY; peneliti utama	2004 – 2005
Hubungan hipertensi, merokok dan minuman suplemen dengan kejadian gagal ginjal kronik yang melakukan hemodialisis di RSU PKU Muhammadiyah Yogyakarta	Mandiri untuk tesis S2; peneliti utama	2004 – 2005
Pengaruh Minyak Jinten hitam (Habba Sauda), <i>Nigella Sativa</i> L., terhadap aktivitas Fagositosis makrofag mencit Swiss yang diinfeksi <i>P. berghei</i> secara in vitro.	Pusat Studi Kedokteran Islam FK UMY; peneliti utama	2004-2005
SURVEY TOKSOPLASMOSIS PADA TIKUS DI WIROBRAJAN KOTA YOGAYAKARTA DENGAN UJI SEROLOGI AGLUTINASI LANGSUNG (TOXO-SCREEN DA) DAN ISOLASI SISTA TOXOPLASMA GONDII DARI OTAK	Penelitian Kompetisi PHK A2 Dirjen Dikti; peneliti utama	2004 – 2005
KAJIAN AKTIVITAS IMUNOMODULATOR AGEN KEMOPREFENTIF ISOLAT AKTIF EKSTRAK <i>NIGELLA SATIVA</i> (<i>N.sativa</i>) PADA KANKER PAYUDARA AKIBAT PAPANAN DMBA PADA TIKUS PUTIH (<i>Sprague dawley</i>)	Insentif Penelitian Dasar Kementerian RISTEK; peneliti anggauta	2007-2008
KAJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN IMUNOMODULATOR AGEN KEMOPREVENTIF SEDIAAN TERSTANDARD ISOLAT KUASINOID EKSTRAK AKAR PASAK BUMI (<i>Eurycoma longifolia</i> Jack) PADA KANKER PAYUDARA TIKUS PUTIH YANG DIINDUKSI DMBA	Insentif Penelitian Dasar Kementerian Ristek; peneliti anggauta	2009-2010
Persepsi, sikap dan perilaku siswa Muallimin Muhammadiyah Yogyakarta Terhadap Skabies	LPP UMY; Ketua	2004
Penyidikan KLB Keracunan makanan di Kota Yogyakarta Tahun 2006	Mandiri; Peneliti	2006
Faktor-faktor yang melatar belakangi kejadian HIV – AIDS pada Penghuni LAPAS Kota Yogyakarta	Mandiri; Peneliti	2005
Penggunaan Obat-obat psikotropika pada Masyarakat Korban Gempa Bumi Yogyakarta 2006	Mandiri; Peneliti	2006
Faktor risiko kejadian PTSD Pada Korban gempa bumi Bantul 2006	Mandiri; Peneliti	2006
The evaluation of management program of immunization: safe injection in Kulon Progo area		2007
The relation of Phamily Apgar score, quality of care, comorbidity and smoker habitual to quality of life ESRD patients in PKU Muhammadiyah Yogyakarta Hospital	Institution Muhammadiyah University of Yogyakarta Grants	2009

Influence of tobacco Curriculum content to decrease prevalence of smoking habit in medical students: case in Faculty of medicine Muhamadiyah University of Yogyakarta	Quit tobacco Indonesia	2009
HUBUNGAN KARAKTERISTIK SUAMI ISTRI TERHADAP KEBIASAAN MEROKOK DI DUSUN KWEDEN DESA TIRENGGO KECAMATAN BANTUL KABUPATEN BANTUL YOGYAKARTA	Penelitian Kemtraan Dosen-Mahasiswa, LPPM, UMY	2010
UJI EFEK ANTIIMUNOTOKSIK MINYAK BIJI JINTEN HITAM (<i>NIGELLA SATIVA</i>) TERHADAP SENYAWA POLISIKLIK AROMATIK HIDROKARBON-DMBA (<i>DIMETHYLBENZANTRACENE</i>) PADA TIKUS SD	Program PHK PKPD, DIKTI, HAPEQ	2011
Pengembangan Gen IGF-1 dan IGFBP-3 sebagai biomarker kualitas hidup penderita gagal ginjal terminal di Yogyakarta	,Hibah Bersaing, Dikti	2011
PENGARUH UPAYA PROMOSI KESEHATAN DENGAN METODA PENYULUHAN DAN AUDIOVISUAL TERHADAP SIKAP DAN PERILAKU KELUARGA MEWUJUDKAN RUMAH BEBAS ASAP ROKOK DI DUSUN KUEDEN TIRENGGO BANTUL	Penelitian Strategis, LPPM, UMY	2012
HUBUNGAN POLIMORFISME GEN TGF- β 1, KADAR TGF- β 1 DAN KADAR NIKOTIN DENGAN KEJADIAN GAGAL GINJAL KRONIK TERMINAL (GGKT) DI YOGYAKARTA	Program PHK PKPD, DIKTI, HAPEQ	2013
Pengembangan kultur sel endotel manusia dari vena umbilikalis	Dana Penelitian Fakultas, FKIK, UMY	2014

13. Daftar Publikasi (5 tahun terakhir)

JUDUL PUBLIKASI	TAHUN
Hidayati, T. Respon imun seluler pada infeksi malaria, <i>Mutiara medika</i> , Vol.2, No.3, Februari 2005: 10-21	2005
Hidayati, T., Akrom, Gambaran berat limpa, jumlah limfosit dan tingkat parasitemia pada mencit Swiss jantan yang diinfeksi <i>P.berghei</i> dengan pemberian ekstrak etanol Herba meniran, <i>Prosiding Seminar nasional farmakoterapi "Evidence Based Medicine"</i> , Program Profesi Apoteker UAD, Yogyakarta, 14 Januari 2006.	2006
Hidayati, T., Akrom. Pengaruh ekstrak etanol jinten hitam terhadap aktivitas fagositosis makrofag mencit Swiss yang diinfeksi <i>P.berghei</i> secara <i>in vitro</i> , <i>Prosiding seminar nasional farmakoterapi</i> , Program Profesi Apoteker Fakultas Farmasi UAD, Yogyakarta: 14 Januari 2006	2006
Hidayati, T., Edi, A., Akrom, Pengaruh ekstrak etanol biji jinten hitam terhadap mortalitas	2006

larva aedes aegypti, Proseding Seminar nasional farmakoterapi "Evidence Based Medicine", Program Profesi Apoteker UAD, Yogyakarta, 14 Januari 2006.	
Hidayati, T., Akrom, Persepsi dan perilaku murid mu'alimin muhamadiyah terhadap pengobatan scabies, Proseding Seminar nasional farmakoterapi "Evidence Based Medicine", Program Profesi Apoteker UAD, Yogyakarta, 14 Januari 2006.	2006
Nurani, L.H., Akrom, Hidayati, T., 2007. The cytotoxicity effect of the ether extract of Nigella sativa seed on T47D cell line, The 4th International Eijkman Conference, Bali, 15-18 November 2007	2007
Hidayati, T. and Akrom, 2009. THE EFFECT OF Nigella Sativa seed EXTRACT ON THE REACTIVE OXYGEN INTERMEDIATES SECRETION (ROI) AND PHAGOCYTOSIS ACTIVITY BY MACROPHAGES IN DMBA-INDUCED FEMALE SD RAT, Seminar internasional, Yogyakarta, 17-18 Januari 2009	2009
Hidayati, T., Akrom. Persepsi dan perilaku siswa Mu'alimin Muhammadiyah Yogyakarta terhadap scabies	2006
Hidayati, T., Akrom. Gambaran pemanfaatan tanaman antimalaria oleh masyarakat daerah endemic malaria di Desa Kalirejo Kecamatan Kokap Kulon progo	2006
Akrom, Hidayati, T., 2006. Kejadian wabah diare di Dusun Sandem Desa Sidorejo Kecamatan Lendah KP tahun 2005: Gambaran kejadian dan Pola penanganannya	2006
Hidayati, T., Akrom, 2007. Influence of gender, marital status and personality type to occurrence of PTSD at earthquake victim in Bantul DIJ 2006	2007
Hidayati, T., Noor, Z., In press. Survey toksoplasmosis pada tikus di Kecamatan Wirobrajan dan sekitarnya secara serologis dengan metode elisa dan isolasi sista toxoplasma gondii dari otak.	In press
Hidayati, T. et al., 2012. Persepsi dan perilaku merokok pada siswa, guru, dan karyawan madrasah Mu'alimin Muhammadiyah di Yogyakarta dan Faktor - factor yang berpengaruh, Mutiara medika, vol 12, no 1, Januari 2012:31-40	2012
Titiek Hidayati et al., 2014. The IGF-1 Level of ESRD patients and its risk Factor, Indonesia Journal of Urology, vol 21, no 1, January 2014: 38 - 44	2014
Hidayati T., Habib, I., Akrom, 2014. ANTIIMMUNOTOXIC DESCRIPTION OF BLACK CUMIN SEED OIL (<i>Nigella Sativa Oil</i>) IN DMBA (DIMETHYLBENZANTRACENE)-INDUCED MICE, ICBBE, Taiwan, 2014	2014
Hidayati, T., Atthobari, J., Sadewa, A.H., Marstyawan, HNES, 2014. The <i>Insulin Like Growth Factor-1</i> (IGF-1) And <i>Insulin binding Protein-3</i> (IGFBP-3) Level As Predictor Biomarker of Chronic Renal Failure (CRF) Patients in Indonesia, ICBBE, Taiwan, 2014	2014

14. Pengalaman kerja dan berorganisasi

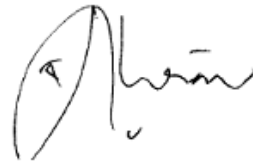
a. Pengalaman kerja

Pekerjaan	Posisi	Periode Kerja
Dokter umum UGD RSU PKU Muhammadiyah Yogyakarta	Dokter jaga	1994-2008
Dokter umum Puskesmas Banguntapan II Banul Yogyakarta	Dokter	1994 - 1997
Dosen Fakultas Kedokteran UMY	PJ Blok Kedokteran Komunitas	2007 - 2010

b. Pengalaman berorganisasi

No	Nama organisasi	position	periode
1	IAKMI (ikatan ahli kesehatan masyarakat Indonesia)	Anggauta bidang Litbang	2009 - 2013
2	IDI	Angauta (member)	2009 - 2013
3	Quit tabacco Indonesia	Member	2007 - 2010

Yogyakarta, 22 April 2014
Yang menyatakan



dr. Titiek Hidayati, M.Kes
NIK. 173048