

MONOGRAF

**SUPLEMENTASI JINTAN HITAM
(*NIGELLA SATIVA*) PADA PENDERITA
COVID-19**

Dr. Ika Kustiyah Oktaviyanti, dr., M.Kes, Sp. PA

Dr. Eko Suhartono, Drs., M.Si

dr. Ira Nurrasyidah, Sp. P(K), FAPSR, FISR

dr. Noor Muthmainah, M.Sc

dr. Holly Diany



MONOGRAF

**SUPLEMENTASI JINTAN HITAM (*NIGELLA SATIVA*)
PADA PENDERITA COVID-19**

Hak Cipta © dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak buku ini sebagian atau seluruhnya, dalam bentuk dan dengan cara apapun juga, baik secara mekanis maupun secara elektronik, termasuk fotocopy, rekaman, dan lainlain tanpa izin tertulis dari penerbit.

Tim Penyusun:

Dr. Ika Kustiyah Oktaviyanti, dr., M.Kes, Sp. PA
Dr. Eko Suhartono, Drs., M.Si
dr. Ira Nurrsyidah, Sp. P(K), FAPSR, FISR
dr. Noor Muthmainah, M.Sc
dr. Holly Diany

Editor :

Prof. Sunardi, S.Si., M.Sc., Ph.D

Layout :

Mediana Indah Pertiwi
Hapsari Lintang Sekartaji

Desain Sampul:

M. Ricky Perdana, S.Kom

X, 94 halaman, 15,5 x 23 cm
Cetakan pertama, Januari 2023

ISBN : 978-623-5774-87-9

Diterbitkan oleh :

CV Banyubening Cipta Sejahtera

IKAPI 006/KSL/2021

Jl. Sapta Marga Blok E No. 38 RT. 007/003

Guntung Payung, Landasan Ulin, Kota Banjarbaru 70721

www.penerbitbcs.com ; (+62887436645495)

KATA PENGANTAR

Puji syukur selalu kita panjatkan kepada Allah, Tuhan Yang Maha Kuasa sehingga monograf yang berjudul **“SUPLEMENTASI JINTAN HITAM (*NIGELLA SATIVA*) PADA PENDERITA COVID-19”** dapat diselesaikan. Pada buku ini memberikan informasi tentang pemanfaatan *Nigella sativa* sebagai suplementasi pada penderita Covid-19 khususnya pada penderita COVID-19 derajat sedang. Buku ini merupakan bagian dari pemenuhan kewajiban Program Dosen Wajib Meneliti tahun 2022 yang didanai oleh LPPM ULM.

COVID-19 pertama kali terjadi di Indonesia pada tanggal 2 Maret 2020, dengan jumlah kasus yang semakin lama semakin bertambah. Bulan Februari 2022, Indonesia mencatat lebih dari 5 juta penduduknya terkonfirmasi COVID-19 dengan angka mortalitas yang tinggi yaitu lebih dari 147.000 kasus. Hingga saat ini, belum ditemukan obat untuk mengatasi Covid tersebut, sehingga diperlukan eksplorasi bahan alam yang dapat digunakan untuk suplementasi. Salah satunya adalah *Nigella Sativa* atau jintan hitam, yang menjadi topik utama dalam pembahasan monograf ini.

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Rektor ULM yang telah memberikan pendanaan melalui PDWM 2022, serta semua pihan yang tak dapat disebutkan satu persatu. Dalam penulisan ini, masih banyak kekurangan, yang dapat menjadi ide dan gagasa riset-riset selanjutnya.

Banjarmasin, Januari 2023

Tim Penulis

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN *NIGELLA SATIVA* DALAM MENURUNKAN KERUSAKAN OKSIDATIF PADA PASIEN COVID-19 : KAJIAN KLINIS DAN *IN*

Latar belakang: Mortalitas dan morbiditas pada COVID-19 yang tinggi berhubungan dengan adanya kerusakan oksidatif. *Reactive oxygen species* yang terbentuk yang akan mengekspresi antioksidan seperti *Peroksidase* (Px), *Catalase* (CAT), dan *Superoxide dismutase* (SOD), peroksidasi lipid dan *Malondialdehyde* (MDA), yang akan semakin meningkat sehingga kerusakan oksidatif juga meningkat. *Nigella sativa* (NS) terbukti memiliki kandungan *Thymoquinone* (TQ), *Palmitic acid*, *Methyl linoleate*, *Linoleic acid* dan lain-lain yang memiliki efek sebagai antioksidan sehingga bisa menurunkan kerusakan oksidatif.

Metode: Penelitian ini adalah penelitian eksperimental, *clinical trial* dengan *single blind* pada pasien COVID-19 derajat sedang untuk mengetahui pengaruh pemberian NS dengan dosis 1x600 mg dan 2x600 mg terhadap aktivitas enzim *Superoxide dismutase*, *Catalase*, *Malondialdehyde*, *Peroksida* dan AOPP serta gejala klinis, kemudian dievaluasi menggunakan analisis *in silico* dengan metode *molecular docking*.

Hasil: Pemberian NS pada kelompok dengan dosis 1x600 mg, 2x600 mg dan kontrol terdapat perbedaan yang bermakna terhadap nilai MDA dan Peroksida. Pemberian NS dengan dosis 2x600 mg lebih baik dalam menurunkan MDA dan Peroksida $p < 0.05$ masing-masing ($p = 0.002$ dan 0.001). Terdapat perbedaan yang tidak signifikan pada rerata harian gejala klinis pasien COVID-19 derajat sedang di semua kelompok. Gejala batuk, sesak nafas, dan frekuensi nafas mengalami perbaikan dalam durasi rerata harian pada kelompok pemberian senyawa NS yang dievaluasi menggunakan pendekatan

-iv-

in silico dan didapatkan bahwa semua ligan NS mempunyai afinitas yang kuat terhadap reseptor KEAP1 dan berpotensi dalam meningkatkan enzim *Superoxide dismutase*, meningkatkan enzim *Catalase*, dan menurunkan kadar *Malondialdehyde* dan Peroksida pada pasien COVID-19, terutama pada *Linoleic acid* yang tidak bersifat hepatotoksik, karsinogenik, imunotoksik, mutagenik atau sitotoksik sehingga NS aman untuk dikonsumsi sebagai terapi tambahan pada pasien COVID-19 derajat sedang.

Kesimpulan: Pemberian *Nigella Sativa* pada pasien COVID-19 memberikan perbedaan bermakna terhadap nilai MDA dan Peroksida. *Linoleic acid* menunjukkan interaksi paling kuat dengan sisi aktif dari KEAP1 dan NS aman untuk dikonsumsi sebagai terapi tambahan pada pasien COVID-19 derajat sedang.

Kata Kunci: *Nigella sativa*, COVID-19, Thymoquinone, Superoxide Dismutase, Catalase, Malondialdehyde, Peroksida, AOPP

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	iii
ABSTRAK.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
BAB I : PENDAHULUAN	1
BAB II : COVID-19	7
2.1 Pengantar	7
2.2 Etiologi.....	8
2.3 Manifestasi Klinis	14
2.4 Tatalaksana Farmakologis.....	16
BAB III : POTENSI <i>NIGELLA SATIVA</i> SEBAGAI ANTIOKSIDAN	21
3.1 Antioksidan.....	21
3.1.1 Superoxide dismutase (SOD)	22
3.1.2 Catalase (CAT)	24
3.1.3 Malondialdehyde (MDA).....	25
3.2 <i>Nigella sativa</i>	26
3.3 Aktivitas farmakologis <i>Nigella sativa</i> sebagai antioksidan	28
3.4 Potensi Senyawa Bioaktif <i>Nigella sativa</i> sebagai Antioksidan..	30
BAB IV: METODE PENELITIAN	44
4.1 Jenis Penelitian	45
4.2 Populasi dan Sampel.....	45
4.2.1 Populasi Penelitian.....	45
4.2.2 Sampel Penelitian	45
4.2.3 Teknik Pengambilan Sampel	46

4.3	Variabel Penelitian dan Definisi operasional	47
4.3.1	Variabel Penelitian	47
4.3.2	Definisi Operasional	47
4.4	Molecular Docking pada <i>Nigella sativa</i>	49
4.5	Alur Penelitian	51
4.6	Prosedur Pengolahan Sampel dan Pengumpulan Data.....	51
4.7	Analisis Data	53
4.8	Metode In Silico.....	53
	BAB V : EFEK NIGELLA SATIVA SEBAGAI ANTIOKSI DAN ASPEK KLINIS	63
5.1	Alur Penelitian	63
5.2	Karakteristik subjek penelitian	66
5.3	Pengaruh Pemberian <i>Nigella sativa</i> terhadap Stres Oksidatif	70
5.4	Pengaruh <i>Nigella Sativa</i> terhadap Gejala Klinis COVID-19 derajat sedang.....	72
5.5	Potensi senyawa <i>Nigella sativa</i> secara In silico	77
	BAB VI : KESIMPULAN DAN SARAN	93

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Aktivitas antioksidan peptida dari NS	35
Tabel 3.2 Hasil docking molekul antara peptida dengan KEAP1...	36
Tabel 3. 3 Uji toksisitas peptide NS	37
Tabel 5. 1 Karakteristik sampel penelitian pasien COVID-19 derajat sedang	68
Tabel 5. 2 Data analisis pengaruh <i>Nigella Sativa</i> terhadap gejala klinis COVID-19 derajat sedang (dalam satuan hari).....	72
Tabel 5. 3 Hasil <i>Autodocking</i> antara senyawa <i>Nigella sativa</i> dan KEAP1	78
Tabel 5. 4 Visualisasi <i>Thymoquinone</i> , <i>Beta Pinene</i> , <i>Linoleic acid</i> , & <i>Thymol</i> pada KEAP-1	79
Tabel 5. 5 Visualisasi <i>Docking</i> 3D dan 2D beserta jumlah ikatan hidrogen yang terlibat.	80
Tabel 5. 6 <i>Lipinski's Rule of Five</i> , afinitas pengikatan, dan residu asam amino aktif	82
Tabel 5. 7 Hasil prediksi ADMET pada <i>Thymoquinone</i> , <i>Beta pinene</i> , <i>Linoleic Acid</i> dan <i>Thymol</i>	82
Tabel 5. 8 Toksisitas pada <i>Thymoquinone</i> , <i>Beta pinene</i> , <i>Linoleic Acid</i> dan <i>Thymol</i>	85

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur virus SARS CoV-2 ⁴	8
Gambar 2. 2 Virus SARS CoV-2 menginfeksi sel alveoli melalui reseptor ACE2.	9
Gambar 2. 3 Proses pembentukan ROS pada infeksi virus SARS CoV-2	10
Gambar 2. 4 Klasifikasi stadium penyakit COVID-19 dan target terapi potensial.	13
Gambar 2. 5 Proses inflamasi akibat covid-19	15
Gambar 2. 6 Keterlibatan NAC pada sistem glutation.....	18
Gambar 3. 1 Cara kerja antioksidan di dalam tubuh	22
Gambar 3. 2 Struktur Cu-Zn SOD (Kode PDB 1HL5).....	23
Gambar 3. 3 Struktur Mn-SOD (Kode PDB 2ADQ).....	23
Gambar 3. 4 Struktur Human Catalase (Kode PDB 1QQW)	25
Gambar 3. 5 Pembentukan MDA pada inflamasi	26
Gambar 3. 6 <i>Nigella sativa</i>	27
Gambar 3. 7 Aktivitas antioksidan pada <i>Nigella sativa</i>	28
Gambar 3. 8 Aktivitas farmakologis TQ pada infeksi SARS-CoV-2, Nrf2 dan GRP78.....	29
Gambar 3. 9 Efek perlindungan multitarget <i>Thymoquinone</i> terhadap patogenesis COVID-19	33
Gambar 3. 10 Sekuens protein NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 5, chloroplastic dari NS.....	34
Gambar 3. 11 Interaksi protein KEAP1 dengan peptide (a) Ile-Arg (b) Phe-Cys (c) Lys-Pro (d) Gly-Thr-Trp (e) Tyr-Tyr-Glu dan (f) Cys-Tyr-Tyr	37
Gambar 4.1 Alur Penelitian Pengaruh Pemberian <i>Nigella sativa</i> dalam Menurunkan Kerusakan Oksidatif pada Pasien COVID-19: Kajian Klinis dan <i>In Silico</i>	51

Gambar 5. 1 Alur penelitian 64

Gambar 5. 2 Kurva probabilitas *Kaplan-Meier* untuk waktu yang dibutuhkan (dalam hari) terhadap pengurangan gejala pada COVID-19 derajat sedang. 74

Gambar 5. 3 Struktur **a)** *Thymoquinone*, **b)** *Beta-pinene*, **c)** *Linoleic acid*, dan **d)** *Thymol* 77

BAB I : PENDAHULUAN

Human Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) dilaporkan pertama kali di China pada tanggal 31 Desember 2019, yang kemudian menyebar sangat cepat sebagai pandemi di seluruh dunia. Virus SARS-CoV 2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) merupakan varian baru penyebab COVID-19 dan dinyatakan sebagai pandemi global oleh *World Health Organization* (WHO) pada bulan Februari 2020. COVID-19 pertama kali terjadi di Indonesia pada tanggal 2 Maret 2020, dengan jumlah kasus yang semakin lama semakin bertambah. Bulan Februari 2022, Indonesia mencatat lebih dari 5 juta penduduknya terkonfirmasi COVID-19 dengan angka mortalitas yang tinggi yaitu lebih dari 147.000 kasus.¹⁻³

Angka mortalitas dan morbiditas pada COVID-19 yang tinggi berhubungan dengan adanya kerusakan oksidatif. Kerusakan ini disebabkan oleh penghambatan aktivitas *Angiotensin Converting Enzyme-2* (ACE2). Salahshoori *et al.* menjelaskan bahwa virus SARS-Cov-2 yang masuk ke dalam sel alveoli melalui reseptor ACE2 dan *Transmembrane Protease Serine 2* (TMPRSS2) akan mengarah pada pengenalan patogen oleh *pattern recognition receptor* (PRR), keterlibatan sel imun, dan peningkatan sitokin proinflamasi. Proses ini diikuti oleh regulasi sistem renin angiotensin (RAS), yang dalam hal ini keduanya berperan dalam pembentukan radikal bebas/*reactive oxygen species* (ROS).^{4,5} Stres oksidatif merupakan suatu kondisi ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas yang mengakibatkan kerusakan biomolekul yang ireversibel. *Reactive oxygen species* yang terbentuk dapat berikatan dengan faktor Nrf2 (*Nuclear Factor Erythroid Related Factor 2*), yang selanjutnya akan mengekskresi antioksidan seperti *Peroksidase*

(Px), *Catalase* (CAT), dan *Superoxide dismutase* (SOD). Pada kondisi ini pula, peroksidasi lipid, seperti *Malondialdehyde* (MDA) akan meningkat sehingga kerusakan semakin meluas.^{4,5}

Kerusakan oksidatif pada COVID-19 mulai terjadi serta dapat dievaluasi pada kasus derajat sedang. Di sisi lain, kerusakan oksidatif ini masih dapat dicegah dengan meningkatkan kapasitas antioksidan tubuh. Beberapa antioksidan yang dipakai dalam terapi standar COVID-19 saat ini antara lain *N-asetilsistein* (NAC), Vitamin C, dan Vitamin D. Namun hingga saat ini belum ada terapi definitif untuk COVID-19, terutama tatalaksana terkait kerusakan oksidatif.⁶⁻⁹

Jintan hitam atau *Nigella sativa* merupakan salah satu tanaman yang tumbuh subur di wilayah tropis, termasuk Indonesia. *Nigella sativa* ini terbukti memiliki kandungan *Thymoquinone* (TQ), *Palmitic acid*, *Methyl linoleate*, *Terpineol*, γ -*Terpinene*, *Linoleic acid*, *Nigellimine*, *Nigellidine*, α -*hederin* dan α - β *pinene* yang memiliki efek sebagai antioksidan. Studi Hosseinzadeh *et al.* menyebutkan TQ memiliki efek antioksidan yang serupa dengan enzim SOD, CAT, dan *Glutathion peroksidase* dalam menurunkan kerusakan oksidatif. Puspowardojo *et al.* menyebutkan kandungan TQ dari *Nigella sativa* meningkatkan aktivitas SOD dan dalam penelitian Sirait *et al.* *Thymoquinone* dapat mengurangi kadar MDA pada serum plasma tikus yang diberi paparan asap rokok. Penelitian oleh Rahman melaporkan potensi TQ dan *Nigellimine* dapat menghambat masuknya virus ke dalam pneumosit dan memblokir RdRp (*RNA-dependent RNA Polymerase*) virus COVID-19 dengan pemberian *Nigella sativa* oil dan zinc pada pasien COVID-19. Penelitian oleh Koshak *et al.* menyebutkan bahwa *Nigella Sativa* dapat menjadi terapi potensial pada pasien COVID-19 derajat ringan selama 10 hari. Serupa dengan hasil penelitian diatas, penelitian Ashraf *et al.* pada pasien COVID-19 derajat sedang dan berat menunjukkan luaran berupa perbaikan gejala klinis dengan pemberian *Nigella sativa* dan madu dibanding kelompok kontrol.⁹⁻¹⁴

In silico adalah suatu kajian penelitian dalam bidang biologi dan kimia yang berbasis komputasi dengan menggunakan teknologi komputer dan database. Pendekatan *in silico* saat ini telah menjadi metode yang efektif untuk menganalisis potensi suatu senyawa. Salah satu penerapan metode *in silico* dengan menggunakan *molecular docking* untuk melihat interaksi senyawa kimia sebagai ligan dengan reseptor protein yang saling bertaut satu dengan lainnya.

Shaikh *et al.* mengidentifikasi pasien COVID-19 dengan pemberian *Nigella sativa* dan mengikat reseptor SARS-CoV-2 dan hasil *molecular docking* menunjukkan *Dithymoquinone*, *Thymohydroquinone*, *Thymol*, serta *Thymoquinone* menghambat terjadinya keparahan COVID-19. Serupa dengan penelitian Salim *et al.* *Nigellidine* dan α -*hederin* juga dapat menghambat terjadinya keparahan COVID-19. Hasil dari dua penelitian ini mendorong penelitian secara *in vitro* dan *in vivo* serta mendorong penggunaan *Nigella sativa* sebagai terapi profilaksis. Penelitian Duru *et al.* menggunakan *molecular docking* terhadap kandungan *Nigella sativa* dengan virus SARS-Cov-2, mengindikasikan bahwa tingginya tingkat kesembuhan pasien COVID-19 yang mengkonsumsi *Nigella sativa* berhubungan erat dengan kemampuan inhibisi virus oleh *caryophyllene oxide*, α -*bergamotene*, dan β -*bisabolene*.¹⁵⁻²⁰

Penggunaan *Nigella sativa* sebagai terapi untuk menurunkan kerusakan oksidatif pada penderita COVID-19, hingga saat ini masih sedikit dan jarang dilakukan, bahkan belum pernah diteliti di Indonesia. Dari hal inilah kami tertarik untuk mengetahui bagaimana pemberian suplementasi *Nigella sativa* dalam menurunkan kerusakan oksidatif pada pasien COVID-19 ditinjau dari kajian biomedis dan *in silico* di RSUD Ulin, RSUD Dr. H. Moch. Ansari Saleh dan RSUD Sultan Suriansyah Banjarmasin.

DAFTAR PUSTAKA

1. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI), Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia (PERKI), Perhimpunan Dokter Spesialis Penyakit Dalam Indonesia (PAPDI), Perhimpunan Dokter Anestesiologi dan Terapi Intensif Indonesia (PERDATIN), Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI). *Pedoman Tatalaksana COVID-19 Edisi 4.*; 2022.
2. Pincemail J, Cavalier E, Charlier C, et al. Oxidative Stress Status in COVID-19 Patients Hospitalized in Intensive Care Unit for Severe Pneumonia. A Pilot Study. *Antioxidants*. 2021;10(2):257. doi:10.3390/antiox10020257
3. Kemenkes RI. Situasi Terkini Perkembangan (COVID-19). Kemenkes. Published 2021. https://covid19.kemkes.go.id/download/Situasi_Terkini_050520.pdf
4. Salahshoori I, Mobaraki-Asl N, Seyfaee A, et al. Overview of COVID-19 Disease: Virology, Epidemiology, Prevention Diagnosis, Treatment, and Vaccines. *Biologics*. 2021;1(1):2-40. doi:10.3390/biologics1010002
5. Fernandes IG, de Brito CA, dos Reis VMS, Sato MN, Pereira NZ. SARS-CoV-2 and Other Respiratory Viruses: What Does Oxidative Stress Have to Do with It? Carvalho V de F, ed. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:1-13. doi:10.1155/2020/8844280
6. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI), Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia (PERKI), Perhimpunan Dokter Spesialis Penyakit Dalam Indonesia (PAPDI), Perhimpunan Dokter Anestesiologi dan Terapi Intensif Indonesia (PERDATIN), Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI). *Pedoman Tatalaksana COVID-19 Edisi 3.*; 2020. <https://www.papdi.or.id/download/983-pedoman-tatalaksana-covid-19-edisi-3-desember-2020>

7. Milani GP, Macchi M, Guz-Mark A. Vitamin C in the Treatment of COVID-19. *Nutrients*. 2021;13(4):1172. doi:10.3390/nu13041172
8. De las Heras N, Martín Giménez VM, Ferder L, Manucha W, Lahera V. Implications of Oxidative Stress and Potential Role of Mitochondrial Dysfunction in COVID-19: Therapeutic Effects of Vitamin D. *Antioxidants*. 2020;9(9):897. doi:10.3390/antiox9090897
9. Hosseinzadeh H, Tavakkoli A, Mahdian V, Razavi BM. Review on Clinical Trials of Black Seed (*Nigella sativa*) and Its Active Constituent, Thymoquinone. *J Pharmacopuncture*. 2017;20(3):179-193. doi:10.3831/ KPI.2017.20.021
10. Puspowardojo IA, Ngestiningsih D, Johan A. Pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap kadar *superoxide dismutase* (SOD) plasma pada tikus *sprague dawley* yang terpapar asap rokok. Published online 2016.
11. Sirait RC, Tjahjono K, Setyawati AN. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Kadar MDA Serum Tikus *Sprague Dawley* Setelah Diberikan Paparan Asap Rokok. *Diponegoro Med J (Jurnal Kedokt Diponegoro)*; Vol 5, No 4 J Kedokt DIPONEGORO. Published online 2016. doi:10.14710/dmj.v5i4.15824
12. Rahman MT. Potential benefits of combination of *Nigella sativa* and Zn supplements to treat COVID-19. *J Herb Med*. 2020;23:100382. doi:10.1016/j.hermed.2020.100382
13. Koshak AE, Koshak EA, Mobeireek AF, et al. *Nigella sativa* supplementation to treat symptomatic mild COVID-19: A structured summary of a protocol for a randomised, controlled, clinical trial. *Trials*. 2020;21(1):703. doi:10.1186/s13063- 020-04647-x
14. Ashraf S, Ashraf S, Ashraf M, et al. Honey and *Nigella sativa* against COVID-19 in Pakistan (HNS-COVID-PK): A multi-center placebo-controlled randomized clinical trial. *medRxiv*. Published online 2020. doi:10.1101/2020.10.30.20217364

15. Perdana AT, Permana AA. *Molecular Docking* Senyawa Potensial Anticovid-19 Secara In Silico. *JIKA (Jurnal Inform.* 2021;5(2):159. doi:10.31000/jika.v5i2.4516
16. Makatita FA. Riset In Silico Dalam Pengembangan Sains Di Bidang Pendidikan, Studi Kasus: Analisis Potensi Cendana Sebagai Agen Anti-Aging. *J ABDI (Sosial, Budaya dan Sains).* 2020;2(1 SE-).
<https://journal.unhas.ac.id/index.php/kpiunhas/article/view/9086>
17. Duru CE, Duru IA, Adegboyega AE. In silico identification of compounds from *Nigella sativa* seed oil as potential inhibitors of SARS-CoV-2 targets. *Bull Natl Res Cent.* 2021;45(1):57. doi:10.1186/s42269-021-00517-x
18. Shaikh YI, Shaikh VS, Ahmed K, Nazeruddin GM, Pathan HM. The Revelation of Various Compounds Found in *Nigella sativa* L. (Black Cumin) and Their Possibility to Inhibit COVID-19 Infection Based on the Molecular Docking and Physical Properties. *Eng Sci.* Published online 2020. doi:10.30919/es8d1127
19. Salim B, Nouredine M. Identification of Compounds from *Nigella Sativa* as New Potential Inhibitors of 2019 Novel Coronasvirus (Covid-19): Molecular Docking Study. *ChemRxiv.* 2020;19(April):1-12. doi:10.20944/preprints202004.0079.v1
20. Bare Y, Maulidi A, Sari DRT, Tiring SSND. Studi in Silico Prediksi Potensi 6- Gingerol sebagai inhibitor c-Jun N-terminal kinases (JNK). *J Jejaring Mat dan Sains.* 2019;1(2):59-63. doi:10.36873/jjms.v1i2.211.

BAB II : COVID-19

2.1 Pengantar

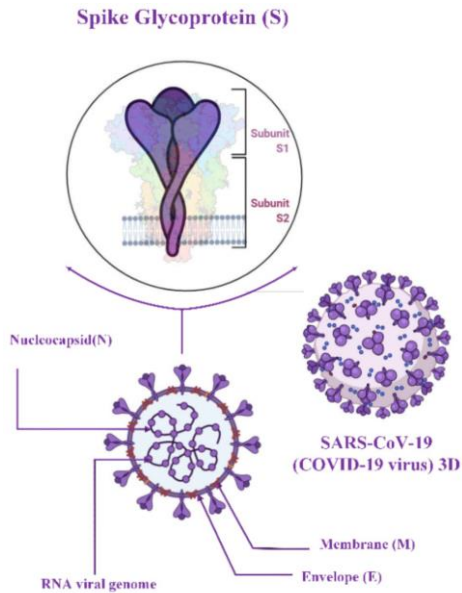
COVID-19 adalah penyakit infeksi pernapasan menular akibat virus SARS-CoV-2. Virus ini memiliki kapsul, nukleokapsid, *spike* glikoprotein, RNA rantai tunggal dan protein non struktural lainnya. Coronavirus telah dikenal selama lebih dari 50 tahun dengan penularan yang umum pada hewan. Namun, pada tahun 2019, COVID-19 menjadi pandemi global yang dapat menginfeksi manusia dari berbagai kalangan usia terutama pada pasien dengan komorbid seperti diabetes melitus dan hipertensi, dengan morbiditas dan mortalitas yang mengkhawatirkan.¹

COVID-19 pertama kali dilaporkan sebagai suatu penyakit pernapasan atipikal akut yang terjadi di Wuhan, Cina pada bulan Desember 2019. Setelah mewabah di Cina, SARS-CoV-2 menyebar ke seluruh dunia pada bulan April 2020 dengan tingkat penularan yang sangat tinggi. *Center for Systems Science and Engineering (CSSE)* di *John Hopkins University* melaporkan adanya penyebaran COVID-19 sebanyak 1.400.000 kasus secara global. Kasus tertinggi berada di Amerika Serikat, diikuti oleh Spanyol serta Italia. WHO per tanggal 20 Februari 2022 mencatat 426.634.859 kasus terkonfirmasi COVID-19, dengan 5.899.578 kematian di seluruh dunia.^{2,3}

Indonesia pertama kali melaporkan adanya 2 kasus pasien yang terkena COVID-19 pada tanggal 2 Maret 2020. Pada laporan situasi WHO per tanggal 19 Januari 2022, Pemerintah Indonesia telah melaporkan total 4.275.528 kasus terkonfirmasi COVID-19, dengan 144.192 kematian, dan 4.120.540 kasus sembuh. Angka ini terus bertambah dengan sebaran yang dilaporkan, yaitu sebanyak 5.350.902 kasus positif per tanggal 23 Februari 2022.⁴

2.2 Etiologi

Virus corona secara umum dikenal sebagai virus RNA berantai tunggal positif dengan diameter 120 nm, yang memiliki struktur seperti mahkota. SARS-CoV-2 termasuk dalam anggota genus virus beta corona dari famili *Coronaviridae*.^{1,5}



Gambar 2. 1 Struktur virus SARS CoV-2⁴

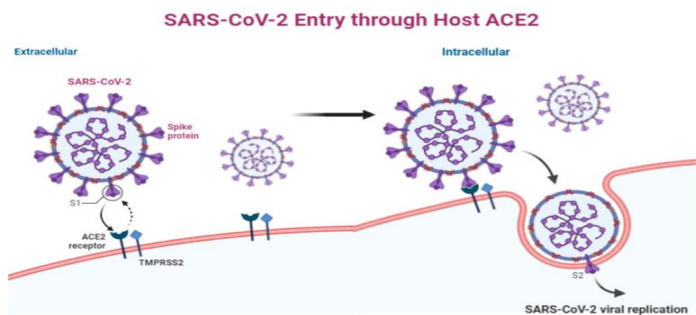
Virus SARS-CoV-2 tersusun atas empat protein struktural, termasuk membran (M), *envelope* (E), nukleokapsid (N), dan *spike* (S) (Gambar 2.1). Protein M memiliki peran penting dalam memasukkan virus ke dalam tubuh dan membentuk kapsul virus. Protein E bertanggung jawab untuk proliferasi, pembentukan kapsul, dan penyebaran virus. Protein N berguna untuk peningkatan transkripsi dan perakitan virus. Protein S bertanggung jawab untuk mengikat reseptor sel inang (subunit S1) dan berperan dalam penyatuan pada membran virus secara seluler (subunit S2).^{1,5}

Transmisi penularan SARS CoV-2 terjadi secara *person-to-person* melalui droplet pernapasan. Keberadaan virus dapat

dikonfirmasi melalui sputum dan swab faring. Median masa inkubasi COVID-19 adalah 5,2 hari dengan onset gejala dalam 11 hingga 15 hari. Oleh karena itu, direkomendasikan untuk mengkarantina penderita yang terpapar infeksi tersebut selama 14 hari.¹

Siklus hidup virus SARS CoV-2 dalam menginfeksi manusia terdiri dari 5 tahap, yaitu penempelan di permukaan membran, penetrasi ke dalam membran, biosintesis protein, maturasi, serta pelepasan gen-gen protein virus. Ketika virus mengikat reseptor inang (penempelan), virus kemudian masuk ke dalam sel inang (penetrasi). RNA virus yang telah memasuki nukleus kemudian direplikasi dan memanfaatkan mRNA virus untuk membentuk protein virus (biosintesis). Setelah itu, proses biosintesis selesai, partikel virus baru akan terbentuk (maturasi) dan kemudian dilepaskan.²

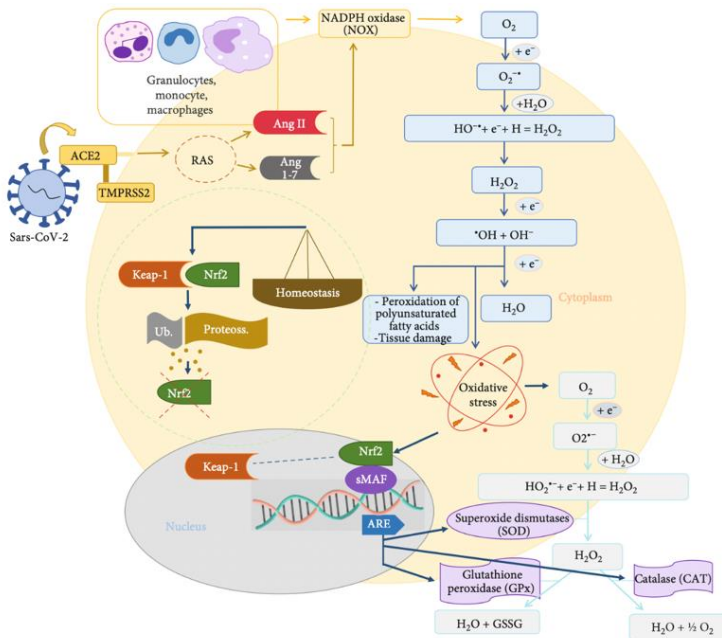
Dalam proses pengikatan virus ke sel inang, SARS CoV-2 menginfeksi melalui reseptor ACE2 yang terdapat di dalam sel alveoli mamalia yang dibantu oleh TMPRSS2 (Gambar 2.2).⁵



Gambar 2. 2 Virus SARS CoV-2 menginfeksi sel alveoli melalui reseptor ACE2.⁴

Secara umum, ACE2 bertindak sebagai reseptor di permukaan sel dan menyebabkan SARS-CoV-2 melalui protein *spike* masuk ke dalam sel inang serta plasma dan diekspresikan pada organ seperti paru, jantung, dan ginjal dengan catatan bahwa

ekspresi ACE2 di sel epitel alveolar tipe 1 dan 2 pada paru manusia lebih tinggi daripada organ tubuh yang lain. Peningkatan ekspresi ACE2 kemudian melepaskan materi genetik RNA virus dan menyebabkan kerusakan alveolus serta diikuti reaksi sistemik bahkan kematian. Salah satu fungsi penting dari ACE2 adalah mengatur RAS, yang salah satu penyebab perkembangan COVID-19 adalah gangguan keseimbangan ACE/ACE2 dan aktivasi RAS oleh SARS-CoV-2 (Gambar 2.3), terutama pada pasien dengan masalah penyakit kardiovaskular, hipertensi, dan diabetes.^{5,6}



Gambar 2. 3 Proses pembentukan ROS pada infeksi virus SARS CoV-2.⁶

Pada Gambar 2.3, virus masuk ke dalam sel melalui reseptor ACE2 dan protease serin TMPRSS2 yang terletak pada membran sel, kemudian akan mengarah pada pengenalan patogen oleh *Pattern Recognition Receptor* (PRR), keterlibatan sel imun, serta peningkatan sitokin proinflamasi, sehingga terjadi stres oksidatif dan produksi ROS. Sejalan dengan proses ini, adanya regulasi RAS

yang dalam hal ini berkontribusi pada peningkatan respons inflamasi dan produksi ROS.^{5,6}

Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase/NADPH Oksidase (NOX) menjadi enzim utama yang diekspresikan oleh granulosit dan makrofag, yang kemudian juga berperan dalam menginduksi produksi ROS, dimulai dengan ROS yang terbentuk dari dua molekul oksigen dan elektron tidak berpasangan, anion superoksida (O_2^-). Kemudian terjadi penurunan kemampuan transpor rantai elektron yang mengarah pada pembentukan ROS lain secara berurutan, seperti H_2O_2 dan (OH^-) . Dengan adanya peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda dan kerusakan jaringan yang dihasilkan oleh stres oksidatif, maka tubuh kemudian mengekspresikan faktor nuklir Nrf2 yang terjadi bersamaan dengan protein sMAF. Selanjutnya, mengarah ke ekspresi elemen respons antioksidan (AREs) dan produksi enzim antioksidan, seperti sebagai SOD, *Glutathione peroxidases* (GPXs) serta CAT. Dalam kondisi homeostatis, KEAP1 menekan aktivitas Nrf2 untuk degradasi cepat melalui sistem *ubiquitin-proteasome*, sehingga mencegah Nrf2 mencapai inti sel dan menyalin gen respons antioksidan.^{5,6}

Pada stadium I (derajat ringan) terjadi pengikatan target menggunakan reseptor ACE2 pada sel alveoli manusia, yang merupakan tanda infeksi awal. Stadium ini biasanya muncul sebagai gejala pernapasan dan sistemik ringan. Stadium II (derajat sedang-berat) menunjukkan adanya keterlibatan paru, baik tanpa hipoksia (IIa) ataupun dengan hipoksia (IIb). Pada stadium ini, infeksi telah memasuki multiplikasi virus serta peradangan lokal di paru dan pasien pada stadium ini biasanya menunjukkan gejala pneumonia virus, yang ditandai dengan batuk, demam, dan dapat terjadi hipoksia ($PaO_2/FiO_2 < 300$ mm Hg). Pencitraan dengan rontgen dada atau *computed tomography* pada stadium ini menunjukkan infiltrat bilateral atau *ground glass appearance*. Tes darah juga dapat menunjukkan peningkatan limfopenia, bersama

dengan transaminitis. Penanda adanya peradangan sistemik dan kerusakan molekuler mulai teridentifikasi.⁷

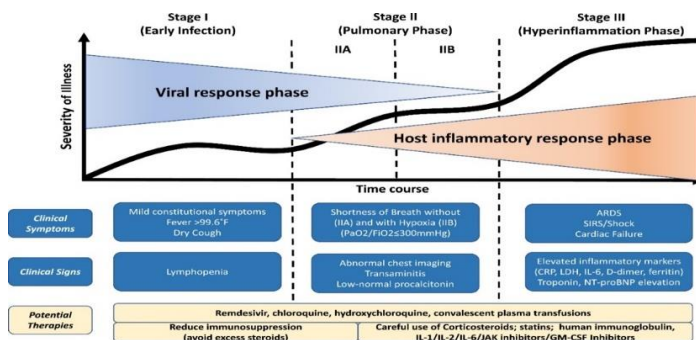
Stadium III (derajat kritis) merupakan bentuk hiperinflamasi sistemik, dengan manifestasi sebagai sindrom hiperinflamasi sistemik ekstrapulmoner. Tahap ini, menjadi penanda peningkatan peradangan sistemik dari stadium sebelumnya. Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa sitokin inflamasi serta biomarker seperti IL-2, IL-6, IL-7, *Granulocyte Colony Stimulating Factor*, *Macrophage Inflammatory Protein 1- α* , *Tumor Necrosis Factor- α* , protein C-reaktif, feritin, dan D-dimer meningkat signifikan.⁷

Sun *et al.* melaporkan pada pasien yang terinfeksi SARS-CoV-2, terdapat peningkatan sitokin proinflamasi seperti IFN- γ , IL-1, IL-6, IL-12, dan TGF β serta kemokin (ligan CCL2, CXCL10, CXCL9) dan terdeteksi pada kasus derajat berat. Di Rumah Sakit Pusat Wuhan Bagian Selatan menemukan bahwa kadar IL2, IL7, IL10, GSCF, IP10, MCP1, MIP1a dan TNF meningkat secara signifikan dalam darah terutama pada pasien COVID-19 derajat berat dibandingkan pasien derajat ringan atau sedang. Pada derajat sedang kadar serum level sitokin proinflamasi dan kemokin tersebut tidak terlalu meningkat dan keparahan kerusakan oksidatif pun lebih banyak terjadi pada kasus derajat berat dan kritis. Tingkat IL-6 dalam darah kelompok derajat berat adalah 76% lebih tinggi dari pada kelompok derajat ringan (30%). Selanjutnya, pemeriksaan histologis dan sampel biopsi pasien yang meninggal akibat terinfeksi SARS-CoV-2 derajat berat dan kritis menunjukkan peningkatan konsentrasi sel T, CCR4+, CCR6+, Th17+ dan CD4 yang sangat hiperaktivasi dan hal ini terutama sel T berkontribusi terhadap keparahan derajat penyakit.⁸

Badai sitokin sering terjadi pada pasien derajat berat hingga kritis dimana pada saat yang bersamaan, limfosit dan jumlah sel NK berkurang drastis dengan peningkatan kadar D-dimer, protein C-reaktif (CRP), feritin, dan prokalsitonin. Akibatnya, terjadi kerusakan alveolar secara difus yang ditandai dengan

pembentukan membran hialin dan infiltrasi limfosit interstitial. Kerusakan jaringan kolateral, kegagalan pada berbagai organ, dan respons inflamasi yang tak terkendali terjadi pada derajat ini.⁹

Proses patofisiologi COVID-19, berkaitan dengan terjadinya stres oksidatif. Studi terbaru menggambarkan bahwa peningkatan ROS dan deprivasi mekanisme pertahanan antioksidan memiliki peran yang sangat penting dalam patogenesis dan keparahan stadium pada kasus COVID-19 ini. ARDS (*Acute Respiratory Distress Syndrome*) pasien tergantung pada aktivasi stres oksidatif dan peningkatan respons *host* proinflamasi. Berbagai mekanisme telah dikemukakan untuk menjelaskan peningkatan pembentukan ROS, termasuk peningkatan angiotensin II, zat prooksidan dan proinflamasi, penghambatan ACE2, peningkatan radikal superoksida H₂O₂ oleh makrofag dan neutrofil, produksi ROS oleh heme dan besi yang dilepaskan oleh eritrosit yang rusak, serta hipoksemia akibat edema alveolar. Studi lain juga menyebutkan terdapat perbedaan peningkatan ROS dan penurunan antioksidan yang signifikan antara kelompok ringan, sedang dan berat. Gambar 2.4 menjelaskan perbedaan patogenesis pada infeksi SARS-COV-2 mulai dari stadium I hingga stadium III.^{7, 10, 11}



Gambar 2. 4 Klasifikasi stadium penyakit COVID-19 dan target terapi potensial.

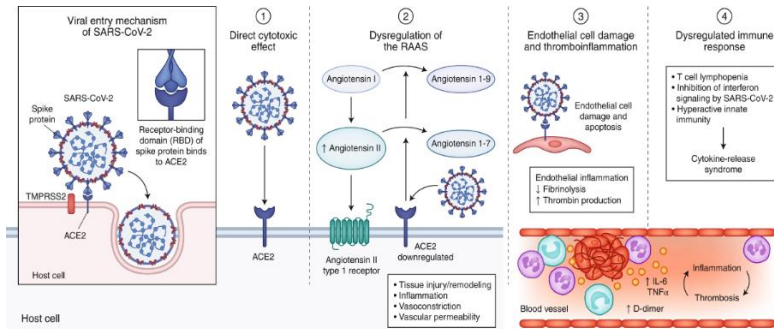
Gambar ini menjelaskan 3 fase peningkatan perkembangan penyakit COVID-19 dengan tanda, gejala, serta terapi spesifik fase yang terkait.⁷

Cekeravac *et al*¹². melaporkan adanya kenaikan stres oksidatif yang tinggi akibat peningkatan zat prooksidan. Pada pasien COVID-19 derajat ringan, kadar *anion superoxide radical* (O_2^-) adalah 3.50 nmol/ml. Pada derajat sedang adalah sebesar 4,84 nmol/ml, dan pada derajat berat adalah 11,3 nmol/ml. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pada pasien COVID-19, kadar *anion superoxide radical* (O_2^-) dapat menjadi penanda zat prooksidan terhadap peningkatan kejadian stres oksidatif.

2.3 Manifestasi Klinis

Gejala COVID-19 cukup beragam pada beberapa pasien. Terdapat beberapa kasus COVID-19 yang dilaporkan tanpa gejala. Biasanya, pada tahap awal infeksi, gejala yang paling sering terjadi dapat berupa demam, batuk kering, serta kelelahan. Gejala lain dapat muncul berupa mual atau muntah, nyeri sendi atau otot, nyeri tenggorokan, hilangnya indra penciuman atau perasa bahkan keduanya, hidung terasa tersumbat, adanya konjungtivitis, nyeri kepala, dapat muncul berbagai jenis ruam di kulit, diare, dan menggigil. Pada derajat infeksi yang lebih berat, pasien akan mengalami gejala pernapasan seperti sesak napas yang berat, penurunan oksigen darah (hipoksia), kerusakan pada paru, dan terdapat beberapa disfungsi organ.⁵

Permasalahan yang menyebabkan kematian pasien yaitu karena adanya badai sitokin saat terjadi ARDS. Badai sitokin merupakan reaksi inflamasi agresif yang menyebabkan terjadinya sekresi sitokin dalam jumlah yang masif disebabkan oleh respons imun terhadap virus SARS-CoV-2 sehingga dapat menyebabkan kerusakan paru, kegagalan organ, bahkan memiliki prognosis yang buruk⁵ (Gambar 2.5)



Gambar 2. 5 Proses inflamasi akibat covid-19

Berdasarkan derajat beratnya gejala COVID-19 dapat dibedakan menjadi 5 gejala, yaitu:¹³

- 1) Tanpa gejala yaitu kondisi paling ringan.
- 2) Ringan yaitu pasien disertai gejala tetapi tidak terdapat hipoksia atau pneumonia. Sering muncul gejala demam, batuk, napas yang pendek, kelelahan, kehilangan nafsu makan, bahkan nyeri sendi/nyeri otot. Gejala nonspesifik seperti rasa tidak nyaman di tenggorokan, hidung tersumbat, sakit di bagian kepala, mual, diare, serta muntah, gangguan indra penciuman (anosmia) atau hilangnya indra pengecapan (ageusia). Sedangkan, pada pasien lanjut usia disertai *immunocompromised* memiliki khas seperti kelelahan, penurunan mobilitas, diare, hilangnya nafsu makan, tidak disertai demam dan delirium.
- 3) Sedang. Untuk derajat sedang pada usia dewasa dan remaja memiliki manifestasi klinis seperti demam, dispnea, batuk, dan takipnea tanpa disertai pneumonia berat dimana $SpO_2 > 93\%$ pada udara ruangan.
- 4) Berat. Terdapat manifestasi klinis pneumonia berat seperti batuk, dispneu, demam dan takipnea ditambah dengan satu dari frekuensi napas > 30 x/menit, $SpO_2 < 93\%$ pada udara ruangan serta adanya distress pernapasan berat.
- 5) Kritis seringkali terjadi pada pasien ARDS, sepsis dan juga syok sepsis.

WHO merekomendasikan pemeriksaan pada pasien COVID-19 secara molekuler dengan cara mendeteksi NAAT (*Nucleic Acid Amplification Test*) seperti pemeriksaan RT-PCR.² Hasil darah rutin lengkap pada fase awal biasanya ditemukan seperti adanya peningkatan leukosit atau normal atau leukopenia disertai dengan adanya limfopenia serta trombositopenia. Pemeriksaan CT scan toraks didapatkan gambaran opasitas *ground glass* multipel bilateral pada bagian basal serta perifer pada paru bilateral.^{2,13}

Berdasarkan definisi operasional, diagnosis COVID-19 kasus konfirmasi dimana seseorang memenuhi salah satu kriteria, yaitu: pasien dengan hasil NAAT positif, pasien yang sesuai dengan kriteria suspek atau kontak erat dengan hasil RDT-Ag positif di wilayah B dan C, serta hasil laboratorium RDT -Ag positif di wilayah C.¹³

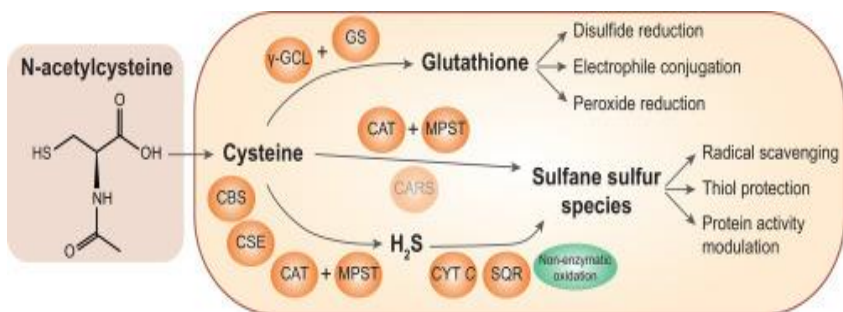
2.4 Tatalaksana Farmakologis

Tatalaksana COVID-19 meliputi isolasi dan pemantauan, tatalaksana non- farmakologis, dan tatalaksana farmakologis yang disesuaikan dengan derajat penyakit pasien. Adapun tatalaksana kasus terkonfirmasi COVID-19 derajat sedang, yaitu:¹³

- Vitamin C diberikan dengan dosis 200 hingga 400 mg per 8 jam di drip dalam 100 ml NaCl 0,9% habis dalam 1 jam.
- Vitamin D juga dapat diberikan dengan dosis 1000 hingga 5000 IU/hari.
- Diberikan juga terapi farmakologis dengan salah satu antivirus sebagai berikut:
- Pada derajat sedang, diberikan antivirus drip Remdesivir dengan dosis 200 mg IV pada hari ke-1 kemudian dilanjutkan 1x100 mg IV drip pada hari ke 2-5 atau hari ke-2 sampai dengan hari ke-10. Apabila Remdesivir tidak tersedia maka pemberian antivirus disesuaikan dengan ketersediaan obat di fasilitas kesehatan tersebut, misalnya:

- Favipiravir *loading dose* 1600 mg per 12 jam secara oral (sediaan 200 mg) pada hari ke-1 dan selanjutnya dengan dosis 2 x 600 mg pada hari ke 2 sampai dengan hari ke-5, atau
- Molnupiravir dengan dosis 800 mg per 12 jam secara oral selama 5 hari (sediaan 200 mg), atau
- Nirmatrelvir/Ritonavir dengan sediaan 150 mg atau 100 mg. Nirmatrelvir diberikan 2 tablet per 12 jam, Ritonavir diberikan 1 tablet per 12 jam selama 5 hari.
- Pada derajat sedang, dapat diberikan antikoagulan LMWH (*Low Molecular Weight Heparin*)/UFH (*Unfractionated Heparin*) berdasarkan evaluasi DPJP
- Pengobatan secara simtomatis.
- Pengobatan komorbid serta komplikasi yang ada.

Pada pasien COVID-19 derajat sedang, tatalaksana farmakologis yang diberikan berupa antioksidan, antivirus, dan terapi suportif lainnya. Pemberian antioksidan ditujukan untuk mencegah kerusakan oksidatif yang mulai terjadi, dengan meningkatkan kapasitas antioksidan tubuh. Antioksidan yang telah dipakai dalam terapi standar COVID-19 saat ini adalah *N-acetylsistein* (NAC) memiliki sifat antioksidan melalui pelepasan gugus sistein sebagai senyawa prekursor dalam proses sintesis *glutation* (gambar 2.6) Vitamin C sebagai antioksidan, kofaktor, modulator mendonorkan elektron serta melindungi neutrofil dan fagosit untuk mendorong terjadinya apoptosis dan menghambat nekrosis. Vitamin D memiliki kemampuan sebagai anti inflamasi dan antioksidan yang mengurangi aktivasi RAAS (*Renin Angiotensin Aldosterone*) serta menurunkan pembentukan ROS pada infeksi SARS-CoV-2.^{13, 14-16}



Gambar 2. 6 Keterlibatan NAC pada sistem glutation

DAFTAR PUSTAKA

1. Azer SA. COVID-19: pathophysiology, diagnosis, complications and investigational therapeutics. *New Microbes New Infect.* 2020;37:100738. doi:10.1016/j.nmni.2020.100738
2. Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clin Immunol.* 2020;215:108427. doi:10.1016/j.clim.2020.108427
3. World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. Published 2021. Accessed November 24, 2021. <https://covid19.who.int/>
4. World Health Organization. WHO Indonesia Situation Report – 81. *Int Organ.* 2021;8(4):586-588. doi:10.1017/S0020818300007645
5. Salahshoori I, Mobaraki-Asl N, Seyfaee A, et al. Overview of COVID-19 Disease: Virology, Epidemiology, Prevention Diagnosis, Treatment, and Vaccines. *Biologics.* 2021;1(1):2-40. doi:10.3390/biologics1010002
6. Fernandes IG, de Brito CA, dos Reis VMS, Sato MN, Pereira NZ. SARS-CoV-2 and Other Respiratory Viruses: What Does Oxidative Stress Have to Do with It? *Carvalho V de F, ed. Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:1-13. doi:10.1155/2020/8844280

7. Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical–therapeutic staging proposal. *J Hear Lung Transplant*. 2020;39(5):405-407. doi:10.1016/j.healun.2020.03.012
8. Sun X, Wang T, Cai D, et al. Cytokine storm intervention in the early stages of COVID-19 pneumonia. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2020;53:38-42. doi:10.1016/j.cytogfr.2020.04.002
9. Wang J, Jiang M, Chen X, Montaner LJ. Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts. *J Leukoc Biol*. 2020;108(1):17-41. doi:10.1002/JLB.3COVR0520 - 272R
10. Doğan S, Bal T, Çabalak M, Dikmen N, Yaqoobi H, Ozcan O. Oxidative stress index can be a new marker related to disease severity in COVID-19. *Turkish J Biochem*. 2021;46(4):349-357. doi:10.1515/tjb-2021-0013
11. Iddir M, Brito A, Dingo G, et al. Strengthening the Immune System and Reducing Inflammation and Oxidative Stress through Diet and Nutrition: Considerations during the COVID-19 Crisis. *Nutrients*. 2020;12(6):1562. doi:10.3390/nu12061562
12. Cekerevac I, Turnic TN, Draginic N, et al. Predicting Severity and Intrahospital Mortality in COVID-19: The Place and Role of Oxidative Stress. Kocic G, ed. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:1-15. doi:10.1155/2021/6615787
13. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI), Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia (PERKI), Perhimpunan Dokter Spesialis Penyakit Dalam Indonesia (PAPDI), Perhimpunan Dokter Anestesiologi dan Terapi Intensif Indonesia (PERDATIN), Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI). *Pedoman Tatalaksana COVID-19 Edisi 3*;

2020. <https://www.papdi.or.id/download/983-pedoman-tatalaksana-covid-19-edisi-3-desember-2020>
14. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI), Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia (PERKI), Perhimpunan Dokter Spesialis Penyakit Dalam Indonesia (PAPDI), Perhimpunan Dokter Anestesiologi dan Terapi Intensif Indonesia (PERDATIN), Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDA). Pedoman Tatalaksana COVID-19 Edisi 3.; 2020. <https://www.papdi.or.id/download/983-pedoman-tatalaksana-covid-19-edisi-3-desember-2020>
 15. Milani GP, Macchi M, Guz-Mark A. Vitamin C in the Treatment of COVID-19. *Nutrients*. 2021;13(4):1172. doi:10.3390/nu13041172
 16. De las Heras N, Martín Giménez VM, Ferder L, Manucha W, Lahera V. Implications of Oxidative Stress and Potential Role of Mitochondrial Dysfunction in COVID-19: Therapeutic Effects of Vitamin D. *Antioxidants*. 2020;9(9):897. doi:10.3390/antiox9090897.

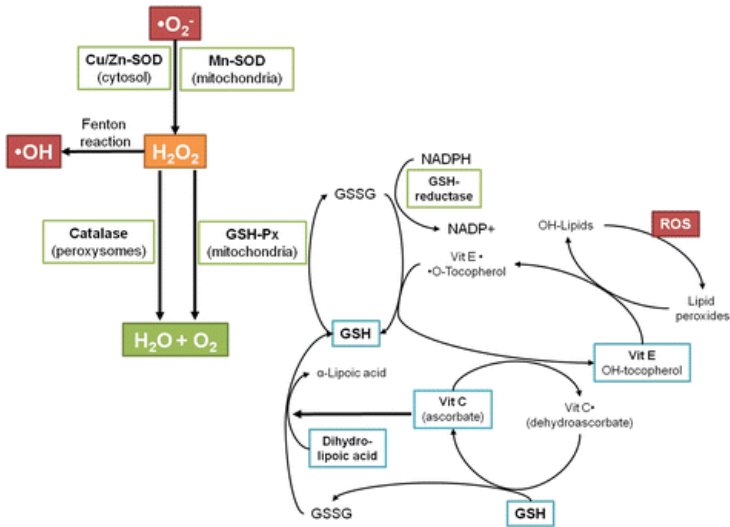
BAB III : POTENSI *NIGELLA SATIVA* SEBAGAI ANTIOKSIDAN

3.1 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa penetral radikal bebas dengan menjadi resipien atau donor elektron. Antioksidan bereaksi menghambat aktivitas senyawa tersebut melalui reaksi donor elektron dimana posisi senyawa radikal sebagai senyawa resipien. Struktur antioksidan terdiri dari struktur cincin aromatik dan dapat mendelokalisi terutama pada elektron yang tidak berpasangan. Antioksidan dibagi menjadi 3 berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu:^{1,2}

- a. Antioksidan endogen (primer) Antioksidan ini, yang dikenal sebagai antioksidan enzimatik, bekerja dengan mencegah pembentukan radikal bebas dan mengubahnya menjadi molekul yang tidak berbahaya. *SOD*, *Catalase*, dan *glutathione peroksidase* adalah antioksidan endogen.
- b. Antioksidan sekunder (eksogen) bekerja dengan cara memutus reaksi berantai pada senyawa radikal bebas. Zat yang mengandung antioksidan sekunder adalah *Thymoquinone*, vitamin E (*α-tokoferol*), asam urat, *β karoten*, vitamin C, albumin dan bilirubin.
- c. Antioksidan tersier membantu memperbaiki lesi biomolekular karena tingginya kadar radikal bebas. Zat yang mengandung antioksidan tersier yaitu metionin sulfoksida reduktase dan enzim *DNA repair*.

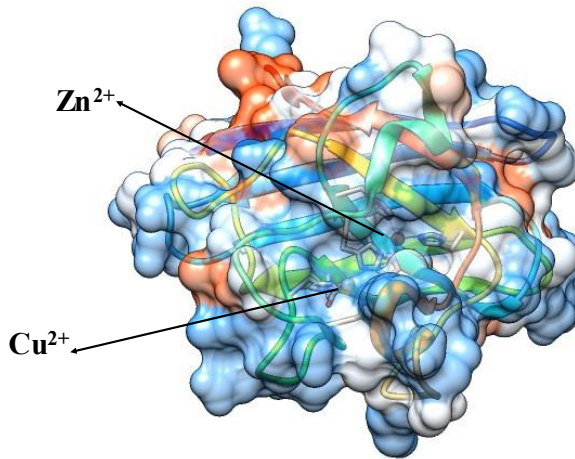
Antioksidan tubuh bekerja secara komprehensif dan berkelanjutan. Mekanisme kerja antioksidan di dalam tubuh dapat dilihat pada gambar 3.1



Gambar 3. 1 Cara kerja antioksidan di dalam tubuh

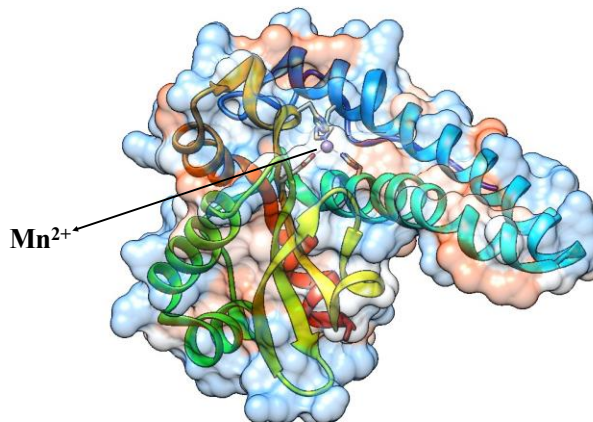
3.1.1 Superoxide dismutase (SOD)

SOD adalah enzim antioksidan endogen, turunan dari oksigen yang berfungsi mengkatalisis penghilangan radikal bebas superoksida, dan dalam beberapa situasi ketika terjadi stres oksidatif, sintesis enzimatik SOD dapat diinduksi dengan cepat. SOD juga berperan dalam mengkonversi superoksida anion ($O_2^{\cdot-}$). Ada dua sistem pertahanan SOD yaitu, sistem pertahanan preventif bersama enzim katalase dan *Glutation peroksidase*, serta sistem pertahanan yang memisahkan reaksi radikal seperti isoflavon, vitamin A, C, dan E.^{1, 2} SOD terbagi menjadi *Superoxide dismutase-1* atau CuZn-Sitosolik (CuZn- SOD) yang mengandung tembaga serta seng, ditemukan di sitoplasma intraseluler dan mampu berpindah dengan cepat ke dalam nukleus untuk menjaga stabilitas genom (Gambar 3.2).



Gambar 3. 2 Struktur Cu-Zn SOD (Kode PDB 1HL5)

Superoxide dismutase-2 atau Mn-Mitokondrial (Mn-SOD) yang mengandung mangan dan enzim ini berada di mitokondria (gambar 3.3). *Superoxide dismutase- 3* (EC-SOD) mengandung tembaga dan seng yang aktif melindungi dari stres oksidatif di permukaan sel.



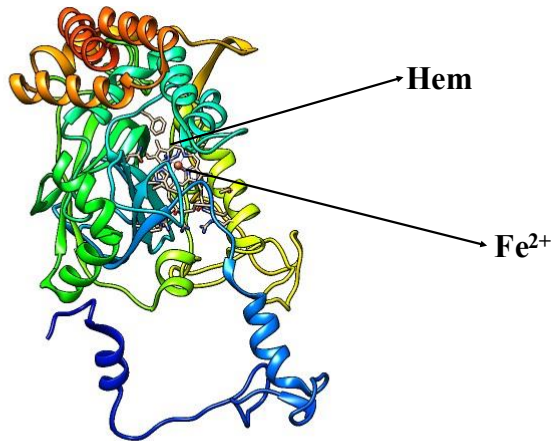
Gambar 3. 3 Struktur Mn-SOD (Kode PDB 2ADQ)

Enzim ini mengandung peptida dan bekerja di ekstraseluler. SOD bekerja dengan mengubah anion superoksida (O_2^-) menjadi komponen yang kurang reaktif/berbahaya, yaitu hidrogen peroksida (H_2O_2) kemudian menjadi $O_2 + H_2O$ oleh enzim *Catalase*.³⁻⁵

Superoxide dismutase merupakan enzim antioksidan sebagai lini pertama pertahanan melawan ROS terlibat langsung dalam mengurangi migrasi sel inflamasi dengan mengatur molekul adhesi dan ekspresi sitokin inflamasi. Pada COVID-19, respons inflamasi yang tidak terkontrol menyebabkan jumlah limfosit rendah dan terjadi pengurangan transportasi oksigen ke jaringan (sel dalam keadaan hipoksia) yang dapat menghasilkan spesies reaktif seperti superoksida dan H_2O_2 . Virus SARS-CoV-2 dapat menekan sistem antioksidan termasuk SOD, CAT, *glutathione S-transferase*, dan *glutathione peroksidase* pada sel epitel alveolus tipe 2 dan sel epitel saluran napas kecil.⁶

3.1.2 Catalase (CAT)

Catalase merupakan enzim antioksidan endogen yang berfungsi mengkatalisis reaksi hidrogen peroksida menjadi molekul oksigen (O_2) dan molekul air (H_2O). Molekul H_2O_2 mengoksidasi heme yang terdapat dalam enzim *Catalase* dari bentuk *enzyme resting-state* (Enz(Por-FelII)) menjadi *oxyferryl* selanjutnya molekul H_2O_2 digunakan sebagai reduktor senyawa I melalui reaksi redoks yang melibatkan transfer dua elektron dari donor elektron (molekul H_2O_2 kedua) untuk regenerasi *enzyme resting-state* (Enz(PorFelII)), air (H_2O) dan oksigen (O_2) (Gambar 3.4). Tidak hanya SOD, *Catalase* juga berfungsi sebagai lini pertama melawan ROS. Enzim antioksidan ini terdapat di hati, eritrosit dan sel epitel alveolar. Pada COVID-19, *Catalase* membantu dalam mengatur produksi sitokin, melindungi sel dari kerusakan oksidatif dan menekan replikasi SARS-CoV-2.⁷⁻⁹



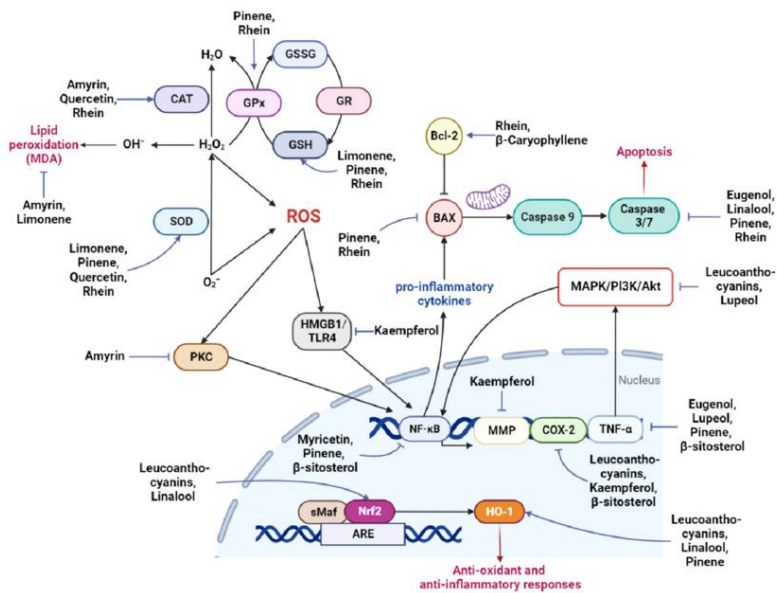
Gambar 3. 4 Struktur Human Catalase (Kode PDB 1QQW)

3.1.3 Malondialdehyde (MDA)

Malondialdehyde (MDA) adalah senyawa toksik yang menjadi indikator peningkatan stres oksidatif dan hasil akhir peroksidasi lipid yang dapat merusak membran sel. Bila kadar MDA tidak segera diturunkan dapat mengganggu fungsi sel. MDA banyak terdapat dalam darah dan pertama kali digunakan pada tahun 1950-an digunakan untuk penanda pembusukan pada makanan. MDA saat ini dapat digunakan dalam riset biomedis sebagai indikator peningkatan stres oksidatif terutama yang terlibat dalam proses peroksidasi lipid. MDA di mitokondria menghambat *pyruvate dehydrogenase* (PDH) dan *α-ketoglutarate dehydrogenase* berinteraksi langsung dengan kelompok *sulfhydryl* pada asam lipoat. Dalam siklus Krebs, enzim ini penting dan reaksi oksidatifnya melalui fosforilasi terlibat dalam reduksi NAD^+ menjadi NADH. Studi lain dalam uji coba pada tikus, yang ditemukan pada hipokampus tikus menunjukkan kadar MDA yang sangat tinggi dan bersifat sitotoksik pada sel. MDA bereaksi dengan Na^+/K^+ -ATPase pada membran plasma untuk mendepolarisasi membran, membuka *voltage gate channel*, sehingga memungkinkan Ca^{2+} masuk kedalam sel terutama sitosol dan mengaktifkan apoptosis. Stres oksidatif menyebabkan disfungsi

mitokondria menimbulkan penurunan energi seluler, terdapat banyaknya akumulasi mediator sitotoksik, serta terjadinya kerusakan seluler.^{10,11}

Peningkatan kadar serum MDA pada pasien COVID-19 dilaporkan dalam bahwa radikal bebas yang berlebih dapat menghancurkan membran lipid sehingga terjadi peningkatan lipid MDA dan *8-Isoprostaglandin F2 Alpha (8-iso-PGF2α)* sebagai produk sampingan. Penelitian ini juga menyelidiki konsentrasi *PGF2α* dalam plasma pasien COVID-19¹². Mekanisme pembentukan MDA dapat dilihat pada gambar 3.5



Gambar 3. 5 Pembentukan MDA pada inflamasi

3.2 *Nigella sativa*

Nigella sativa adalah tanaman tradisional yang telah diketahui banyak orang manfaatnya dari 100 tahun yang lalu. *Nigella sativa* memiliki berbagai sebutan seperti jintan hitam, *sannouj*, *Habbat El Baraka*, serta *Black Cumin*. Tanaman *Nigella sativa* ini dibudidayakan di beberapa negara seperti di Mediterania, Benua Eropa dan benua Asia. *Nigella sativa* sering digunakan untuk bahan penyedap rasa dan dijadikan obat tradisional. Penelitian dan

penggunaan *Nigella sativa* sebagai pengobatan alternatif semakin berkembang beberapa tahun terakhir, seiring dengan temuan kandungan antioksidan yang tinggi pada *Nigella sativa*.^{13, 14}

Nigella sativa mengandung protein monosakarida sebagai sumber energi yang mudah diserap tubuh dan mengandung polisakarida yang dapat menjadi sumber serat, *fixed oil*, minyak *essensial*, protein, alkaloid, dan saponin. Biji *Nigella sativa* (Gambar 3.6) terkenal dengan kandungan zat aktifnya yang berperan sebagai antioksidan, seperti *Thymoquinone*, *O-cymene*, *Beta-pinene*, *Palmitic acid*, *Oleic acid*, *Linoleic acid*, *1-Heptatriacotanol*, dan *Thymol*.^{11, 13, 15} *Thymoquinone* (TQ) adalah komponen utama zat aktif dari *Nigella sativa*. Adapun efek zat aktif dari *Thymoquinone* (*2-isopropyl-5-methylbenzo-1,4-quinone*) antara lain melindungi sel terhadap kejadian stres oksidatif, anti inflamasi, inhibitor lipid peroksidase, dan anti radikal bebas.^{13, 16, 17}



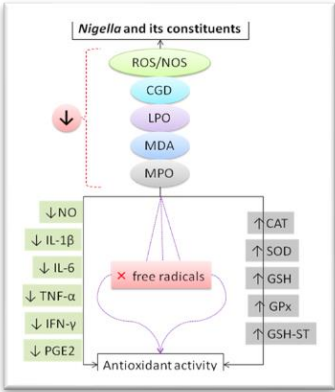
Gambar 3. 6 *Nigella sativa*¹³

Studi sebelumnya yang meneliti pemberian oil dari biji *Nigella sativa* menyebutkan bahwa *Thymoquinone* berperan sebagai zat aktif yang memiliki efek protektif dari kerusakan oksidatif akibat radikal bebas. Telah diuji potensi senyawa TQ,

Dithymoquinone, dan *Thymol* pada beberapa radikal bebas termasuk ROS. Dari hasil percobaan tersebut diketahui TQ, *Dithymoquinone*, dan *Thymol* memiliki efek sebagai antioksidan yang kuat. TQ secara signifikan dapat berfungsi sebagai penangkal ROS dan memiliki kemampuan untuk meningkatkan produksi antioksidan seperti SOD, *Catalase*, dan *glutathione peroksida*.¹⁷⁻¹⁹

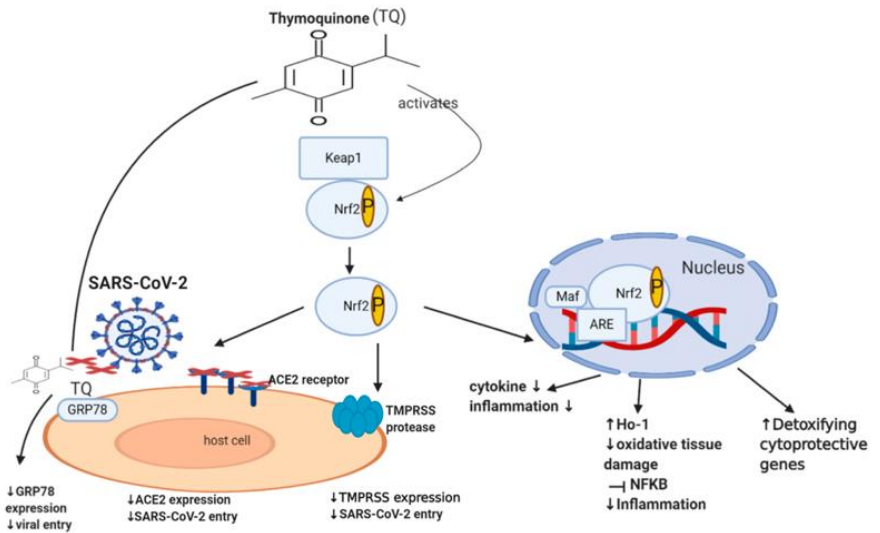
3.3 Aktivitas farmakologis *Nigella sativa* sebagai antioksidan

Sejumlah penelitian terkait antioksidan secara *in vitro*, *ex vivo* dan *in vivo* telah dilakukan dengan ekstrak *Nigella sativa*, minyak biji dan *Thymoquinone*. Temuan ini menunjukkan bahwa *Nigella sativa* dan komponen bioaktif turunannya memiliki kemampuan menangkap radikal yang kuat serta kapabilitas sebagai penghambatan stres oksidatif. *Thymoquinone* secara signifikan mengubah parameter termasuk adenosin deaminase, CAT, *myloperoxidase*, lipid peroksidase, *reduced glutathione*, *glutathione peroksidase*, SOD, dan *nitric oxide* untuk mengurangi stres oksidatif. *Nigella sativa* juga mengurangi kadar MDA, *conjugated diene* dan mediator pro-inflamasi seperti interleukin IL-1-beta, *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α), IFN- γ , dan prostaglandin (Gambar 3.7).²⁰



Gambar 3. 7 Aktivitas antioksidan pada *Nigella sativa*.²⁰

Thymoquinone (TQ) adalah senyawa aktif yang secara farmakologi memiliki peran paling besar dalam *Nigella sativa*, dimana TQ disebut memiliki kandungan sebagai antikanker, anti-inflamasi dan antioksidan. Lebih lanjut lagi, *molecular docking* menunjukkan bahwa TQ dapat mengganggu perlekatan SARS-CoV-2 ke HSPA5 (*Heat Shock Protein Family A (Hsp 70) Member 5*) dengan mengikat erat protein ini pada permukaan sel. *Thymoquinone* juga mengikat erat ke HSPA5/GRP78 (*Glucose-regulated protein 78*) sehingga dapat mengurangi ekspresinya dan meningkatkan fungsi mitokondria. Dengan demikian keduanya dapat mengurangi risiko infeksi SARS-CoV-2 (Gambar 3.8).²²⁻²⁴



Gambar 3. 8 Aktivitas farmakologis TQ pada infeksi SARS-CoV-2, Nrf2 dan GRP78.²⁴

Pada gambar 3.7. menjelaskan pengaruh TQ pada infeksi SARS-CoV-2, Nrf2, dan GRP78. Pada gambar tersebut, TQ mengaktifkan Nrf2 dengan fosforilasi, menyebabkan translokasi di dalam nukleus, mengikat ARE (elemen respons antioksidan) dan Maf. Pengikatan ini menghasilkan pengurangan NF-kB, produksi sitokin, inflamasi, kerusakan oksidatif dan peningkatan detoksifikasi gen sitoprotektif

dan enzim seperti enzim HO-1. Selain itu, TQ menurunkan ekspresi GRP78, ekspresi reseptor ACE2, serta menurunkan entri virus.²⁴

3.4 Potensi Senyawa Bioaktif *Nigella sativa* sebagai Antioksidan

Virus adalah parasit intraseluler obligat yang menginvasi sel inang untuk bereplikasi. Infeksi virus menyebabkan ketidakseimbangan substansial dalam lingkungan mikro intraseluler, seperti terganggunya sistem redoks, yang kemudian menginduksi enzim penghasil ROS, seperti *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases* (NADPH oksidase, NOX) dan *xanthine oxidase* (XO), hingga menyebabkan ketidakseimbangan antioksidan dan radikal bebas (stres oksidatif). Granulosit juga memainkan peran yang relevan dalam infeksi virus. Neutrofil menghasilkan radikal bebas superoksida yang signifikan dan H₂O₂, yang merupakan mekanisme penting dalam eliminasi patogen, serta menyebabkan kelebihan produksi ROS hingga terjadi kerusakan jaringan.^{6, 25, 26}

Sebagai bentuk pertahanan tubuh dari peningkatan ROS dan kondisi stres oksidatif, antioksidan endogen akan diekspresikan secara bervariasi sesuai dengan stadium infeksi. Dalam model kultur sel, beberapa jam pertama setelah infeksi, tubuh akan menginduksi enzim SOD1, SOD2, *glutathione S-transferase* (GST), CAT, dan GPx. Seiring dengan infeksi yang terus berkembang, hanya SOD2 yang terus meningkat, menghasilkan produksi H₂O₂ dalam jumlah yang banyak, sedangkan enzim antioksidan lainnya, termasuk yang penting untuk menetralkan H₂O₂, justru akan mengalami penurunan. Dalam kasus ini, antioksidan eksogen diharapkan dapat memegang peran penting agar tidak terjadi kerusakan jaringan akibat infeksi virus SARS CoV-2.^{6, 25, 26}

El Gindy *et al.* menjabarkan aktivitas farmakologi yang luas yang dimiliki oleh *Nigella sativa* seperti antidiabetes, analgesik, antipiretik, antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan. Senyawa utama yang terkandung dalam *Nigella sativa* adalah *Thymoquinone* (30–48%), *P-cymene* (7–15%), *Carva crol* (6–12%), *4-terpineol* (2–

7%), dan *T-anethole* (1–4%). Penelitian ini kemudian dilakukan terhadap pemberian *Nigella sativa* pada pakan kelinci, dan didapatkan hasil yang menyebutkan bahwa pemberian *Nigella sativa* dengan dosis 600 mg/kgBB menunjukkan hasil yang lebih efektif daripada 300 mg/kgBB dalam meningkatkan kinerja kelinci secara produktif, memperbaiki profil lipid darah, status kekebalan, serta status antioksidan.²⁷

Studi Hosseinzadeh *et al.* sebelumnya telah mempublikasi sebuah *review article* yang merangkum berbagai studi tentang penggunaan klinis *Nigella sativa* dan TQ dalam pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Nigella sativa* memiliki efek menguntungkan bila digunakan dalam terapi untuk berbagai penyakit, termasuk kardiovaskular, sistem saraf, kulit, infeksi, sistem reproduksi, sistem pernapasan, dan penyakit gastrointestinal. Hal ini juga berhubungan dengan hasil penelitian yang menyebutkan bahwa TQ memiliki efek antioksidan yang serupa dengan enzim SOD, CAT, dan *Glutation peroksidase* dalam menurunkan kerusakan oksidatif.²⁸

Puspowardjo *et al.* telah melakukan sebuah penelitian berupa penelitian *true experimental* pada tikus *Sprague dawley*. Perlakuan yang diberikan yaitu dengan memberikan ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa* L) dan asap rokok, dengan luaran berupa aktivitas SOD dalam plasma tikus dengan dosis harian yang diberikan adalah 500 mg/hari selama 21 hari. Hasil penelitian menyebutkan kandungan TQ dari *Nigella sativa* dapat meningkatkan aktivitas SOD pada serum plasma tikus yang diberi paparan asap rokok dengan peningkatan pada kelompok perlakuan sebesar 32.48%. Penelitian serupa oleh Sirait *et al.* melakukan penelitian selama 28 hari pada tikus dengan *Nigella sativa* dosis 500 mg/hari. Spesimen darah diambil dari pleksus vena retro orbita sampel pada hari ke-29. Penelitian tersebut menyebutkan bahwa *Nigella sativa* dengan dosis 500 mg/hari dapat mencegah terjadinya stres oksidatif pada tikus akibat paparan asap rokok

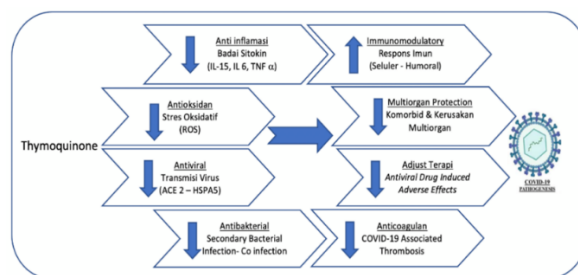
serta menurunkan kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada serum tikus yang telah diberikan paparan asap rokok.¹⁵

Penelitian lain dari Maideen melaporkan bahwa *Nigella Sativa* dapat melindungi terhadap peningkatan H₂O₂ yang akan menginduksi stres oksidatif. *Nigella Sativa* berfungsi sebagai senyawa bioaktif konstituen seperti TQ, *carvacrol*, *T-anethole*, dan *terpineol*. *Thymoquinone* yang terkandung dalam *Nigella sativa*, bekerja dengan mengaktifkan enzim yang mempertahankan sel dari kerusakan sel yang diakibatkan oleh stres oksidatif. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa TQ dapat meningkatkan ekspresi mRNA dan merangsang berbagai enzim antioksidan sitoprotektif, termasuk enzim *Catalase*, *SOD*, *glutathione reduktase*, serta *glutathione-S-transferase* (GST). Dengan demikian, pemberian TQ pada pasien COVID-19 dapat meningkatkan perlindungan dengan mencegah kejadian stres oksidatif akibat penurunan aktivitas antioksidan endogen.³⁰⁻³³

Penelitian oleh Rahman di Malaysia juga melaporkan bahwa *Nigella sativa* mengindikasikan sejumlah manfaat sebagai tatalaksana COVID-19 seperti menghalangi masuknya virus ke dalam pneumosit serta menyediakan ionofor untuk meningkatkan penyerapan Zn²⁺ yang dapat meningkatkan respons imun pejamu terhadap SARS-CoV-2 serta dapat menghambat replikasi virus dengan memblokir RdRp. Penelitian ini menyebutkan bahwa penggunaan *Nigella sativa* dapat diberikan dengan dosis antara 40-80 mg/kg/hari sebagai terapi tambahan tanpa efek samping.³⁴

Penelitian oleh Koshak *et al.* saat ini telah memasuki uji fase II *clinical trial* terkait pemberian *Nigella sativa* pada 200 orang pasien COVID-19 derajat ringan. Sejauh ini, penelitian tersebut menyebutkan bahwa *Nigella Sativa* dapat menjadi terapi potensial pada COVID-19 derajat ringan, dengan pemberian *Nigella sativa oil softgel capsule* 2x500 mg secara oral selama 10 hari.³⁵ Penelitian Ashraf *et al.* juga telah melakukan uji klinis acak multisenter di 4 rumah sakit di Pakistan. Responden yang merupakan pasien COVID-19 derajat sedang dan berat, secara acak dibagi dalam rasio 1:1

diberikan madu (1 gram/KgBB/hari) dan *Nigella sativa* (80 mg/KgBB/hari) serta plasebo selama 13 hari bersamaan dengan tatalaksana standar COVID-19. Hasil penelitian menunjukkan luaran berupa perbaikan gejala seperti batuk, sesak napas (takipnea dan hipoksia), demam, *myalgia*, dan penurunan tingkat keparahan penyakit, dibanding kelompok kontrol plasebo. Dalam penelitian ini pada pasien derajat sedang dan berat, virus *clearance* dapat terjadi 4-5 hari setelah diberikan intervensi terutama pada kelompok pemberian madu dan *Nigella sativa*. Pada COVID-19 derajat berat saturasi oksigen rata-rata di atas 90% dicapai pada hari ke-6. Pada kelompok derajat sedang, dicapai pada hari ke-4 dan lebih dari separuh peserta (terutama kelompok pemberian madu dan *Nigella sativa*) keluhan demam menjadi *afebrile*. Sementara pada pasien kelompok kontrol tetap mengalami demam. Pada hari ke-6, pada kasus derajat sedang sebagian besar pasien dapat melanjutkan aktivitas normal sehari-hari terutama pada kelompok pemberian madu dan *Nigella sativa* dibandingkan dengan kelompok kontrol dimana pasien yang termasuk dalam kelompok tersebut masih memiliki aktivitas terbatas. Pada hari ke-8, pasien dengan COVID-19 derajat sedang (98.13%) dan berat (70%) menjadi asimtomatik dengan pengobatan madu dan *Nigella sativa*. Angka mortalitas sebesar 4 kali lebih tinggi terjadi pada kelompok kontrol.³⁶



Gambar 3. 9 Efek perlindungan multitarget *Thymoquinone* terhadap patogenesis COVID-19.³⁷

Pada gambar 3.9 menjelaskan potensi efek yang menguntungkan dari TQ pada pasien COVID-19. *Thymoquinone* adalah prinsip bioaktif utama dalam *Nigella sativa* dan telah ditemukan karena memberikan berbagai keuntungan terapeutik termasuk sebagai antioksidan, anti inflamasi, antikanker, antibakteri, antijamur, antikoagulan, antiseptis, dan antikonvulsan. Biji *Nigella Sativa* juga telah menunjukkan sebagai efek imunomodulator. Sementara itu, beberapa penelitian menunjukkan bahwa biji *Nigella sativa* memiliki beberapa efek antivirus, sifat imunomodulator, antioksidan, efek anti iskemik pada beberapa organ, termasuk pada organ otak, ginjal, jantung, hati, dan usus. Adanya bukti tersebut menunjukkan bahwa biji *Nigella sativa* dan konstituen aktifnya memiliki potensi terapeutik yang signifikan terhadap COVID-19.³⁷

Selain metabolit sekunder, senyawa metabolit primer seperti senyawa peptida yang terdapat pada NS, diduga memiliki aktivitas antioksidan. Akan tetapi, hal tersebut tidak banyak diteliti.

Protein NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 5, chloroplastic merupakan protein enzim yang terdapat pada rantai pernafasan pada NS. Pada reaksi ini, NADH merupakan tenaga pereduksi yang mengubah plastaquinon menjadi plastaquinol. Protein NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 5, chloroplastic dari NS memiliki 542 asam amino. Hasil sekuens protein tersebut disajikan pada gambar 3.10.

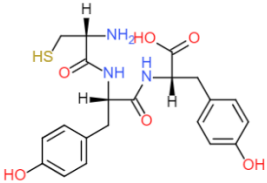
```
>tr|A0A161GVV5|A0A161GVV5_NIGSA NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 5, chloroplastic
(Fragment) OS=Nigella sativa OX=555479 GN=ndhF PE=3 SV=1
GDFGLFLGILGLYWITGSFEFRDLFEITNNLVDNNETSSLFLILCAFLFVGTVAKSQAF
PLHVWLPDAMEGPTPISALIIHAATMVAAGIFLVARLFPLFTAIPSIMNIIISLVGIIITLL
GATLALSQRDIKRSLAYSTMSQLGYIMLALGMGSYRAALFHLITHAYSKALLFLGSGSII
HSMETIVGSPDKSQNMALMGGLTKYVPITKTSFLLGTLSLCGIPLACFWSKDEILNDS
WLYSPIFAIACFTAGLTAFYMFRRMYLLTFEGHLNVNFQNYSGKKNNAFYISISIWGKRGP
ELLKNICIFSTMNNKEKASFLSKKACPIDGNGVDRMRRPFIINNFANKKISTYPYESDNT
MLLPLLLLVFILFVGFIPFGYEESDILSRWLTPSINFHLSNSNSFFDWYEFILINAIF
SVSIALSGFIASLTLYGPAYSYFHNFNLIINFVKRGRPRRIICDPIINGIYNWSYNRGYID
VFYAKLTRGIRGLAELTYFFDKQVIDGITNGIGLSNFFVAEIIKYIGGRISSYIFFYLFY
```

Gambar 3. 10 Sekuens protein NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 5, chloroplastic dari NS

Sekuens protein tersebut kemudian dilakukan skrening peptide yang memiliki aktivitas antioksidan. Hasilnya disajikan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Aktivitas antioksidan peptida dari NS

Peptida	Stuktur	FRS Score	Chel Score
Ile-Arg (IR)		0.38	0.25
Phe-Cys (KP)		0.41	0.28
Lys-Pro (FC)		0.43	0.27
Gly-Thr-Trp (GTW)		0.47	0.24
Tyr-Tyr-Glu (YYE)		0.58	0.21

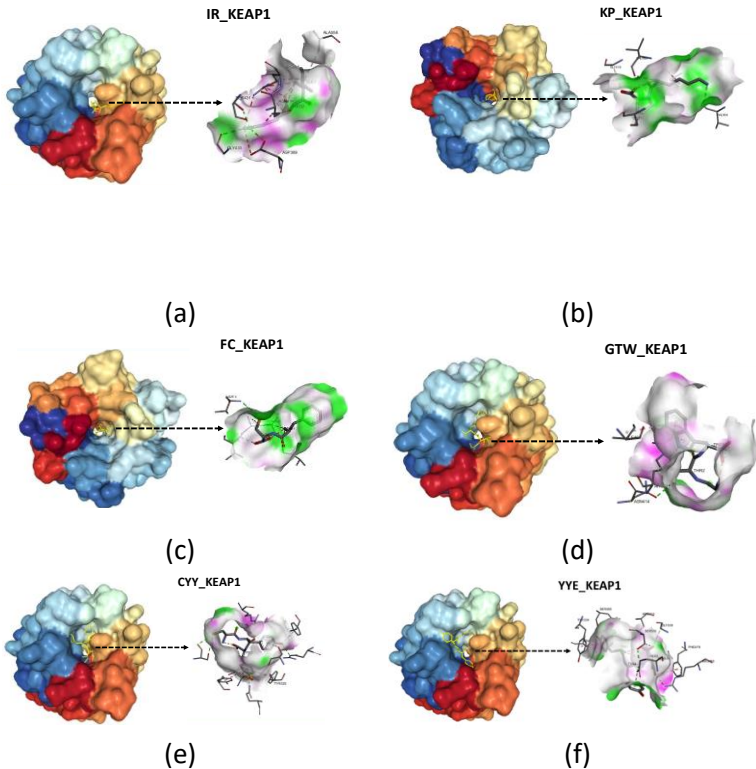
Cys-Tyr-Tyr (CYY)		0.59	0.22
----------------------	---	------	------

Peptida pada tabel 3.1, selanjutnya dilakukan docking molecular dengan protein KEAP-1. Hasil docking molekul disajikan pada tabel 3.2.

Tabel 3.2 Hasil docking molekul antara peptida dengan KEAP1

Peptida	Atomic Contact Energi (kJ/mol)	Ikatan Hidrogen		Ikatan Hidrofob	
		Residu	Jarak	Residu	Jarak
Ile-Arg (IR)	-75,69	Ser431	2,41	Arg415	4,35
		Gly433	3,12	Ala556	4,50
Phe-Cys (KP)	-20,71	Val465	3,27	Ala466	4,61
		Val604	3,02		
Lys-Pro (FC)	-239,17	Val418	2,94	Cys513	5,06
		Val465	2,90	Ala366	4,09
		Val467	2,85		
		Val514	3,65		
Gly-Thr-Trp (GTW)	-251,59	ASN414	2,72	ILE461	5,32
				ARG415	4,32
Tyr-Tyr-Glu (YYE)	-262,85	Arg483	2,76	Tyr525	5,00
		Arg415	2,56	Tyr572	5,09
		Ser602	3,55		
Cys-Tyr-Tyr (CYY)	-361,23	ASN382	2,59	Tyr334	3,91
		Ser555	2,68		

Visualisasi docking molekul pada tabel 3.2, disajikan pada gambar 3.11.



Gambar 3. 11 Interaksi protein KEAP1 dengan peptide (a) Ile-Arg (b) Phe-Cys (c) Lys-Pro (d) Gly-Thr-Trp (e) Tyr-Tyr-Glu dan (f) Cys-Tyr-Tyr

Berdasarkan hasil uji toksisitas peptide NS diperoleh hasil seperti pada tabel 3.3.

Tabel 3. 3 Uji toksisitas peptide NS

Peptida	LD50 (mg/kg)	Hepato toksik	karsinogen	Imuno toksik	mutagen	Sito toksik
Ile-Arg	1000	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Phe-Cys	5000	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Lys-Pro	6800	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Gly-Thr-Trp	800	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Tyr-Tyr-Glu	5000	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Tidak
Cys-Tyr-Tyr	5000	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak

Peptida-peptida Tyr-Tyr-Glu dan Cys-Tyr-Tyr merupakan peptide NS yang memiliki skore > 0,5 (tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa peptida-peptida tersebut memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas lebih 50%. Pada sisi lain, peptida Tyr-Tyr-Glu dan Cys-Tyr-Tyr memiliki Atomic Contact Energy (ACE) yang paling rendah yang berarti ikatan antara peptide dengan KEAP1 semakin kuat.¹⁷ Dengan demikian, dapat dijelaskan bahwa peptida tersebut bekerja dengan cara menghambat pembentukan kompleks Nrf2-KEAP1.^{38,39}

Dalam kondisi basal, Nrf2 berlokasi di sitoplasma dan inaktif, yang kemudian berikatan dengan molekul represor *Kelchlike ECH Association Protein 1* (KEAP1) membentuk kompleks Nrf2-KEAP1. KEAP1 merupakan suatu protein dengan berat molekul protein 69-kDa memiliki fungsi fisiologi dengan protein Kelch sebagai pengikat aktin dan berperan sebagai regulator negatif dari Nrf.^{38,39}

Keap1 terdiri atas beberapa residu sistein yang bertindak sebagai sensor terhadap status redoks intraselular.¹⁸ Nrf2 secara cepat akan didegradasi oleh jalur ubiquitin proteosom. Sinyal dari ROS dan elektrofil senyawa peptide akan mengakibatkan disosiasi NRF2 dari KEAP1. Kemudian, NRF2 akan bertranslokasi ke nukleus. Di dalam nukleus, NRF2 terikat pada sekuens regulator yang disebut *antioxidant response element* atau *electrophile response elements* (ARE/ApRE) yang berlokasi di regio promotor dari gen yang mengkode antioksidan, misalnya superoksida dismutase, catalase, peroksidase, dan lain-lain. Penghambatan jalur Nrf2/KEAP1 oleh peptide-peptida dari NS dimungkinkan berpengaruh terhadap fungsi fisiologi. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa peptide pada NS berperan sebagai antioksidan dengan berinteraksi dengan KEAP1.^{38,39}

Interaksi yang terbentuk antara peptide-peptida NS dengan protein KEAP1 berkontribusi terhadap kuat-lemahnya ikatan yang diindikasikan oleh ACE (Tabel 2). Selain itu tinggi rendahnya hidrofobisitas, peranan donor/acceptor pada ligand-

protein. Nilai ACE yang rendah akan menguatkan interaksi antara peptida dan protein. Interaksi peptida dan protein yang kuat akan menstabilkan kompleks peptida-protein. Hidrofobisitas yang rendah berbanding terbalik dengan jumlah ikatan hidrofobisitas dan meningkatkan permeabilitas senyawa pada membran sel.

Pada tabel 3, terlihat bahwa dari enam peptida tersebut Gly-Thr-Trp merupakan peptida yang tergolong toksik dibanding peptida lain. Sementara itu, Tyr-Tyr-Glu merupakan peptida yang berpotensi sebagai mutagen, yakni molekul yang dapat menyebabkan mutasi pada gen. Dengan demikian, secara umum Cys-Tyr-Tyr merupakan peptida yang memiliki aktivitas antioksidan dan tidak menimbulkan efek hepatotoksik, karsinogenik, imunotoksik, mutagen, dan sitotoksik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Suhartono E. Toksisitas Oksigen Reaktif Dan Antioksidan Di Bidang Kedokteran Dan Kesehatan. Gosjen Publishing; 2016.
2. Parwata IMO. Bahan Ajar Antioksidan. Kim Terap Progr Pascasarj Univ Udayana. 2016;(April):1-54.
3. Jing M, Han G, Wan J, et al. Catalase and superoxide dismutase response and the underlying molecular mechanism for naphthalene. *Sci Total Environ.* 2020;736:139567. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.139567
4. Islam MN, Hossain KS, Sarker PP, et al. Revisiting pharmacological potentials of *Nigella sativa* seed: A promising option for COVID-19 prevention and cure. *Phyther Res.* 2021;35(3):1329-1344. doi:10.1002/ptr. 6895
5. Li J, Lei J, He L, Fan X, Yi F, Zhang W. Evaluation and Monitoring of Superoxide Dismutase (SOD) Activity and its Clinical Significance in Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Med Sci Monit.* 2019;25:2032-2042. doi:10.12659/MSM.913375

6. Mehri F, Rahbar AH, Ghane ET, Soury B, Esfahani M. Changes in oxidative markers in COVID-19 patients. Arch Med Res. 2021;52(8):843-849. doi:10.1016/j.arcmed.2021.06.004
7. Untari EK, Wahdaningsih S, Damayanti A. Efek Fraksi n-Heksana Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap Aktivitas Katalase Tikus Stres Oksidatif. Pharm Sci Res. 2014;1(3):141-153. doi:10.7454/psr.v1i3.3489
8. Nandi A, Yan L-J, Jana CK, Das N. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age- Associated Degenerative Diseases. Oxid Med Cell Longev. 2019;2019:1-19. doi:10.1155/2019/9613090
9. Qin M, Cao Z, Wen J, et al. An Antioxidant Enzyme Therapeutic for COVID-19. Adv Mater. 2020;32(43):2004901. doi:10.1002/adma.202004901
10. Situmorang N, Zulham Z. Malondialdehyde (MDA) (Zat Oksidan Yang Mempercepat Proses Penuaan). J Keperawatan Dan Fisioter. 2020;2(2):117-123. doi:10.35451/jkf.v2i2.338
11. Siddiqui S, Upadhyay S, Ahmad R, et al. Virtual screening of phytoconstituents from miracle herb *Nigella sativa* targeting nucleocapsid protein and papain-like protease of SARS-CoV-2 for COVID-19 treatment. J Biomol Struct Dyn. Published online December 8, 2020:1-21. doi:10.1080/07391102.2020.1852117
12. Muhammad Y, Kani YA, Iliya S, et al. Deficiency of antioxidants and increased oxidative stress in COVID-19 patients: A cross-sectional comparative study in Jigawa, Northwestern Nigeria. SAGE Open Med. 2021;9:205031212199124. doi:10.1177/2050312121991246
13. Puspwardojo IA, Ngestiningsih D, Johan A. Pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap kadar superoxide dismutase (SOD) plasma pada tikus

sprague dawley yang terpapar asap rokok. Published online 2016.

14. Topcagic A, Cavar Zeljkovic S, Karalija E, Galijasevic S, Sofic E. Evaluation of phenolic profile, enzyme inhibitory and antimicrobial activities of *Nigella sativa* L. seed extracts. *Bosn J Basic Med Sci.* 2017;17(4):286-294. doi:10.17305/bjbms.2017.2049
15. Sirait RC, Tjahjono K, Setyawati AN. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Kadar MDA Serum Tikus Sprague Dawley Setelah Diberikan Paparan Asap Rokok. *Diponegoro Med J (Jurnal Kedokt Diponegoro)*; Vol 5, No 4 J Kedokt DIPONEGORO. Published online 2016. doi:10.14710/dmj.v5i4.15824
16. Saleh FA, El-Darra N, Raafat K, Ghazzawi I El. Phytochemical Analysis of *Nigella sativa* L. Utilizing GC-MS Exploring its Antimicrobial Effects against Multidrug- Resistant Bacteria. *Pharmacogn J.* 2017;10(1):99-105. doi:10.5530/pj.2018.1.18
17. Nagoor Meeran MF, Javed H, Al Taei H, Azimullah S, Ojha SK. Pharmacological Properties and Molecular Mechanisms of Thymol: Prospects for Its Therapeutic Potential and Pharmaceutical Development. *Front Pharmacol.* 2017;8. doi:10.3389/fphar.2017.00380
18. Balan DJ, Rajavel T, Das M, Sathya S, Jeyakumar M, Devi KP. Thymol induces mitochondrial pathway-mediated apoptosis via ROS generation, macromolecular damage and SOD diminution in A549 cells. *Pharmacol Reports.* 2021;73(1):240- 254. doi:10.1007/s43440-020-00171-6
19. Khazdair MR, Ghafari S, Sadeghi M. Possible therapeutic effects of *Nigella sativa* and its thymoquinone on COVID-19. *Pharm Biol.* 2021;59(1):694-701. doi:10.1080/13880209.2021.1931353

20. Torequl Islam M. Biological Activities And Therapeutic Promises Of *Nigella Sativa* L. *Int J Pharma Sci Res.* 2016;2(6):237-252. doi:10.25141/2471-6782- 2016-6.0237
21. Yimer EM, Tuem KB, Karim A, Ur-Rehman N, Anwar F. *Nigella sativa* L. (Black Cumin): A Promising Natural Remedy for Wide Range of Illnesses. *Evidence- Based Complement Altern Med.* 2019;2019:1-16. doi:10.1155/ 2019/1528635
22. Elfiky AA. Natural products may interfere with SARS-CoV-2 attachment to the host cell. *J Biomol Struct Dyn.* Published online May 5, 2020:1-10. doi:10.1080/07391102.2020.1761881
23. Kadil Y, Mouhcine M, Filali H. In Silico Investigation of the SARS CoV2 Protease with Thymoquinone Major Constituent of *Nigella Sativa*. *Curr Drug Discov Technol.* 2020;17. doi:10.2174/15701638176662007121 64406
24. Tayebi HM El, Tayebi HM El, Elgohary S. Thymoquinone and COVID-19. Published online 2020.
25. Bakadia BM, Boni BOO, Ahmed AAQ, Yang G. The impact of oxidative stress damage induced by the environmental stressors on COVID-19. *Life Sci.* 2021;264:118653. doi:10.1016/j.lfs.2020.118653
26. Ardiana M, Pikir BS, Santoso A, Hermawan HO, Al-Farabi MJ. Effect of *Nigella sativa* Supplementation on Oxidative Stress and Antioxidant Parameters: A Meta- Analysis of Randomized Controlled Trials. *Sci World J.* 2020;2020:1-7. doi:10.1155/2020/2390706
27. El-Gindy Y, Zeweil H, Zahran S, El-Rahman MA, Eisa F. Hematologic, lipid profile, immunity, and antioxidant status of growing rabbits fed black seed as natural antioxidants. *Trop Anim Health Prod.* 2020;52(3):999-1004. doi:10.1007/s11250-019-02091-x
28. Hosseinzadeh H, Tavakkoli A, Mahdian V, Razavi BM. Review on Clinical Trials of Black Seed (*Nigella sativa*) and Its Active Constituent, Thymoquinone. *J*

- Pharmacopuncture. 2017;20(3):179-193. doi:10.3831/KPI.2017.20.021
29. Puspowardojo IA, Ngestiningsih D, Johan A. Pengaruh pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap kadar superoxide dismutase (SOD) plasma pada tikus sprague dawley yang terpapar asap rokok. Published online 2016.
 30. Maideen NMP. Prophetic Medicine-Nigella Sativa (Black cumin seeds) – Potential herb for COVID-19? *J Pharmacopuncture*. 2020;23(2):62-70. doi:10.3831/KPI.2020.23.010
 31. Bordoni L, Fedeli D, Nasuti C, et al. Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of *Nigella sativa* Oil in Human Pre-Adipocytes. *Antioxidants*. 2019;8(2):51. doi:10.3390/antiox8020051
 32. Badary O, Hamza MS, Tikamdas R. Thymoquinone: A Promising Natural Compound with Potential Benefits for COVID-19 Prevention and Cure. *Drug Des Devel Ther*. 2021;Volume 15:1819-1833. doi:10.2147/DDDT.S308863
 33. Tallei TE, Tumilaar SG, Niode NJ, et al. Potential of Plant Bioactive Compounds as SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro) and Spike (S) Glycoprotein Inhibitors: A Molecular Docking Study. Riganti C, ed. *Scientifica* (Cairo). 2020;2020:1-18. doi:10.1155/2020/6307457
 34. Rahman MT. Potential benefits of combination of *Nigella sativa* and Zn supplements to treat COVID-19. *J Herb Med*. 2020;23:100382. doi:10.1016/j.hermed.2020.100382
 35. Koshak AE, Koshak EA, Mobeireek AF, et al. *Nigella sativa* supplementation to treat symptomatic mild COVID-19: A structured summary of a protocol for a randomised, controlled, clinical trial. *Trials*. 2020;21(1):703. doi:10.1186/s13063-020-04647-x
 36. Ashraf S, Ashraf S, Ashraf M, et al. Honey and *Nigella sativa* against COVID-19 in Pakistan (HNS-COVID-PK): A multi-

- center placebo-controlled randomized clinical trial.
medRxiv. Published online 2020.
doi:10.1101/2020.10.30.20217364
37. Badary O, Hamza MS, Tikamdas R. Thymoquinone: A Promising Natural Compound with Potential Benefits for COVID-19 Prevention and Cure. *Drug Des Devel Ther.* 2021;Volume 15:1819-1833. doi:10.2147/DDDT.S308863
 38. Canning, P., Sorrell, F. J., and Bullock, A. N. Structural basis of Keap1 interactions with Nrf2. *Free Radical Biology and Medicine.* 2015; 88(Part B), 101–107. Available from: doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.05.034
 39. Suhartono E, Setawan B., Idroes R., Indrawan MS. Estimation of leaf antioxidant activity using image processing. *J. Phys.: Conf. Ser.* 2019; 1374 (012057) Available from: doi.org/10.1088/1742-6596/1374/1/012057.

BAB IV: METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini yaitu penelitian eksperimental, *clinical trial* dengan *single blind* pada pasien COVID-19 derajat sedang untuk mengetahui pengaruh pemberian *Nigella Sativa* terhadap gejala klinis, aktivitas enzim *Superoxide dismutase*, *Catalase*, dan kadar *Malondialdehyde*, serta kemudian dievaluasi menggunakan analisis *in silico* dengan *molecular docking*.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah pasien COVID-19 dengan derajat sedang yang dirawat di RSUD Ulin di Ruang Isolasi Mawar, RSUD Dr. H. Moch. Ansari Saleh dan RSUD Sultan Suriansyah Banjarmasin pada bulan Mei – Oktober 2022.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah seluruh pasien COVID-19 derajat sedang yang dirawat di Ruang Isolasi Mawar RSUD Ulin, ruang isolasi RSUD Dr. H. Moch. Ansari Saleh dan RSUD Sultan Suriansyah Banjarmasin dari Bulan Mei – Oktober 2022 sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria Inklusi:

- Usia ≥ 18 – 65 tahun.
- Pasien COVID-19 terkonfirmasi dengan derajat sedang.
- Bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

Kriteria Eksklusi:

- Pasien COVID-19 derajat ringan, berat, atau kritis.
- Pasien COVID-19 yang sedang hamil dan menyusui.
- Pasien COVID-19 yang mendapatkan terapi tambahan seperti anti-IL6, Plasma Konvalesen dan Intravena Immunoglobulin.

- Pasien penyakit liver yang berat (nilai SGOT/SGPT > 5x dari nilai batas normal).
- Pasien dengan penyakit gagal ginjal kronis.

Drop Out:

- Pasien menyatakan mundur atau meninggalkan dunia dari penelitian.
- Pasien tidak teratur saat mengikuti protokol penelitian.
- Pasien yang mengalami kondisi perburukan sehingga ditetapkan sebagai kasus derajat kritis dan atau memerlukan ventilasi mekanis.

4.2.3 Teknik Pengambilan Sampel

Sampel penelitian ditentukan dengan *Consecutive sampling* pada pasien yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. *Consecutive sampling* merupakan teknik *non-probability sampling* paling baik karena sebagian besar penelitian klinis menggunakan teknik ini dalam pengambilan sampel penelitian. Pada teknik ini semua sampel penelitian yang memenuhi kriteria inklusi sampai kurun waktu tertentu diambil sehingga jumlah sampel terpenuhi. Setiap prosedur penelitian telah disetujui sebelumnya oleh Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat, RSUD Ulin, RSUD Dr. H. Moch. Ansari Saleh dan RSUD Sultan Suriansyah Banjarmasin. Pasien secara sukarela berpartisipasi dalam penelitian dan menandatangani formulir persetujuan atau *informed consent*.

Sampel untuk penelitian ini dibagi menjadi tiga kelompok penelitian. Kelompok tersebut terdiri dari kelompok pasien yang diberikan *Nigella sativa* dengan dosis 1x600 mg, kelompok pasien yang diberikan *Nigella sativa* dengan dosis 2x600 mg, dan kelompok tanpa perlakuan sebagai kontrol. Besaran sampel pada penelitian ini dihitung berdasarkan rumus *Federrer* dengan perhitungan:

$$(r - 1)(t - 1) \geq 15$$

t = Jumlah perlakuan

$$(r - 1)(3 - 1) \geq 15$$

n = Jumlah replikasi

$$(r - 1)(2) \geq 15$$

$$2r - 2 \geq 15$$

$$r = (15 + 2)/2$$

$$r = 17/2 = 8.5 \approx 9$$

Dengan demikian jumlah sampel minimal adalah sebanyak 30 pasien.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

Variabel bebas : *Nigella sativa*

Variabel terikat : Gejala dan tanda klinis (batuk, demam, dispnea, takipnea dan saturasi oksigen), aktivitas enzim *Superoxide dismutase*, enzim *Catalase*, dan kadar *Malondialdehyde* pada serum.

Variabel pengganggu : Usia, jenis kelamin, komorbid, pemberian antioksidan selain *Nigella sativa* (NAC, vitamin C, vitamin D) dan penggunaan kortikosteroid.

4.3.2 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Skala
Pasien COVID-19 terkonfirmasi	Pasien COVID-19 terkonfirmasi Swab PCR yang dirawat di Ruang Isolasi Mawar RSUD Ulin Banjarmasin.	Kategorik
Pasien COVID-19 derajat sedang	Pasien yang memiliki tanda klinis pneumonia (demam, batuk, sesak, serta napas cepat tanpa adanya tanda pneumonia berat)	Kategorik

	dan atau status oksigenasi dengan SpO2 93 - 95 % dengan udara ruangan.	
Gejala dan tanda klinis	Gejala klinis sebagai parameter mengacu tanda klinis pada pasien COVID-19 derajat sedang, meliputi demam, batuk, sesak (dispnea), napas cepat tanpa adanya tanda pneumonia berat (takipnea) serta saturasi oksigen > 93%	Kategorik
Pemberian <i>Nigella Sativa</i>	Pemberian <i>Nigella sativa</i> kapsul dosis 1x600mg dan 2x600mg selama 10 hari.	Kategorik
Aktivitas enzim <i>Catalase</i> (CAT)	Dilihat dari kemampuan enzim <i>Catalase</i> dalam mengkatalisis H ₂ O ₂ menjadi air dan O ₂ molekuler. Aktivitas enzim <i>Catalase</i> diukur menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 240 nm. Hasil yang diperoleh dicatat sebagai kadar CAT plasma dalam satuan U/L	Numerik
Aktivitas enzim <i>Superoxide dismutase</i> (SOD)	Enzim yang dihasilkan dari stres oksidatif. Penghitungan enzim menggunakan metode <i>Misra</i> dan <i>Fridovich</i> kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan $\lambda = 480$ nm. Hasil yang diperoleh dicatat sebagai kadar SOD plasma dalam satuan U/L	Numerik

Aktivitas <i>Malondialdehyde</i> (MDA)	Pengukuran dengan menggunakan 100 μ L serum dimasukkan ke dalam tabung reaksi, yang diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang λ maks =532 nm. Hasil yang diperoleh dicatat sebagai kadar MDA plasma dalam satuan ng/ml.	Numerik
<i>In Silico</i>	Menggunakan metode <i>molecular docking</i> dengan menggunakan server <i>Patchdock</i> . Hasil <i>molecular docking</i> adalah energi ikatan (ΔG) dan ikatan hidrogen yang terbentuk. Metabolit <i>Nigella sativa</i> yang digunakan berupa (<i>Thymoquinone</i> , <i>Beta-pinene</i> , <i>Linoleic acid</i> dan <i>Thymol</i>) dan dievaluasi pada KEAP1 sel tubuh (PDB: 5CGJ) yang diperoleh dari data base protein (rcsb.org). Hasil <i>docking</i> divisualisasikan dengan program Chimera 1.14.	Numerik

4.4 Molecular Docking pada *Nigella sativa*

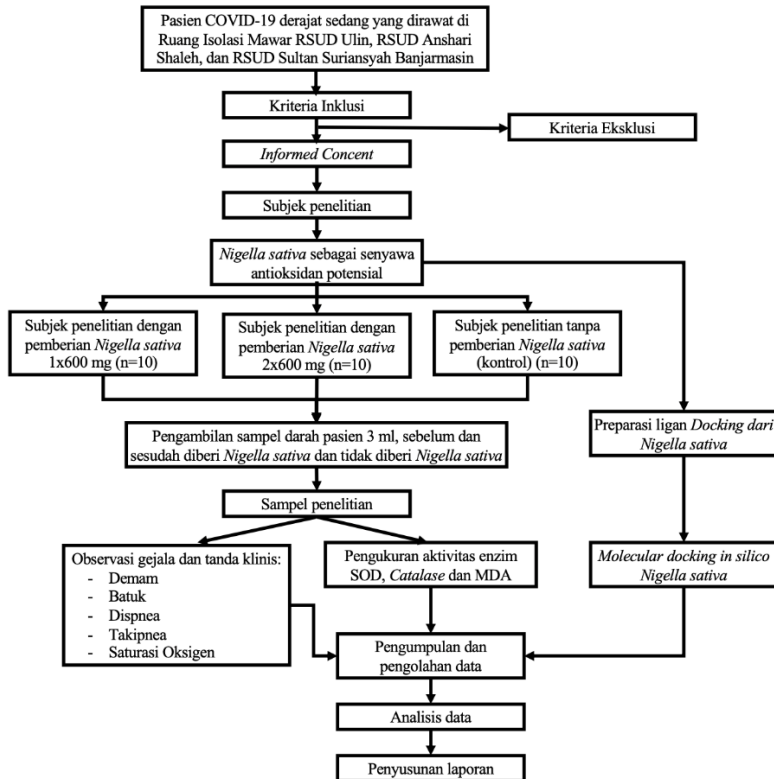
Metode *in silico* adalah kajian penelitian dalam bidang biologi dan kimia yang berbasis komputasi, dengan menggunakan teknologi komputer dan database sebagai pengembangan penelitian lebih lanjut. Metode *in silico* terdiri dari tahapan prediksi, pengajuan hipotesis, hingga didapatkan hasil berupa temuan baru dalam pengobatan dan terapi. Salah satu penerapan metode *in silico* adalah dengan menggunakan *molecular docking*.

Penelitian ini dilakukan dengan cara mengamati model interaksi *ligand-protein* menggunakan kajian *in silico*. Pengamatan dimulai dengan preparasi senyawa ligan *docking* yang didapat dari hasil analisis kromatografi dari *Nigella sativa* sebagai ligan. Rumus senyawa berasal dari database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Senyawa tersebut, yaitu: *Thymoquinone* (CID: 10281), *Beta-pinene* (CID: 14896), *Linoleic acid* (CID: 5280450), dan *Thymol* (CID: 6989). Selanjutnya struktur 3D senyawa divualisasikan melalui program Chimera 1.14. Preparasi ligan meliputi *minimize structure*, penambahan hidrogen, dan pengaturan muatan yang dilakukan dengan program Chimera 1.14. Hasil preparasi ligan disimpan dalam file dengan format *.pdb untuk persiapan *molecular docking*.

Molecular docking dilakukan dengan menggunakan server *Patchdock*. Domain makro sel yang dipilih sebagai reseptor adalah KEAP1 (PDB: 5CGJ) yang diperoleh dari data base protein (rcsb.org). Hasil *docking* divisualisasikan dengan program Chimera 1.14. Data yang akan ditampilkan adalah *Atomic Contact Energy*, ikatan hidrogen, dan interaksi hidrofob antara ligan dan residu asam amino dari protein reseptor *docking*. Analisis akan dilakukan secara deskriptif dengan membandingkan gambar hasil visualisasi interaksi antara senyawa ligan (*Nigella sativa*) melalui program Chimera 1.1.4 serta energi ikatan (ΔG) dan ikatan hidrogen yang terbentuk.

4.5 Alur Penelitian

Alur penelitian ini disajikan pada gambar 4.1



Gambar 4.1 Alur Penelitian Pengaruh Pemberian *Nigella sativa* dalam Menurunkan Kerusakan Oksidatif pada Pasien COVID-19: Kajian Klinis dan *In Silico*.

4.6 Prosedur Pengolahan Sampel dan Pengumpulan Data

Sampel dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu kelompok perlakuan dengan pemberian *Nigella sativa* 1x600 mg, kelompok perlakuan dengan pemberian *Nigella sativa* 2x600 mg, serta kelompok kontrol tanpa diberikan suplementasi *Nigella sativa*. Sebelum perlakuan dan setelah 10 hari perlakuan, pasien diambil darahnya untuk dibuat serum, dengan cara mengambil 3 mL darah kemudian dimasukkan ke dalam tabung merah lalu disentrifugasi 300 rpm selama 10 menit. Cairan yang berwarna bening hasil

sentrifugasi diambil dan digunakan untuk pengukuran kerusakan oksidatif.

Pengukuran enzim SOD dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 500 μL supernatant dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 800 μL buffer karbonat 100 mM pH 10,2 dan 100 μL 12 efinefrin 3 mM. Ukuran serapan pada panjang gelombang 480 nm sebagai A0. Setelah 15 detik ukur lagi serapan pada panjang gelombang 480 nm sebagai A1. Satu unit SOD didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang menghambat 50 % autooksidasi efinefrin.

Pengukuran *Catalase* dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 0,1 ml serum ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan sebanyak 1,9 ml buffer fosfat pH 7,0 konsentrasi 50 mM dan 1 mL larutan H_2O_2 30 mM. Reaksi dimulai setelah penambahan H_2O_2 kemudian baca absorpsi pada panjang gelombang 570 nm (A0). Ukur kembali serapan absorpsi pada panjang gelombang 570 nm setelah 30 detik (A1). Blanko diukur dengan mencampurkan 2,9 ml buffer fosfat 50 mM pH 7 dengan H_2O_2 sebanyak 0.1 ml.

Pengukuran *Malondialdehyde* dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 100 μL serum kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 550 μL , 100 μL TCA, 100 μL HCL 1 N ,100 μL NaThio 1 % dan dihomogenkan kembali. Setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit, dipanaskan dalam *water bath* 1000 Celcius selama 30 menit, lalu kemudian diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum (λ maks = 532 nm).

Sumber data yang digunakan penelitian ini yaitu data primer yang dikumpulkan berdasarkan hasil pemeriksaan aktivitas enzim *Superoxide dismutase*, enzim *Catalase* dan MDA pada serum pasien COVID-19 sebelum dan sesudah dilakukan pemberian *Nigella sativa* serta observasi gejala dan tanda klinis seperti demam, batuk, dispnea, takipnea dan saturasi oksigen. Masing-masing data selanjutnya dibuat tabulasi data berbentuk tabel dan kemudian di analisa.

4.7 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan program *SPSS (Statistical Package for the Social Sciences)* versi 25.1. Data dianalisis melalui uji homogenitas dan normalitas. Karena jumlah sampel yang diuji sedikit, uji distribusi data menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, dan diuji homogenitas variannya dengan uji *Levene's test*.

i. Analisis Univariat

Analisis univariat berguna untuk memaparkan nilai persebaran data atau masing-masing variabel penelitian melalui statistik deskriptif atau ringkasan data yang dikumpulkan sehingga diperoleh informasi yang jelas misalnya nilai *mean*, modus, dan standar deviasi kemudian dapat disajikan dalam bentuk tabel, grafik atau ukuran statistik lainnya.

ii. Analisis Bivariat

Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilakukan analisis parametrik menggunakan uji *One Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0.05$). Jika sebaran data tidak terdistribusi normal dan homogen, maka uji statistik yang digunakan adalah uji *Kruskal-Wallis* dengan tingkat kepercayaan 95%.

iii. Analisis Multivariat

Analisis multivariat merupakan analisis yang menggunakan variabel lebih dari dua variabel. Analisis Multivariat menggunakan *Manova (Multivariate Analysis of Variance)* untuk menguji perbedaan variansi vektor *mean* aktivitas enzim SOD, CAT, dan MDA pada pasien COVID-19 setelah pemberian *Nigella Sativa* selama 10 hari.

4.8 Metode *In Silico*

Pendekatan *in silico* saat ini telah menjadi salah satu metode yang efektif digunakan untuk menganalisis potensi suatu senyawa. Metode *in silico* adalah kajian penelitian dalam bidang biologi dan

kimia yang berbasis komputasi, dengan menggunakan teknologi komputer dan database sebagai pengembangan penelitian lebih lanjut. Metode *in silico* terdiri dari tahapan prediksi, pengajuan hipotesis, hingga didapatkan hasil berupa temuan baru dalam pengobatan dan terapi. Penggunaan metode ini untuk memprediksi efek farmakologi suatu senyawa kimia terhadap target gen yang diteliti. Salah satu penerapan metode *in silico* adalah dengan menggunakan *molecular docking*.^{18-20,38}

Molecular Docking adalah studi tentang interaksi senyawa kimia sebagai ligan dengan reseptor protein yang saling bertautan antara satu dengan lainnya. *Molecular docking* menggunakan prosedur komputasional yang digunakan untuk mengetahui, memahami serta memprediksi keadaan suatu molekuler yang menggambarkan interaksi antara molekul obat sebagai ligan dengan reseptor. Proses komputasi tersebut akan mencari ligan yang menunjukkan adanya kecocokan geometris dan kecocokan energi (memprediksi afinitas ikatan). Metode dengan proses penambatan molekuler yang akurat dapat memberikan keuntungan dalam memangkas waktu, energi, serta biaya yang dibutuhkan dibandingkan metode konvensional. Dengan *molecular docking* dapat diketahui gambaran aktivitas senyawa tanpa perlu melakukan sintesis senyawa terlebih dahulu. Analisis potensi senyawa dengan teknik *molecular docking* dilakukan secara bertahap, mulai dari persiapan ligan hingga pemilihan protein target, *docking*, dan uji ADME (adsorpsi, distribusi, metabolisme dan juga ekskresi).^{16,17,41,42}

Persiapan ligan dilakukan dengan pengunduhan data sekuen DNA atau protein yang diperoleh melalui percobaan laboratorium yang kemudian disimpan dalam berkas komputer. Data dapat diunduh melalui *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), yang merupakan sebuah arsip terbuka yang berisi informasi secara luas berbagai entitas kimia, termasuk 18 molekul kecil, lipid, karbohidrat, asam amino (yang dimodifikasi secara kimiawi), serta urutan asam nukleat (termasuk siRNA/ *small interfering RNA* dan

miRNA). Setiap berkas sekuen berisi informasi mengenai asal organisme, sekuens, dan nomor akses yang digunakan untuk mengidentifikasi sekuens tersebut. Selain struktur sekuens, makromolekul seperti DNA RNA, dan protein juga dipresentasikan dalam bentuk struktur tiga dimensinya yaitu format PDB (*Protein Data Bank*).^{42,43}

Rumus senyawa *Nigella sativa* sebagai ligan yang akan diteliti diambil dari database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) berupa: *Thymoquinone* (CID: 10281), *Beta-pinene* (CID: 14896), *Linoleic acid* (CID: 5280450), dan *Thymol* (CID: 6989). Sedangkan domain makro yang dipilih sebagai reseptor adalah KEAP1 (PDB: 5CGJ) pada sel tubuh yang diperoleh dari data base protein (rcsb.org). Hasil *docking* kemudian divisualisasikan dengan program Chimera 1.14.^{18,19}

Hasil dari penambatan molekul kemudian dianalisis dengan energi bebas Gibbs/energi ikatan, ikatan hidrogen dan kemiripan residu asam amino dari masing-masing ligan yang diuji dan dapat dilihat pada tabel visualisasi. Hasil *molecular docking* adalah energi ikatan dan ikatan hidrogen yang terbentuk. Energi ikatan atau energi bebas Gibbs (ΔG) digunakan untuk menunjukkan kekuatan ikatan antara senyawa dengan protein. Secara termodinamika reaksi metabolisme dalam tubuh berlangsung secara eksergonik dan endergonik. Reaksi eksergonik merupakan reaksi yang dapat menghasilkan energi bebas Gibbs, yaitu energi untuk melakukan kerja pada suhu dan tekanan yang tetap. Reaksi eksergonik dapat menimbulkan energi ikatan molekul pereaksi menjadi turun, karena energi ikatan tersebut dibebaskan pada saat reaksi berlangsung maka dapat menyebabkan energi ikatan produk menjadi lebih rendah dibandingkan dengan energi ikatan pereaksi. Semakin rendah energi ikatan suatu molekul, maka molekul tersebut semakin stabil serta reaksi berjalan secara spontan. Jika $\Delta G < 0$ maka reaksi berjalan spontan (reaksi berjalan ke produk). $\Delta G = 0$ maka reaksi berjalan reversibel. Jika $\Delta G > 0$ maka reaksi tidak terjadi. Hal ini yang disebut dengan keseimbangan termodinamika

karena semakin negatif energi ikatan maka reaksi akan semakin spontan serta memiliki ikatan yang stabil. Jenis ikatan hidrogen yang terbentuk digunakan untuk menganalisis mekanisme suatu interaksi yang terbentuk.⁴⁴

DAFTAR PUSTAKA

1. Azer SA. COVID-19: pathophysiology, diagnosis, complications and investigational therapeutics. *New Microbes New Infect.* 2020;37:100738. doi:10.1016/j.nmni.2020.100738
2. Yuki K, Fujiogi M, Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clin Immunol.* 2020;215:108427. doi:10.1016/j.clim.2020.108427
3. World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. Published 2021. Accessed November 24, 2021. <https://covid19.who.int/>
4. World Health Organization. WHO Indonesia Situation Report – 81. *Int Organ.* 2021;8(4):586-588. doi:10.1017/S0020818300007645
5. Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical–therapeutic staging proposal. *J Hear Lung Transplant.* 2020;39(5):405-407. doi:10.1016/j.healun.2020.03.012
6. Sun X, Wang T, Cai D, et al. Cytokine storm intervention in the early stages of COVID-19 pneumonia. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020;53:38-42. doi:10.1016/j.cytogfr.2020.04.002
7. Wang J, Jiang M, Chen X, Montaner LJ. Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts. *J Leukoc Biol.* 2020;108(1):17-41. doi:10.1002/JLB.3COVR0520 -272R
8. Doğan S, Bal T, Çabalak M, Dikmen N, Yaqoobi H, Ozcan O. Oxidative stress index can be a new marker related to disease

- severity in COVID-19. *Turkish J Biochem.* 2021;46(4):349-357. doi:10.1515/tjb-2021-0013
9. Iddir M, Brito A, Dingo G, et al. Strengthening the Immune System and Reducing Inflammation and Oxidative Stress through Diet and Nutrition: Considerations during the COVID-19 Crisis. *Nutrients.* 2020;12(6):1562. doi:10.3390/nu12061562
 10. Cekerevac I, Turnic TN, Draginic N, et al. Predicting Severity and Intrahospital Mortality in COVID-19: The Place and Role of Oxidative Stress. Kocic G, ed. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;2021:1-15. doi:10.1155/2021/6615787
 11. Suhartono E. *Toksistas Oksigen Reaktif Dan Antioksidan Di Bidang Kedokteran Dan Kesehatan.* Gosjen Publishing; 2016.
 12. Parwata IMO. Bahan Ajar Antioksidan. *Kim Terap Progr Pascasarj Univ Udayana.* 2016;(April):1-54.
 13. Jing M, Han G, Wan J, et al. Catalase and superoxide dismutase response and the underlying molecular mechanism for naphthalene. *Sci Total Environ.* 2020;736:139567. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.139567
 14. Islam MN, Hossain KS, Sarker PP, et al. Revisiting pharmacological potentials of Nigella sativa seed: A promising option for COVID-19 prevention and cure. *Phyther Res.* 2021;35(3):1329-1344. doi:10.1002/ptr. 6895
 15. Li J, Lei J, He L, Fan X, Yi F, Zhang W. Evaluation and Monitoring of Superoxide Dismutase (SOD) Activity and its Clinical Significance in Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Med Sci Monit.* 2019;25:2032-2042. doi:10.12659/MSM.913375
 16. Mehri F, Rahbar AH, Ghane ET, Souri B, Esfahani M. Changes in oxidative markers in COVID-19 patients. *Arch Med Res.* 2021;52(8):843-849. doi:10.1016/j.arcmed.2021.06.004
 17. Untari EK, Wahdaningsih S, Damayanti A. Efek Fraksi n-Heksana Kulit *Hylocereus polyrhizus* Terhadap Aktivitas

- Katalase Tikus Stres Oksidatif. *Pharm Sci Res.* 2014;1(3):141-153. doi:10.7454/psr.v1i3.3489
18. Nandi A, Yan L-J, Jana CK, Das N. Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age- Associated Degenerative Diseases. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:1-19. doi:10.1155/2019/9613090
 19. Qin M, Cao Z, Wen J, et al. An Antioxidant Enzyme Therapeutic for COVID-19. *Adv Mater.* 2020;32(43):2004901. doi:10.1002/adma.202004901
 20. Situmorang N, Zulham Z. *Malondialdehyde* (MDA) (Zat Oksidan Yang Mempercepat Proses Penuaan). *J Keperawatan Dan Fisioter.* 2020;2(2):117-123. doi:10.35451/jkf.v2i2.338
 21. Siddiqui S, Upadhyay S, Ahmad R, et al. Virtual screening of phytoconstituents from miracle herb *Nigella sativa* targeting nucleocapsid protein and papain-like protease of SARS-CoV-2 for COVID-19 treatment. *J Biomol Struct Dyn.* Published online December 8, 2020:1-21. doi:10.1080/07391102.2020.1852117
 22. Muhammad Y, Kani YA, Iliya S, et al. Deficiency of antioxidants and increased oxidative stress in COVID-19 patients: A cross-sectional comparative study in Jigawa, Northwestern Nigeria. *SAGE Open Med.* 2021;9:205031212199124. doi:10.1177/2050312121991246
 23. Topcagic A, Cavar Zeljkovic S, Karalija E, Galijasevic S, Sofic E. Evaluation of phenolic profile, enzyme inhibitory and antimicrobial activities of *Nigella sativa* L. seed extracts. *Bosn J Basic Med Sci.* 2017;17(4):286-294. doi:10.17305/bjbms.2017.2049
 24. Saleh FA, El-Darra N, Raafat K, Ghazzawi I El. Phytochemical Analysis of *Nigella sativa* L. Utilizing GC-MS Exploring its Antimicrobial Effects against Multidrug- Resistant Bacteria. *Pharmacogn J.* 2017;10(1):99-105. doi:10.5530/pj.2018.1.18
 25. Demir E, Taysi S, Ulusal H, Kaplan DS, Cinar K, Tarakcioglu M. *Nigella sativa* oil and thymoquinone reduce oxidative stress in the brain tissue of rats exposed to total head irradiation. *Int J*

- Radiat Biol.* 2020;96(2):228-235.
doi:10.1080/09553002.2020.1683636
26. Nagoor Meeran MF, Javed H, Al Taei H, Azimullah S, Ojha SK. Pharmacological Properties and Molecular Mechanisms of Thymol: Prospects for Its Therapeutic Potential and Pharmaceutical Development. *Front Pharmacol.* 2017;8. doi:10.3389/fphar.2017.00380
 27. Balan DJ, Rajavel T, Das M, Sathya S, Jeyakumar M, Devi KP. Thymol induces mitochondrial pathway-mediated apoptosis via ROS generation, macromolecular damage and SOD diminution in A549 cells. *Pharmacol Reports.* 2021;73(1):240-254. doi:10.1007/s43440-020-00171-6
 28. Khazdair MR, Ghafari S, Sadeghi M. Possible therapeutic effects of *Nigella sativa* and its thymoquinone on COVID-19. *Pharm Biol.* 2021;59(1):694-701. doi:10.1080/13880209.2021.1931353
 29. Torequl Islam M. Biological Activities And Therapeutic Promises Of *Nigella Sativa L.* *Int J Pharma Sci Res.* 2016;2(6):237-252. doi:10.25141/2471-6782- 2016-6.0237
 30. Yimer EM, Tuem KB, Karim A, Ur-Rehman N, Anwar F. *Nigella sativa L.* (Black Cumin): A Promising Natural Remedy for Wide Range of Illnesses. *Evidence- Based Complement Altern Med.* 2019;2019:1-16. doi:10.1155/ 2019/1528635
 31. Elfiky AA. Natural products may interfere with SARS-CoV-2 attachment to the host cell. *J Biomol Struct Dyn.* Published online May 5, 2020:1-10. doi:10.1080/07391102.2020.1761881
 32. Kadil Y, Mouhcine M, Filali H. In Silico Investigation of the SARS CoV2 Protease with Thymoquinone Major Constituent of *Nigella Sativa.* *Curr Drug Discov Technol.* 2020;17. doi:10.2174/15701638176662007121 64406
 33. Tayebi HM El, Tayebi HM El, Elgohary S. Thymoquinone and COVID-19. Published online 2020.

34. Bakadia BM, Boni BOO, Ahmed AAQ, Yang G. The impact of oxidative stress damage induced by the environmental stressors on COVID-19. *Life Sci.* 2021;264:118653. doi:10.1016/j.lfs.2020.118653
35. Ardiana M, Pikir BS, Santoso A, Hermawan HO, Al-Farabi MJ. Effect of Nigella sativa Supplementation on Oxidative Stress and Antioxidant Parameters: A Meta- Analysis of Randomized Controlled Trials. *Sci World J.* 2020;2020:1-7. doi:10.1155/2020/2390706
36. El-Gindy Y, Zeweil H, Zahran S, El-Rahman MA, Eisa F. Hematologic, lipid profile, immunity, and antioxidant status of growing rabbits fed black seed as natural antioxidants. *Trop Anim Health Prod.* 2020;52(3):999-1004. doi:10.1007/s11250-019-02091-x
37. Maideen NMP. Prophetic Medicine-Nigella Sativa (Black cumin seeds) – Potential herb for COVID-19? *J Pharmacopuncture.* 2020;23(2):62-70. doi:10.3831/KPI.2020.23.010
38. Bordoni L, Fedeli D, Nasuti C, et al. Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of Nigella sativa Oil in Human Pre-Adipocytes. *Antioxidants.* 2019;8(2):51. doi:10.3390/antiox8020051
39. Badary O, Hamza MS, Tikamdas R. Thymoquinone: A Promising Natural Compound with Potential Benefits for COVID-19 Prevention and Cure. *Drug Des Devel Ther.* 2021;Volume 15:1819-1833. doi:10.2147/DDDT.S308863
40. Tallei TE, Tumilaar SG, Niode NJ, et al. Potential of Plant Bioactive Compounds as SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro) and Spike (S) Glycoprotein Inhibitors: A Molecular Docking Study. Riganti C, ed. *Scientifica (Cairo).* 2020;2020:1-18. doi:10.1155/2020/6307457
41. Pandey P, Khan F, Mazumder A, Rana AK, Srivastava Y. Inhibitory Potential of Dietary Phytochemicals of Nigella sativa against Key Targets of Novel Coronavirus (COVID-19).

- Indian J Pharm Educ Res.* 2021;55(1):190-197.
doi:10.5530/ijper.55.1.21
42. Suhud F. Uji Aktivitas In-silico Senyawa Baru 1-Benzil-3-benzoilurea Induk dan Tersubstitusi sebagai Agen Antiproliferatif. *J Farm Indones.* 2015;7(4):245-251.
43. Kim S, Thiessen PA, Cheng T, et al. Literature information in PubChem: associations between PubChem records and scientific articles. *J Cheminform.* 2016;8(1):32.
doi:10.1186/s13321-016-0142-6
44. Rastini MBO, Giantari NKM, Adnyani KD, Laksmiani NPL. Molecular Docking Aktivitas Antikanker Dari Kuersetin Terhadap Kanker Payudara Secara In Silico. *J Kim.* Published online July 31, 2019:180. doi:10.24843/JCHEM.2019.v13.i02.p09

BAB V : EFEK *NIGELLA SATIVA* SEBAGAI ANTIOKSIDAN: LABORATORIUM DAN ASPEK KLINIS

5.1 Alur Penelitian

Penelitian ini merupakan uji klinis multisenter, acak, dengan *clinical trial single blind* untuk mengetahui pengaruh pemberian *Nigella Sativa* terhadap gejala klinis, aktivitas enzim *Superoxide dismutase*, *Catalase*, *Malondialdehyde*, *Peroksida* dan AOPP, serta kemudian dievaluasi menggunakan analisis *in silico* dengan *molecular docking*. Alur penelitian disajikan pada gambar 5.1.

Setelah pasien terkonfirmasi PCR SARS CoV2 positif, pasien yang memenuhi kriteria inklusi/eksklusi, akan dimasukkan ke dalam kelompok secara berurutan, pasien 1 masuk kelompok 1 (Kelompok 1x600 mg), pasien ke 2 masuk kelompok 2 (Kelompok 2x600 mg), pasien ke 3 masuk kelompok 3 (Kelompok Kontrol) dan seterusnya.

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah usia $\geq 18 - 65$ tahun, pasien COVID-19 terkonfirmasi dengan derajat sedang dan bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani *informed consent*. Sedangkan kriteria eksklusi antara lain : Pasien COVID-19 derajat ringan, berat, atau kritis, pasien COVID-19 yang sedang hamil dan menyusui, pasien COVID-19 yang mendapatkan terapi tambahan seperti anti-IL6, Plasma Konvalesen dan Intravena Immunoglobulin, pasien penyakit liver yang berat (nilai SGOT/SGPT $> 5x$ dari nilai batas normal) dan pasien dengan penyakit gagal ginjal kronis.

Untuk kriteria *dropout* adalah pasien menyatakan mundur atau meninggal dunia dari penelitian, pasien tidak teratur saat mengikuti protokol penelitian dan pasien yang mengalami kondisi

perburukan sehingga ditetapkan sebagai kasus derajat kritis dan atau memerlukan ventilasi mekanis.

Pasien akan dilakukan pemeriksaan darah, sampel darah diambil dari vena sebanyak 3cc kemudian dilakukan sentrifugasi 300 rpm selama 10 menit. Cairan yang berwarna bening hasil sentrifugasi diambil dan digunakan untuk pengukuran kerusakan oksidatif, yaitu *Superoxide dismutase*, *Catalase*, *Malondyaldehyde*, Peroksida dan Oksidasi Protein (AOPP). Subjek penelitian diberikan suplemen berupa kapsul *Nigella sativa* selama 10 hari.



Gambar 5. 1 Alur penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel awal sebesar 30 orang, yang akan dikelompokkan dalam 3 kelompok dan dibandingkan antara kelompok yang satu dengan yang lainnya serta bagaimana terjadi kerusakan terhadap sel-sel dalam darahnya. Namun, dalam penelitian ini hanya mendapatkan 27 pasien walaupun sudah dilakukan di multisenter dikarenakan beberapa alasan, yaitu meliputi penurunan angka infeksi COVID-19 dibandingkan Tahun 2019-2021, sulitnya menemukan pasien COVID-19 derajat sedang karena masyarakat sudah mendapatkan vaksin dan *booster* sehingga ketika mereka terinfeksi COVID-19 pun gejala yang dirasakan hanya gejala derajat ringan.

COVID-19 merupakan penyakit yang telah menjadi masalah kesehatan yang cukup serius di seluruh dunia yang disebabkan oleh SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*). Penyakit ini memiliki tingkat penularan yang sangat tinggi dan mengakibatkan kematian lebih dari 6 juta kematian di seluruh dunia hingga menyebabkan krisis pada kesehatan secara global.¹ Mengingat bahaya virus ini, sangat disayangkan bahwa hingga saat ini terapi yang diberikan untuk pasien COVID-19 hanya terapi suportif dan simptomatik sesuai dengan gejala. Terapi yang sepenuhnya efektif untuk meningkatkan hasil pada pasien COVID-19 masih belum tersedia.²

Antivirus dapat diberikan pada pasien COVID-19 namun berdasarkan sebuah penelitian sistematis review bahwa antivirus lebih efektif bila diberikan pada awal perjalanan penyakit. Meskipun begitu, pada kenyataannya tidak ada pengobatan antivirus yang menunjukkan efektivitas yang signifikan dalam mengurangi kematian akibat COVID-19.³ Hanya beberapa antivirus yang diperbolehkan untuk digunakan, seperti *baloxavir marboxil*, *lopinavir/ritonavir* (LPV/r), *atazanavir*, *sofosbuvir*, *daclatasvir*, *remdesivir*, *ribavirin*, *favipiravir*, *umifenovir* (*Arbidol*), *azvudine* dan *novaferon*. Hasil *Sofosbuvir/daclatasvir* menunjukkan perbaikan klinis, meskipun kekuatan statistiknya rendah. *Remdesivir* menunjukkan kemanjuran dalam mengurangi waktu pemulihan, tetapi hasilnya tidak konsisten di seluruh uji coba. Antibiotik dan antifungi boleh diberikan jika terbukti ada ko-infeksi pada pasien COVID-19. Kortikosteroid banyak digunakan selama pandemi COVID-19, namun tidak terdapat bukti yang signifikan terhadap penggunaannya dan WHO menyarankan untuk tidak menggunakan kortikosteroid kecuali dengan indikasi yang lain.⁴

Gejala penyakit ini sangat bervariasi setiap orang, namun sebagian besar pasien mengalami demam (83-99%), batuk (59-82%), kelelahan (44-70%), anoreksia (40-84%), sesak napas (31-40%), produksi dahak (28-33%) dan mialgia (11-35%).⁵ Dilaporkan

bahwa diantara gejala minor yang dialami, dua per tiga pasien COVID-19 mengalami gangguan penciuman dan pengecapan.⁶ Sebagian besar pasien COVID-19 berkembang menjadi penyakit dengan gejala pneumonia, gagal nafas, bahkan kematian. Perkembangan ini dikaitkan dengan adanya peningkatan secara ekstrim pada sitokin inflamasi termasuk IL2, IL7, IL10, GCSF, IP10, MCP1, MIP1A, dan TNF α .⁷ Penelitian menunjukkan stress oksidatif dalam perjalanan penyakit COVID-19 dapat menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid dan respons antioksidan total yang tidak adekuat, sehingga replikasi virus dan penularan virus juga meningkat.⁸ Mengingat penyakit ini belum ada terapi definitif dan perjalanan penyakit COVID-19 sangat erat berkaitan dengan stress oksidatif, sehingga hal ini bisa dikontrol dengan terapi selain yang telah disebutkan di atas. Sebuah penelitian membuktikan bahwa madu dan *Nigella sativa* mampu membentuk sifat antivirus, antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, dan imunomodulator sehingga bisa menurunkan *viral load* yang signifikan pada pasien COVID-19.⁹

5.2 Karakteristik subjek penelitian

Penelitian dilakukan dengan membagi sampel menjadi 3 kelompok, dengan jumlah masing-masing kelompok sebanyak 9 orang diberikan *Nigella sativa* dosis 1x600 mg, 9 orang diberikan *Nigella sativa* 2x600 mg, dan 9 orang tanpa pemberian *Nigella sativa* sebagai kelompok kontrol. Pasien akan diambil serum darahnya sebelum perlakuan dan setelah 10 hari perlakuan (Hari ke 11). Lokasi penelitian ini dilakukan pada pasien COVID-19 derajat sedang di Ruang Isolasi RSUD Ulin, RSUD Dr. H. Moch. Ansari Saleh, dan RSUD Sultan Suriansyah Banjarmasin. Karakteristik data umum yang didapatkan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Pada penelitian ini didapatkan jumlah sampel sebanyak 27 pasien. Berdasarkan jenis kelamin, sampel penelitian hampir sama persentase totalnya, namun jumlah pasien tetap didominasi oleh

laki-laki sebanyak 14 (52%) dengan masing-masing 3 (33%) pada kelompok pemberian *Nigella sativa* dosis 1x600 mg, 7 (78%) pada kelompok pemberian *Nigella sativa* dosis 2x600 mg dan 4 (44%) pada kelompok kontrol. Ditinjau dari umur maka didapatkan usia rata-rata sampel adalah 47 ± 12 tahun.

Laki-laki dinyatakan lebih rentan terinfeksi COVID-19 dibandingkan perempuan. Gelombang COVID-19 pertama di Wuhan dilaporkan didominasi oleh laki-laki dengan persentase 59% dari total kasus.¹⁰ Pandemi COVID-19 saat ini telah menyebabkan jutaan kematian secara global dan secara tidak langsung proporsional berdampak pada laki-laki.¹¹ Beberapa penelitian juga menyatakan bahwa laki-laki merupakan mayoritas pasien dengan proporsi 50-75%.⁷ Temuan epidemiologis di berbagai belahan dunia menunjukkan morbiditas dan mortalitas yang lebih tinggi pada pria daripada perempuan pada COVID-19.¹²

Tabel 5. 1 Karakteristik sampel penelitian pasien COVID-19 derajat sedang

Variabel	Total (n=27)	Kontrol (n=9)	<i>Nigella Sativa</i> dosis 1x600 (n=9)	<i>Nigella Sativa</i> dosis 2x600 (n=9)
Usia – median (IQR)	47 ± 12	45 ± 9	53 ± 12	41 ± 13
Jenis kelamin				
Laki-laki	14 (52%)	4 (44%)	3 (33%)	7 (78%)
Perempuan	13 (48%)	5 (56%)	6 (67%)	2 (22%)
SOD (U/L)				
Pre	27 (100%)	0,018±0,009	0,021± 0,013	0,013± 0,004
Mean ± SD				
Post	27 (100%)	0,031±0,016	0,028±0,004	0,052±0,08
Mean ± SD				
Selisih		0,013	0,007	0,039
CAT (U/L)				
Pre	27 (100%)	3,47±5,63	2,31±2,97	1,33±0,97
Mean ± SD				
Post	27 (100%)	3,69±5,59	3,28±3,4	2,69±1,88
Mean ± SD				
Selisih		0,22	0,97	1,36
MDA (ng/ml)				
Pre	27 (100%)	223±63	348±132	327±190
Mean ± SD				
Post	27 (100%)	209±42	280±79	103±136
Mean ± SD				
Selisih		14	68	224
Peroksida (mg/dl)				
Pre	27 (100%)	0,6±0,27	1,47±1,56	3,49±7,08
Mean ± SD				
Post	27 (100%)	0,5±0,36	0,47±0,36	0,5±0,46
Mean ± SD				
Selisih		0,1	1	2,99
AOPP (mg/dl)				
Pre	27 (100%)	0,89±0,44	2,95±4,08	1,75±1,63
Mean ± SD				
Post	27 (100%)	0,7±0,35	1,15±1,6	0,76±0,26
Mean ± SD				
Selisih		0,19	1,85	0,99

Beberapa faktor yang mendukung seperti ekspresi ACE 2 (*angiotensin-converting enzyme-2*) yang merupakan reseptor untuk coronavirus, lebih tinggi pada pria daripada wanita dan juga terdapat perbedaan imunologis berbasis jenis kelamin yang didorong oleh hormon seks dan kromosom X. Sebagian besar dari perbedaan jumlah kematian ini disebabkan oleh perilaku dan gaya hidup laki-laki seperti merokok dan minum alkohol yang lebih tinggi di kalangan pria dibandingkan dengan wanita sehingga kelompok laki-laki memiliki respons imun yang kurang jika dibandingkan kelompok perempuan, terutama yang tidak merokok dan minum alkohol.¹³

Tingkat kematian kasus COVID-19 dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti usia, kondisi yang mendasari, dan tingkat keparahan

penyakit dan secara signifikan bervariasi antar negara.¹ Pada penelitian ini usia rata-rata sampel adalah 47 ± 12 tahun, dengan masing-masing rata-rata sampel pada kelompok pemberian *Nigella sativa* 1x600 mg adalah 53 ± 12 , kelompok pemberian *Nigella sativa* 2x600 mg adalah 41 ± 12 dan kelompok kontrol 45 ± 12 . Insidensi penyakit COVID-19 tertinggi pada kelompok umur 50–59 tahun, sedangkan angka terendah pada kelompok umur 0–9 tahun.¹⁴ Kelompok usia < 40 tahun ditemukan keparahan penyakit sekitar 30,42% dengan angka kejadian kematian 11,54%, sedangkan kelompok usia 40-60 tahun ditemukan keparahan penyakit sekitar 32,51% dengan angka kejadian kematian adalah 12,84%, pada usia yang lebih tua > 60 tahun, tingkat keparahan penyakit ditemukan sebesar 35,74% dan angka terjadinya kematian sebesar 10,49%.¹⁵

Penelitian pada 99 pasien dengan penyakit COVID-19 di Wuhan menunjukkan rerata usia adalah 55 tahun yang terbagi menjadi 67 laki-laki dan 32 perempuan.⁷ Usia dan komorbiditas secara signifikan terkait dengan lamanya rawat inap terkait COVID-19 dan waktu pemulihan.¹⁶ Komplikasi lebih sering terjadi pada kelompok usia yang lebih tua dan dilaporkan ada 18 kematian, 16 orang diantaranya merupakan responden dari kelompok usia yang lebih tua.¹⁷ Telah diketahui pada penelitian sebelumnya bahwa mortalitas untuk COVID-19 secara dramatis lebih tinggi pada orang tua dan enzim SOD secara signifikan regulasinya menurun terutama pada pasien COVID-19.

Pasien berusia ≥ 60 tahun biasanya memiliki faktor komorbid yang mendasar seperti obesitas, penyakit kardiovaskular, penyakit ginjal kronis, diabetes, penyakit paru kronis, merokok, dan kanker, dimana berbagai komorbid tersebut jika terkait dengan keparahan akibat COVID-19 maka dapat dijumpai dengan adanya peningkatan ROS yang lebih tinggi dan terdapat gangguan mekanisme antioksidan endogen, sehingga memiliki peningkatan risiko terkena COVID-19 dengan gejala sedang berat bahkan kritis.⁶⁵ Hal ini tentu

akan berpengaruh terhadap kadar enzim antioksidan seperti SOD, CAT, MDA, Peroksida dan AOPP.

Penelitian oleh Hamza *et al.*⁷⁹ juga melaporkan bahwa persentase pasien yang meninggal karena COVID-19 ternyata 12 kali lebih tinggi pada mereka yang memiliki komorbid yang sudah ada sebelumnya dibandingkan mereka yang tidak memiliki komorbid dengan perbandingan 19,5% vs 1,6%. Persentase pasien COVID-19 yang membutuhkan rawat inap enam kali lebih tinggi pada mereka yang memiliki komorbid yang sudah ada sebelumnya dibandingkan mereka yang tidak memiliki komorbid dengan perbandingan 45,4% vs 7,6%.¹⁸

5.3 Pengaruh Pemberian *Nigella sativa* terhadap Stres Oksidatif

Nigella sativa sebagai antioksidan eksogen bisa menjadi terapi tambahan untuk pasien COVID-19 untuk membantu keseimbangan kadar oksidan dan antioksidan pada tubuh, karena pada pasien COVID-19 kadar antioksidan dalam tubuh tidaklah cukup untuk memenuhi keseimbangan, sehingga stress oksidatif tetap mendominasi pathogenesis COVID-19.¹⁹ *Nigella sativa* atau yang biasa disebut jintan hitam atau *black cumin* merupakan ramuan herba yang dikenal dengan berbagai manfaatnya dalam kesehatan. Salah satunya adalah efek farmakologis karena memiliki komponen bioaktif utama yang disebut *Thymoquinone* (TQ). *Nigella sativa* dipercaya memiliki kemampuan untuk melemahkan stress oksidatif dan peradangan untuk meningkatkan kekebalan imun, kelangsungan hidup sel, metabolisme energi, perlindungan terhadap gangguan metabolisme, kardiovaskular, pencernaan, hati, ginjal, pernapasan, hati, ginjal, pernapasan, reproduksi, neurologis, kanker dan lain-lain.²⁰

Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada kelompok *Nigella sativa* dengan dosis 1x600 mg dan 2x600 mg pada kadar MDA dan Peroksida dan yang lebih baik dalam menurunkan MDA dan Peroksida adalah kelompok dosis 2x600 mg dengan nilai masing-masing $p < 0.05$ (0.002 dan 0.001).

Responden juga menunjukkan penurunan kadar MDA dan Peroksida dengan pemberian *Nigella sativa* baik itu dosis 1x600 mg ataupun 2x600 mg. Pemberian *Nigella sativa* dosis 1x600 mg mampu menurunkan kadar MDA sebesar 68 ng/ml. Sedangkan pemberian *Nigella sativa* dosis 2x600 mg mampu menurunkan kadar MDA sebesar 224 ng/ml. Sejalan dengan hal tersebut, kadar Peroksida juga menurun. Pemberian *Nigella sativa* dosis 1x600 mg mampu menurunkan kadar Peroksida sebesar 1 mg/dl. Sedangkan pemberian *Nigella sativa* dosis 2x600 mg mampu menurunkan kadar Peroksida sebesar 0.99 mg/dl. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Nigella Sativa* terbukti memiliki kemampuan sebagai antioksidan dengan mengurangi produksi ROS, Peroksida dan *Malondialdehyde* (MDA).²¹ Meskipun terdapat perbedaan bermakna pada MDA dan Peroksida, namun pemberian *Nigella sativa* 1x600 mg, 2x600 mg dan kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap nilai SOD, CAT serta AOPP.

Penelitian lain juga menyebutkan bahwa terapi dengan *Nigella sativa* memberikan hasil yang signifikan terhadap MDA dan NO, namun tidak pada SOD, katalase dan status antioksidan total.²² Hal ini menimbulkan perdebatan karena pada penelitian lainnya, *Nigella Sativa* yang memiliki kadar thymoquinone tingkat tinggi juga mampu meningkatkan produksi dan aktivitas enzim antioksidan seperti *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), *glutathione peroxidase* (GPx), dan *glutathione S transferase* (GSH-ST).⁸⁷ Penelitian metaanalisis dari 293 subjek menunjukkan bahwa pengobatan dengan *Nigella sativa* meningkatkan kadar SOD (48,18; 95% CI 30,29 menjadi 66,08; $p < 0,01$), tetapi tidak ada pengaruh yang signifikan terhadap kadar MDA (-5,32; 95% CI -1,19 hingga 0,128; $p = 0,114$) dan kadar *total antioxidant capacity* (TAC) (0,219; 95% CI -0,136 hingga 0,573; $p = 0,227$).⁸⁸ Diantara semua *marker* yang diuji pada penelitian ini MDA yang paling menunjukkan perbedaan bermakna. Kemungkinan hal ini dikarenakan pembentukan MDA meningkat sesuai stress oksidatif, kadarnya

dapat diukur secara akurat dengan berbagai metode, bersifat stabil dalam sampel cairan tubuh yang diisolasi, tidak dipengaruhi oleh variasi diurnal dan tidak dipengaruhi oleh kandungan lemak diet, merupakan produk spesifik dari peroksidasi lemak, dan terdapat dalam jumlah yang dapat dideteksi pada semua jaringan tubuh dan cairan biologis, sehingga memungkinkan untuk menentukan referensi interval.^{25,26}

5.4 Pengaruh *Nigella Sativa* terhadap Gejala Klinis COVID-19 derajat sedang

Pada penelitian ini gejala klinis COVID-19 derajat sedang diamati perbaikannya dengan pemberian *Nigella sativa* dosis 1x600 mg, 2x600 mg dan pada kelompok kontrol. Pada Tabel 3.2 telah terdapat perbedaan yang tidak signifikan pada rerata harian gejala klinis pasien COVID-19 derajat sedang pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan *Nigella sativa*. Data klinis menunjukkan bahwa *Nigella sativa* dapat mencegah dan mengobati pasien COVID-19 dengan tingkat pemulihan yang lebih cepat.²⁷

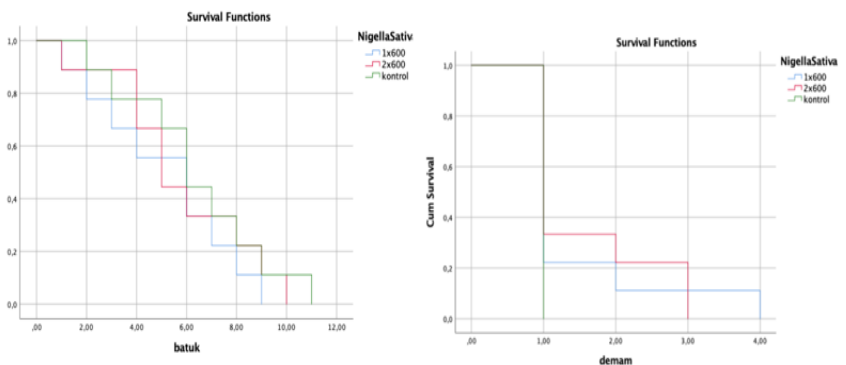
Tabel 5. 2 Data analisis pengaruh *Nigella Sativa* terhadap gejala klinis COVID-19 derajat sedang (dalam satuan hari)

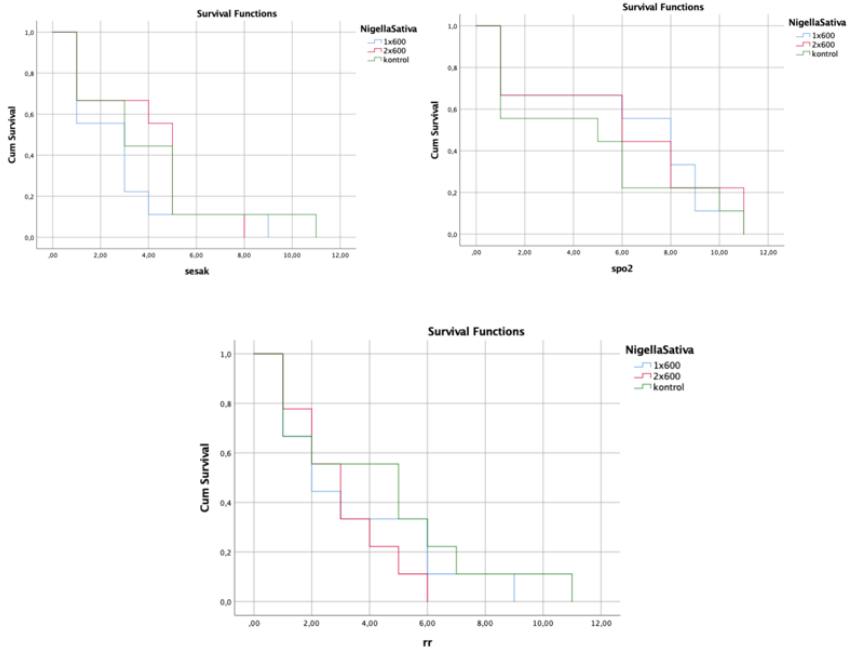
VARIABEL	KELOMPOK (CI 95%)			Nilai P
	Kontrol	<i>Nigella sativa</i> dosis 1x600	<i>Nigella sativa</i> dosis 2x600	
Batuk	6 (4,5-8,2)	5 (3,3-6,9)	6 (3,9-7,6)	0,608
Sesak nafas	4 (1,8-6)	3 (1,2-4,5)	4 (2,3-5,5)	0,422
Demam	1 (1)	1 (0,8-2,1)	2 (1-2,1)	0,228
Saturasi Oksigen	5 (2,1-7,3)	6 (3,4-8,6)	6 (3,2-8,6)	0,729
Frekuensi Nafas	4 (2,1-6,6)	3 (1,6-5,3)	3 (1,9-4,1)	0,488

Meskipun demikian, *Nigella sativa* pada penelitian ini tidak memberikan perbedaan yang signifikan pada rerata harian gejala klinis pasien COVID-19 derajat sedang pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan *Nigella sativa*. Hal ini sejalan dengan penelitian *Randomized Clinical Trial* (RCT) sebelumnya yang

mengungkapkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dari sepuluh hari pengobatan dengan berbagai dosis *Nigella sativa* pada gejala klinis, profil diferensiasi, dan penanda peradangan pasien dengan COVID-19. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa *Nigella sativa* oil dapat memberikan perbaikan gejala klinis dan kesembuhan yang lebih cepat, namun penelitian tersebut hanya dilakukan pada pasien COVID-19 derajat ringan. Ternyata pada penelitian lainnya juga menyebutkan bahwa kombinasi antara *Nigella sativa* dan vitamin D3 sebagai tambahan terapi COVID-19 efektif dalam membantu *viral clearance* dalam waktu singkat, serta pengurangan keparahan dan perkembangan gejala klinis, sehingga tidak hanya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait efek *Nigella sativa* pada pasien derajat sedang, namun juga dapat dipertimbangkan kombinasi *Nigella sativa* dengan obat lainnya untuk memperkuat efek antioksidannya terutama pada pasien COVID-19.

Hasil dari penelitian ini menyebutkan bahwa gejala klinis batuk rata-rata pada kelompok kontrol menghilang pada hari ke-6, sedangkan gejala klinis batuk rata-rata pada pemberian *Nigella sativa* dengan dosis 1x600 mg menghilang pada hari ke-5 dan pada pemberian *Nigella sativa* dosis 2x600 mg menghilang pada hari ke-6.





Gambar 5. 2 Kurva probabilitas *Kaplan-Meier* untuk waktu yang dibutuhkan (dalam hari) terhadap pengurangan gejala pada COVID-19 derajat sedang.

Gejala klinis sesak nafas rata-rata pada kelompok kontrol menghilang pada hari ke-4, sedangkan gejala klinis sesak nafas rata-rata pada pemberian *Nigella sativa* dengan dosis 1x600 mg menghilang pada hari ke-3 dan pada kelompok dosis 2x600 mg menghilang pada hari ke-4. Gejala klinis demam rata-rata pada kelompok kontrol menghilang pada hari ke-1. Hal ini juga terjadi pada kelompok pemberian *Nigella sativa* dengan dosis 1x600 mg dimana demam menghilang pada hari ke-1. Pada kelompok *Nigella sativa* dosis 2x600 mg menghilang pada hari ke-2. *Ashraf et al.* melakukan penelitian pada sampel dengan pemberian madu dan *Nigella sativa* didapatkan hasil pada COVID-19 derajat sedang, pada hari ke 4, lebih dari separuh sampel pada kelompok madu dan *Nigella sativa* menjadi tidak demam sedangkan sampel kelompok kontrol tetap mengalami demam.¹⁴ Saturasi oksigen pada COVID-

19 derajat sedang dimana saturasi oksigen < 94% tetapi lebih dari > 90% dalam suhu ruang udara. Saturasi oksigen rata-rata pada kelompok kontrol membaik pada hari ke-5, sedangkan saturasi oksigen rata-rata pada pemberian *Nigella sativa* dengan dosis 1x600 mg membaik pada hari ke-6. Hal ini juga terjadi pada kelompok *Nigella sativa* dosis 2x600 mg yang membaik pada hari ke-6. Untuk frekuensi nafas rata-rata pada kelompok kontrol membaik pada hari ke-5, sedangkan frekuensi nafas rata-rata pada pemberian *Nigella sativa* dengan dosis 1x600 mg membaik pada hari ke-6 dan pada kelompok dosis 2x600 mg juga membaik pada hari ke-6.

Gejala klinis COVID-19 derajat sedang mengalami perbaikan meskipun tidak signifikan dengan pemberian *Nigella sativa* dosis 1x600 mg, 2x600 mg dan kelompok kontrol. Hal ini bisa disebabkan oleh berbagai macam faktor, salah satunya mungkin karena terapi yang diberikan pada pasien COVID-19 tidak hanya antivirus, namun juga meliputi antioksidan lain seperti vitamin C, vitamin D, NAC (*N-Acetylsistein*), kortikosteroid dan obat-obatan lainnya sebagai terapi simptomatis. Meskipun kortikosteroid seringkali diberikan pada pasien COVID-19, keefektifan dan keamanan kortikosteroid masih belum pasti, sehingga penggunaannya pada pasien COVID-19 masih menjadi perdebatan. Sebuah penelitian sistematik review dan metaanalisis dari beberapa penelitian observasional dan RCT menyatakan bahwa terdapat efek yang menguntungkan dari penggunaan kortikosteroid pada mortalitas pasien COVID-19 jangka pendek dan penurunan kebutuhan ventilasi mekanis.²⁹

Penelitian metaanalisis membuktikan berdasarkan tujuh *randomized controlled trials* dan satu penelitian kohort prospektif menunjukkan bahwa terapi kortikosteroid dikaitkan dengan penurunan angka kematian COVID-19 derajat berat, terutama bila diberikan lebih awal.³⁰ Kortikosteroid tidak hanya memberikan sedikit penurunan mortalitas, namun juga membantu menurunkan kebutuhan ventilasi mekanik dan mengurangi resiko efek samping

yang serius secara signifikan.³¹ Banyak terapi yang menunjukkan bahwa kortikosteroid bisa mengurangi respons inflamasi setelah dievaluasi, namun bukti kuat manfaatnya masih kurang kuat. Penggunaan kortikosteroid diketahui dapat menghambat ROS dan menurunkan kadar LPO, namun jika digunakan dalam waktu jangka panjang, bisa memicu dan meningkatkan kemungkinan terjadinya stress oksidatif.³² Hampir semua pasien yang menjadi responden di penelitian ini diberikan kortikosteroid, sehingga ada kemungkinan hal ini menjadi salah satu keterbatasan dan kekurangan pada penelitian ini (hasil yang kurang signifikan terhadap variable penelitian). Perlu diteliti lebih lanjut interaksi antara kortikosteroid dan *Nigella Sativa* sebagai antioksidan yang diberikan bersamaan pada pasien COVID-19. Tidak hanya pemberian kortikosteroid yang mungkin menjadi bias pada penelitian ini, namun juga pemberian antioksidan lainnya seperti vitamin C dan vitamin D yang bisa mempengaruhi signifikansi *Nigella Sativa* terhadap MDA, CAT, dan SOD.

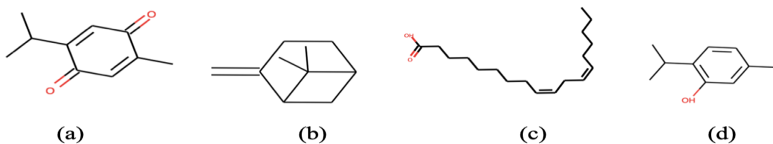
Diketahui pada asam askorbat (vitamin C), merupakan antioksidan umum dan penangkal radikal bebas dengan memiliki sifat anti-inflamasi yang mengurangi mediator- mediator inflamasi seperti IL-6 dan endotelin-1. Asam askorbat ini juga telah terbukti memiliki sifat antimikroba dan imunomodulator serta dapat memblokir beberapa komponen utama pada badai sitokin. Sejauh ini ada empat puluh lima uji klinis yang telah melakukan penelitian menggunakan asam askorbat untuk menguji manfaat terapeutiknya sebagai profilaksis dan terapi tambahan pada COVID-19. Asam askorbat juga merupakan nutrisi esensial sebagai antioksidan, kofaktor, modulator yang mendonorkan elektron serta melindungi molekul dari kerusakan oksidatif, melindungi neutrofil dan fagosit dari stres oksidatif serta mendorong terjadinya apoptosis dan menghambat nekrosis. Vitamin C berguna untuk pembentukan dan pematangan limfosit T dan NK sel, yang mana akan membantu meningkatkan respon imun terhadap infeksi virus.^{73,79}

N-acetylsistein (NAC) ternyata memiliki sifat antioksidan melalui pelepasan gugus sistein sebagai senyawa prekursor dalam proses sintesis *glutathion*. Vitamin D merupakan anti inflamasi dan antioksidan yang kuat yang telah diamati pada beberapa penderita COVID-19. Vitamin D memiliki kemampuan untuk mengurangi aktivasi RAAS (*Renin Angiotensin Aldosterone*) dan dapat menurunkan pembentukan radikal bebas pada COVID-19. Selain itu, dapat menstimulasi induksi sel T dan berfungsi sebagai *homeostasis respiratory* dengan menstimulasi dari ekshibisi anti-mikrobakterial.³³

5.5 Potensi senyawa *Nigella sativa* secara *In silico*

Senyawa bioaktif pada *Nigella Sativa* yang dievaluasi menggunakan pendekatan *in silico* berpotensi dalam meningkatkan enzim *Superoxide dismutase*, meningkatkan enzim *Catalase*, dan menurunkan kadar *Malondialdehyde* pada pasien COVID-19. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Duru *et al.*³⁴ yang menyatakan bahwa pendekatan *in silico* berpotensi dalam meningkatkan enzim *Superoxide dismutase*, meningkatkan enzim *Catalase*, dan menurunkan kadar *Malondialdehyde* pada pasien COVID-19. Menggunakan metode *molecular docking* dengan menggunakan server *Patchdock*. Hasil *molecular docking* adalah energi ikatan (ΔG) dan ikatan hidrogen yang terbentuk.

Metabolit *Nigella sativa* yang digunakan berupa (*Thymoquinone*, *Beta-pinene*, *Linoleic acid* dan *Thymol*) dan dievaluasi pada KEAP1 sel tubuh (PDB: 5CGJ) yang diperoleh dari data base protein (rcsb.org).



Gambar 5. 3 Struktur a) *Thymoquinone*, b) *Beta-pinene*, c) *Linoleic acid*, dan d) *Thymol*

Pada COVID-19 dalam keadaan homeostasis, KEAP1 menghambat aktivitas transkripsi Nrf2. Selain itu, telah diamati pada infeksi SARS-CoV Nrf2 dapat dimodulasi untuk mengurangi potensi infeksi SARS-CoV-2 pada sel inang.

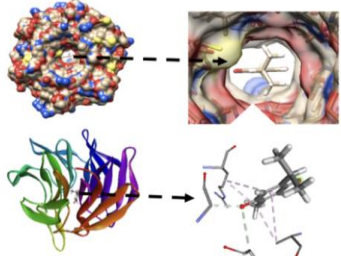
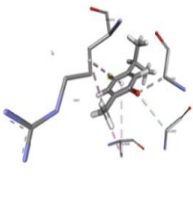
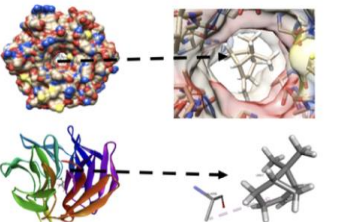
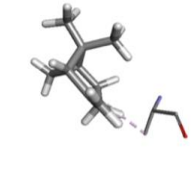
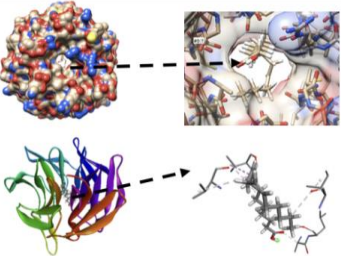
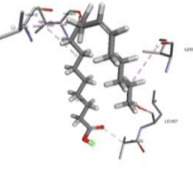
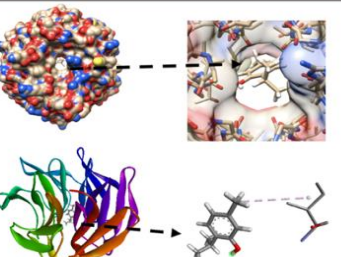
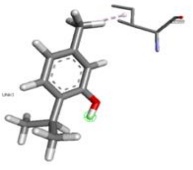
Tabel 5. 3 Hasil *Autodocking* antara senyawa *Nigella sativa* dan KEAP1

Komponen	Atomic Contact Energy (kJ/mol)	Hydrogen bonds		Hydrophobic bonds	
		Residue	Distance	Residue	Distance
<i>Thymoquinone</i>	-162.75	Gly364	2.48758	Ala556	3.98269
				Unk1	3.99049
		Gly603	3.67596	Unk1	5.21244
				Unk1	5.07904
<i>Beta-pinene</i>	-169.70	-	-	Ala556	4.39898
				Val418	5.34699
<i>Linoleic acid</i>	-333.46	Ala556	2.70133	Val465	4.72726
				Val465	5.1009
				Unk1	5.4575
				Ile559	5.38794
<i>Thymol</i>	-162.64	-	-	Ile559	5.38794

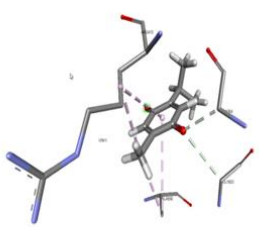
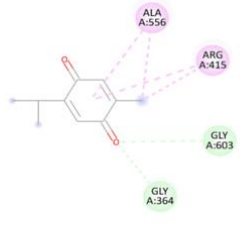
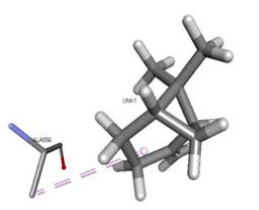
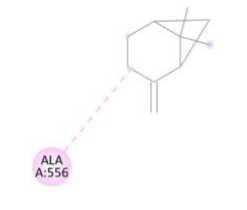
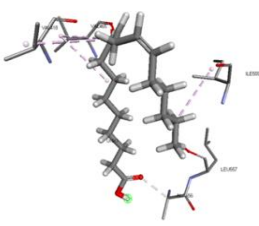
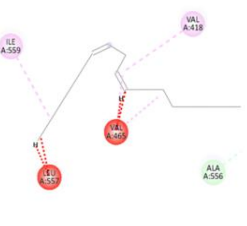
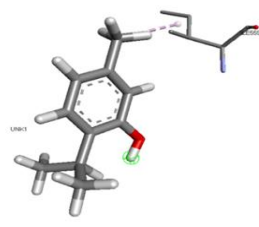
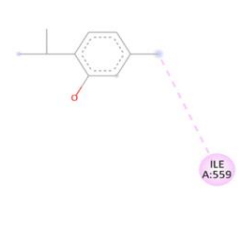
Pada Tabel 5.3 merupakan hasil estimasi afinitas dari masing-masing ligan *Nigella sativa* terhadap reseptor KEAP1 bahwa semua ligan mempunyai afinitas yang kuat, kemudian ligan dengan afinitas tertinggi terdapat pada *Linoleic acid*. Ligan tersebut mempunyai *Atomic molecular energy* sebanyak -333,46 kJ/mol. Ligan dengan nilai ΔG lebih rendah dari -21 kJ/mol diharapkan merupakan ligan yang aktif.³⁴ Keempat ligan memiliki nilai ΔG lebih rendah dari -21.00, namun *Linoleic acid* menunjukkan interaksi paling kuat dengan sisi aktif dari KEAP1.

Hasil *redocking* reseptor-ligan disajikan pada Tabel 3.4 dan Tabel 3.5 Hasil *docking* antara reseptor berupa domain KEAP1 (kode PDB: 5CGJ) dengan ligan berupa beberapa senyawa dilakukan untuk memprediksi interaksi spesifik dari ligan saat menempel pada reseptor. Hasil penelitian menunjukkan bahwa masing-masing senyawa memiliki afinitas tertentu, namun berikatan secara spesifik pada sisi aktif. Interaksi antara ligan dengan reseptor distabilisasi oleh ikatan hidrogen dan reaksi hidrofobik. Terdapat tiga kriteria utama dalam *molecular docking* yaitu intensitas ikatan, pengikatan molekuler dan karakterisasi molekuler.

Tabel 5. 4 Visualisasi *Thymoquinone*, *Beta Pinene*, *Linoleic acid*, & *Thymol* pada KEAP-1

Nama Senyawa	Docking 3D	
<i>Thymoquinone</i>		
<i>Beta-pinene</i>		
<i>Linoleic Acid</i>		
<i>Thymol</i>		

Tabel 5. 5 Visualisasi *Docking* 3D dan 2D beserta jumlah ikatan hidrogen yang terlibat.

Nama Senyawa	<i>Docking</i> 3D	<i>Docking</i> 2D	Jumlah Ikatan Hidrogen
<i>Thymoquinone</i>			02
<i>Beta-pinene</i>			00
<i>Linoleic Acid</i>			01
<i>Thymol</i>			00

Dari Tabel 5.4 dan Tabel 5.5 tersebut didapatkan bahwa afinitas ikatan yang menentukan kuat interaksi antara senyawa dengan protein mengindikasikan kekuatan ikatan yang lebih baik apabila bernilai lebih negatif dan menyatakan semakin baik prediksi

penambatan molekular.³⁵ Pada penelitian ini didapatkan bahwa senyawa *Thymoquinone* berinteraksi dengan residu asam amino *Alanin 556*, *Glycine 603*, *Glycine 364*, dan *Arginine 415* melalui ikatan hidrogen. *Beta-pinene* berinteraksi dengan residu asam amino *Alanine 556* melalui ikatan hidrogen. *Linoleic acid* berinteraksi dengan residu asam amino *Valine 418*, *Valine 465*, *Isoleucine 559*, dan *Leucine 557* melalui ikatan hidrogen. *Thymol* berinteraksi dengan residu asam amino *Isoleucine 559* melalui ikatan hidrogen. Berdasarkan afinitas ikatan, maka urutan kuat afinitas ikatan yaitu *Linoleic acid* > *Thymoquinone* > *Thymol* > *Beta-pinene*.

Jumlah ikatan hidrogen dengan residu asam amino tertinggi terdapat pada *Thymoquinone* (3 ikatan hidrogen dengan 5 residu asam amino), *Linoleic acid* (3 ikatan hidrogen dengan 5 residu asam amino). Semakin banyak ikatan hidrogen yang terbentuk dengan residu asam amino, maka ikatan akan semakin kuat dan stabil.^{35,36}

Sejalan dengan penambatan molekular, evaluasi kandidat obat umumnya dilakukan melalui analisis sifat kemiripan dengan obat (*drug-likeness*) dan profil penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitasnya. Evaluasi sifat mirip obat secara umum dilakukan berdasarkan aturan *Lipinski (rule of five)* sedangkan prediksi ADMET dapat memberikan informasi mengenai bioavabilitas oral, permeabilitas sel, metabolisme, eliminasi, dan toksisitas yang menjadi karakteristik farmakokinetik dan farmakodinamik dari sebuah molekul obat.³⁵

Tabel 5. 6 *Lipinski's Rule of Five*, afinitas pengikatan, dan residu asam amino aktif

Nama senyawa	Formula	<i>Lipinski's Rule of Five</i>		Afinitas Ikatan (kcal/mol)	Residu asam amino aktif
<i>Thymoquinone</i>	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	<i>Molecular weight</i> (≤ 500 Da)	164.20	-7.75	Ala556, Gly603, Gly364, Arg415, Unk1
		<i>LogP</i> (≤ 5)	1.67		
		<i>H bond donor</i> (≤ 5)	0		
		<i>H bond acceptor</i> (≤ 10)	2		
<i>Beta-pinene</i>	C ₁₀ H ₁₆	<i>Molecular weight</i> (≤ 500 Da)	136.24	-6.49	Ala556, Unk1
		<i>LogP</i> (≤ 5)	3		
		<i>H bond donor</i> (≤ 5)	0		
		<i>H bond acceptor</i> (≤ 10)	0		
<i>Linoleic Acid</i>	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	<i>Molecular weight</i> (≤ 500 Da)	280.45	-15.48	Val418, Val465, Ile559, Leu 557, Unk1
		<i>LogP</i> (≤ 5)	5.88		
		<i>H bond donor</i> (≤ 5)	1		
		<i>H bond acceptor</i> (≤ 10)	1		
<i>Thymol</i>	C ₁₀ H ₁₄ O	<i>Molecular weight</i> (≤ 500 Da)	150.22	-7.74	Ile559, Unk1
		<i>LogP</i> (≤ 5)	2.82		
		<i>H bond donor</i> (≤ 5)	1		
		<i>H bond acceptor</i> (≤ 10)	1		

Tabel 5. 7 Hasil prediksi ADMET pada *Thymoquinone*, *Beta pinene*, *Linoleic Acid* dan *Thymol*

Senyawa	HIA	HOB	BBB	PPB (100%)	Inhibisi/substrat CYP	Karsinogenisitas	Toksitas oral akut (Kg/mol)	Kelarutan Dalam Air
<i>Thymoquinone</i>	+	+	+	0.805	Non-inhibitor Non-substrat	Non-karsinogenik	0.6763	-2.006
<i>Beta-pinene</i>	+	+	+	0.559	Non-inhibitor Non-substrat	Non-karsinogenik	0.8344	-4.326
<i>Linoleic Acid</i>	+	+	+	0.749	CYP2C9 substrate CYP1A2 inhibition	Non-karsinogenik	0.8289	-4.04
<i>Thymol</i>	+	+	+	0.892	CYP2C9 substrate CYP2D6 substrate CYP1A2 inhibition	Non-karsinogenik	0.8351	-2.158

The absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity (ADMET) menunjukkan farmakokinetik dan farmakodinamik terlampir pada Tabel 3.6 dan 3.7 dimana senyawa yang dipelajari dalam penelitian ini yaitu *Thymoquinone*, *Beta pinene*, *Linoleic Acid* dan *Thymol*. Pada Tabel 5.9 penelitian ini menunjukkan bahwa *Thymoquinone*, *Beta-pinene*, dan *Thymol* memiliki log P yang memenuhi syarat masing-masing nilai Log P (*Thymoquinone* yaitu 1.67, *Beta-pinene* yaitu 3, dan *Thymol* yaitu

2.82). Ternyata *Linoleic acid* memiliki Log *P* sebesar 5.88 dan hal ini masih memenuhi aturan *Lipinski* karena kandidat obat yang baik tidak boleh melanggar lebih dari satu aturan *Lipinski*.³⁵

Analisis sifat mirip obat (*drug likeness*) berdasarkan aturan *Lipinski* menyatakan bahwa suatu senyawa mempunyai sifat yang mirip dengan obat apabila berat molekul (BM) senyawa kurang dari 500 Dalton, nilai koefisien partisi log *P* kurang dari 5, jumlah donor ikatan hidrogen (*hydrogen bond donor*, HBD) kurang dari 5, dan jumlah akseptor ikatan hidrogen (*hydrogen bond acceptor*, HBA) kurang dari 10. Prediksi profil ADMET memperlihatkan berbagai profil absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas yang meliputi absorpsi pada usus manusia (*human intestinal absorption*, HIA), bioavailabilitas oral manusia (*human oral bioavailability*, HOB), distribusi sawar darah otak (*blood brain barrier*, BBB), ikatan protein plasma (*plasma protein binding*, PPB), parameter inhibisi dan substrat *P-glikoprotein* (Pgp), profil karsinogenisitas dan toksisitas oral akut.³⁵

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 3.7 menunjukkan bahwa senyawa *Thymoquinone*, *Beta-pinene*, *Linoleic acid* dan *Thymol* memiliki nilai positif untuk HIA dan HOB. Hasil ini mengindikasikan penyerapan yang baik pada tubuh manusia dan tingkat penyerapan yang baik pada usus manusia.³⁵

Pada penelitian ini hasil prediksi distribusi terhadap *Thymoquinone*, *Beta-pinene*, *Linoleic acid* dan *Thymol* menunjukkan bahwa keempat senyawa memiliki kemampuan dapat melalui sawar darah otak dan ikatan protein plasma yang cukup baik dengan nilai berturut-turut sebesar 80.5%, 55.9%, 74.9% dan 89.2%. Selanjutnya, dari penelitian ini hasil prediksi distribusi terhadap *Thymoquinone*, *Beta-pinene*, *Linoleic acid* dan *Thymol* menunjukkan bahwa keempat senyawa memiliki kemampuan dapat melalui sawar darah otak (BBB+) dan ikatan protein plasma yang cukup baik dengan nilai berturut-turut sebesar 80.5%, 55.9%, 74.9% dan 89.2%. Distribusi yang baik mensyaratkan

kemampuan penyaluran BBB dan PPB yang baik. Paramater BBB merupakan kemampuan yang memungkinkan pembuluh darah dapat melakukan vaskularisasi sistem saraf pusat (*central nervous system*, CNS) yang mengatur dengan ketat pergerakan ion, molekul, dan sel antara darah dan otak. Kemudian, untuk nilai PPB merupakan derajat distribusi pengikatan protein dalam darah, sehingga tubuh dapat mendistribusikan darah yang telah terikat senyawa obat. Semakin besar kemampuan ikatan protein plasma maka distribusi senyawa obat dalam darah juga semakin baik. Kemampuan ikatan protein plasma ditentukan dalam persentase unit ikatan. Menurut Ashraf S *et al.*, metabolit aktif dalam *Nigella sativa* terdiri dari *Thymoquinone*, *Thymohydroquinone*, *Dithymoquinone*, *Thymol*, *Carvacrol*, *Nigellicine*, *Nigellidine*, dan *Hedrin*. Namun ternyata, *Thymoquinone* memiliki sifat hidrofobik dan memiliki ukuran relatif lebih kecil sehingga dapat dengan mudah melewati membran plasma sel yang terinfeksi. Saat melakukan transit ke sel yang terinfeksi, *Thymoquinone* dapat berikatan dengan membran lipofilik dari virus SARS-CoV-2 karena sifat hidrofobiknya sehingga dapat menghancurkan virus sebelum memasuki sel.¹⁴

Prediksi distribusi dengan parameter inhibisi dan substrat *P-glikoprotein* (Pgp) menjadi penting karena *P-glikoprotein* adalah salah satu pengangkut obat yang menentukan penyerapan dan pengeluaran berbagai obat.³⁷ Hasil prediksi menunjukkan bahwa *Thymoquinone* dan *Beta-pinene* bersifat nonsubstrat dan noninhibitor terhadap *P-glikoprotein*. Sedangkan pada *Linoleic acid* memiliki sifat *CYP2C9 substrate* dan *CYP1A2 inhibition* dan *Thymol* memiliki sifat *CYP2C9 substrate*, *CYP2D6 substrate* dan *CYP1A2 inhibition* terhadap *P-glikoprotein*.³⁵

Pada penelitian ini juga diketahui berat molekul (BM) senyawa *Thymoquinone*, *Beta-pinene*, *Linoleic acid* dan *Thymol* kurang dari 500 Dalton. Sedangkan jumlah donor ikatan hidrogen dan jumlah akseptor ikatan hidrogen dari senyawa-senyawa tersebut sudah sesuai dengan aturan *Lipinski*. Berdasarkan hasil

analisis ini maka penelitian ini dapat dinyatakan bahwa *Thymoquinone*, *Beta-pinene*, *Linoleic acid*, dan *Thymol* memiliki sifat kemiripan dengan obat.³⁵ Berat molekul senyawa adalah < 500 dan hidrofobisitasnya (log P) tidak melebihi 5. Donor ikatan hidrogen (≤ 5 hidrogen) dan akseptor ikatan hidrogen (tidak lebih dari 10 hidrogen) dan dari senyawa tersebut sejalan dengan aturan *Lipinski*. Ikatan yang dapat diputar (tidak lebih dari 3) sejalan dengan aturan tiga, dan nilai toksisitas oral akutnya jauh di bawah 5 mg/kg. *Thymoquinone*, *Beta-pinene*, dan *Thymol* larut dalam air, *Linoleic acid* tidak larut. Adsorpsi di usus manusia dan sawar darah otak dari senyawa tersebut sangat tinggi dan senyawa tersebut tidak bersifat karsinogenik. Hasil ini merupakan indikasi bahwa *Thymoquinone*, *Beta-pinene*, *Linoleic acid*, dan *Thymol* sebenarnya adalah kandidat obat yang sangat baik.³⁵

Tabel 5. 8 Toksisitas pada *Thymoquinone*, *Beta pinene*, *Linoleic Acid* dan *Thymol*

Senyawa	LD 50 (mg/kg)	Hepatotoksitas	Karsinogenisitas	Imunotoksitas	Mutagenisitas	Sitotoksik
<i>Thymoquinone</i>	2400	0.63 inaktif	0.63 inaktif	0.97 inaktif	0.91 inaktif	0.78 inaktif
<i>Beta-pinene</i>	4700	0.8 inaktif	0.66 inaktif	0.97 inaktif	0.95 inaktif	0.71 inaktif
<i>Linoleic Acid</i>	10000	0.55 inaktif	0.64 inaktif	0.96 inaktif	1.0 inaktif	0.71 inaktif
<i>Thymol</i>	640	0.75 inaktif	0.60 inaktif	0.93 inaktif	0.99 inaktif	0.89 inaktif

Tabel 5.8. menunjukkan bahwa diantara empat senyawa, yaitu *Thymoquinone*, *Beta-pinene*, *Linoleic Acid*, dan *Thymol* ternyata *Thymol* merupakan senyawa yang toksik jika dibandingkan dengan senyawa lainnya. Dengan demikian, secara umum *Linoleic acid* merupakan senyawa dengan aktivitas antioksidan yang tidak bersifat hepatotoksik, karsinogenik, imunotoksik, mutagenik atau sitotoksik dengan toksisitas oral akut yang cukup aman.

Dosis Letal tengah atau LD₅₀ adalah tolak ukur statistik setelah pemberian dosis tunggal yang sering dipergunakan untuk menilai tingkatan dosis toksik suatu obat.³⁷ Kriteria klasifikasi dan kategori toksisitas akut oral (mg/kg) jika: Kategori 1 yaitu LD₅₀ \leq 5

(super toksik), Kategori 2 yaitu 5 - 50 mg (sangat toksik), Kategori 3 yaitu > 50 - 500 mg (toksik), Kategori 4 yaitu > 500 - 2000 mg (toksik sedang), Kategori 5 yaitu >2000 - 5000 mg (toksik ringan) dan kategori 6 bila LD₅₀ > 5000 mg (tidak toksik). Semakin besar LD₅₀ suatu obat maka semakin aman obat tersebut.³⁷ Dari penelitian ini didapatkan *Thymoquinone* masuk tingkat toksisitas V (toksik ringan), *Beta-pinene* masuk tingkat toksisitas V (toksik ringan), *Linoleic acid* masuk tingkat toksisitas VI (tidak toksik) dan *Thymol* termasuk ke dalam golongan toksisitas oral akut kategori IV (toksik sedang). Sehingga dapat disimpulkan bahwa dalam penelitian ini *Linoleic acid* merupakan senyawa yang tidak toksik.³⁷

DAFTAR PUSTAKA

1. Cascella, Marco, Michael Rajnik, Abdul Aleem, Scott C. Dulebohn, and Raffaella Di Napoli. 2022. *Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19)*. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776>
2. Tjahyanto, Teddy, Eldy Eldy, Clarissa Felicia, Karmenia Jessica Karmenia Jessica, and Olivia Larissa. 2022. "Aktivitas Antivirus Polifenol sebagai Profilaksis dan Terapi Potensial dalam Penanganan Covid-19." *Jurnal Health Sains* 3 (2): 311–30. <https://doi.org/10.46799/jhs.v3i2.428>.
3. Vegivinti, Charan Thej Reddy, Kirk W. Evanson, Hannah Lyons, Izzet Akosman, Averi Barrett, Nicole Hardy, Bernadette Kane, et al. "Efficacy of Antiviral Therapies for COVID-19: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials." *BMC Infectious Diseases* 22 (January): 107. 2020. <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07068-0>.
4. Russell, Millar, and Baillie. Clinical Evidence Does Not Support Corticosteroid Treatment for 2019-nCoV Lung Injury. *Lancet Elsevier*. 15-21 February 2020; 395(10223): 473–475.

Published online 2020 Feb 7. doi: [10.1016/S0140-6736\(20\)30317-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30317-2)

5. Guan, Wei-jie, Zheng-yi Ni, Yu Hu, Wen-hua Liang, Chun-quan Ou, Jian-xing He, Lei Liu, et al. 2020. "Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China." *The New England Journal of Medicine*, February, NEJMoa2002032. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>.
6. Moratto, Daniele, Marco Chiarini, Viviana Giustini, Federico Serana, Paola Magro, Aldo Maria Roccaro, Luisa Imberti, Francesco Castelli, Luigi Daniele Notarangelo, and Eugenia Quiros-Roldan. 2020. "Flow Cytometry Identifies Risk Factors and Dynamic Changes in Patients with COVID-19." *Journal of Clinical Immunology* 40 (7): 970–73. <https://doi.org/10.1007/s10875-020-00806-6>.
7. Chen, Nanshan, Min Zhou, Xuan Dong, Jieming Qu, Fengyun Gong, Yang Han, Yang Qiu, et al. 2020. "Epidemiological and Clinical Characteristics of 99 Cases of 2019 Novel Coronavirus Pneumonia in Wuhan, China: A Descriptive Study." *Lancet (London, England)* 395 (10223): 507–13. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7).
8. Hussain, Tarique, Bie Tan, Yulong Yin, Francois Blachier, Myrlene C. B. Tossou, and Najma Rahu. 2016. "Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us?" *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016: 7432797. <https://doi.org/10.1155/2016/7432797>.
9. Ashraf, Sohaib, Shoaib Ashraf, Moneeb Ashraf, Muhammad Ahmad Imran, Larab Kalsoom, Uzma N. Siddiqui, Iqra Farooq, et al. n.d. "Honey and Nigella Sativa against COVID-19 in Pakistan (HNS-COVID-PK): A Multicenter Placebo-Controlled Randomized Clinical Trial." *Phytotherapy Research* n/a (n/a). Accessed November 29, 2022. <https://doi.org/10.1002/ptr.7640>.
10. Rauf, Abdur, Tareq Abu-Izneid, Ahmed Olatunde, Anees Ahmed Khalil, Fahad A. Alhumaydhi, Tabussam Tufail,

- Mohammad Ali Shariati, et al. 2020. "COVID-19 Pandemic: Epidemiology, Etiology, Conventional and Non-Conventional Therapies." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17 (21): 8155. <https://doi.org/10.3390/ijerph17218155>.
11. Chaturvedi, Rahul, Briana Lui, Jamie A Aaronson, Robert S White, and Jon D Samuels. n.d. "COVID-19 Complications in Males and Females: Recent Developments." *Journal of Comparative Effectiveness Research* 11 (9): 689–98. <https://doi.org/10.2217/cer-2022-0027>.
 12. Jin, Jian-Min, Peng Bai, Wei He, Fei Wu, Xiao-Fang Liu, De-Min Han, Shi Liu, and Jin-Kui Yang. 2020. "Gender Differences in Patients With COVID-19: Focus on Severity and Mortality." *Frontiers in Public Health* 8 (April): 152. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00152>.
 13. Bwire, George M. 2020. "Coronavirus: Why Men Are More Vulnerable to Covid-19 Than Women?" *Sn Comprehensive Clinical Medicine* 2 (7): 874–76. <https://doi.org/10.1007/s42399-020-00341-w>.
 14. Kalantari, Hamidreza, Aida Haji Hossein Tabrizi, and Fatemeh Foroohi. 2020. "Determination of COVID-19 Prevalence with Regards to Age Range of Patients Referring to the Hospitals Located in Western Tehran, Iran." *Gene Reports* 21 (December): 100910. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100910>.
 15. Hamza, Adnan, Naveed Nazir Shah, Aaliya M. Azad, Ojha S. Ghanshyam, and Zaid Khan. 2022. "Impact of Age, Gender and Comorbidities Affecting the Severity of COVID-19 Infection in Kashmir." *Journal of Family Medicine and Primary Care* 11 (4): 1519–24. https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc_278_21.
 16. Amin, Md. Tanzilul, Mahmud Hasan, and N. M. Mahmudul Alam Bhuiya. 2021. "Prevalence of Covid-19 Associated Symptoms, Their Onset and Duration, and Variations Among Different Groups of Patients in Bangladesh." *Frontiers in Public*

<https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.738352>.

17. Neves, Maria Teresa, Leonor Vasconcelos de Matos, Ana Carolina Vasques, Inês Egídio Sousa, Inês Ferreira, Susana Peres, Susana Jesus, Cândida Fonseca, and Kamal Mansinho. 2021. "COVID-19 and Aging: Identifying Measures of Severity." *SAGE Open Medicine* 9 (June): 20503121211027464. <https://doi.org/10.1177/20503121211027462>.
18. Stokes, Erin K., Laura D. Zambrano, Kayla N. Anderson, Ellyn P. Marder, Kala M. Raz, Suad El Burai Felix, Yunfeng Tie, and Kathleen E. Fullerton. 2020. "Coronavirus Disease 2019 Case Surveillance — United States, January 22–May 30, 2020." *Morbidity and Mortality Weekly Report* 69 (24): 759–65. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6924e2>.
19. Aykac, Kubra, Yasemin Ozsurekci, Burcu Ceylan Cura Yayla, Sibel Lacinel Gurlevik, Pembe Derin Oygur, Nuriye Boduc Bolu, Medine Aysin Tasar, et al. 2021. "Oxidant and Antioxidant Balance in Patients with COVID-19." *Pediatric Pulmonology* 56 (9): 2803–10. <https://doi.org/10.1002/ppul.25549>.
20. Hannan, Md. Abdul, Md. Ataur Rahman, Abdullah Al Mamun Sohag, Md. Jamal Uddin, Raju Dash, Mahmudul Hasan Sikder, Md. Saidur Rahman, et al. 2021. "Black Cumin (*Nigella Sativa* L.): A Comprehensive Review on Phytochemistry, Health Benefits, Molecular Pharmacology, and Safety." *Nutrients* 13 (6): 1784. <https://doi.org/10.3390/nu13061784>.
21. Guergouri, Fatima Zohra, Widad Sobhi, and Mustapha Benboubetra. 2018. "Antioxidant Activity of Algerian *Nigella Sativa* Total Oil and Its Unsaponifiable Fraction," September. <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/2628>.
22. Hadi, Vahid, Sorayya Kheirouri, Mohammad Alizadeh, Alireza Khabbazi, and Hossein Hosseini. 2016. "Effects of *Nigella Sativa* Oil Extract on Inflammatory Cytokine Response and Oxidative Stress Status in Patients with Rheumatoid Arthritis:

- A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial." *Avicenna Journal of Phytomedicine* 6 (1): 34–43.
23. Kazemi, Mohsen. 2014. "Phytochemical Composition, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Antimicrobial Activity of *Nigella Sativa* L. Essential Oil." *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.914857>.
 24. Ardiana, M., B. S. Pikir, A. Santoso, H. O. Hermawan, and M. J. Al-Farabi. 2020. "Effect of *Nigella Sativa* Supplementation on Oxidative Stress and Antioxidant Parameters: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials." *TheScientificWorldJournal* 2020: 2390706. <https://doi.org/10.1155/2020/2390706>.
 25. Arican, Ozer, Ergul Belge Kurutas, and Sezai Sasmaz. 2005. "Oxidative Stress in Patients With Acne Vulgaris." *Mediators of Inflammation* 2005 (6): 380–84. <https://doi.org/10.1155/MI.2005.380>.
 26. Rudi Susantha, I. Nyoman. n.d. "PERANAN KADAR SERUM MALONDIALDEHID SEBAGAI RISIKO TERJADINYA ABORTUS IMINENS." *E-Journal Obstetric & Gynecology Udayana*.
 27. Imran, Mohd, Shah Alam Khan, Abida, Mohammed Kanan Alshammari, Saif M. Alkhaldi, Fayez Nafea Alshammari, Mehnaz Kamal, et al. 2022. "*Nigella Sativa* L. and COVID-19: A Glance at The Anti-COVID-19 Chemical Constituents, Clinical Trials, Inventions, and Patent Literature." *Molecules* 27 (9): 2750. <https://doi.org/10.3390/molecules27092750>.
 28. Said, Shima A., Alsayed Abdulbaset, Amal A. El-Kholy, Osama Besckales, and Nagwa A. Sabri. 2022. "The Effect of *Nigella Sativa* and Vitamin D3 Supplementation on the Clinical Outcome in COVID-19 Patients: A Randomized Controlled Clinical Trial." *Frontiers in Pharmacology* 13 (November): 1011522. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1011522>.
 29. Paassen, Judith van, Jeroen S. Vos, Eva M. Hoekstra, Katinka M. I. Neumann, Pauline C. Boot, and Sesmu M. Arbous. 2020. "Corticosteroid Use in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis on Clinical Outcomes." *Critical Care* 24

- (December): 696. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03400-9>.
30. Li, Han, Bingdi Yan, Rong Gao, Jin Ren, and Junling Yang. 2021. "Effectiveness of Corticosteroids to Treat Severe COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies." *International Immunopharmacology* 100 (November): 108121. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108121>.
 31. Vegivinti, Charan Thej Reddy, Kirk W. Evanson, Hannah Lyons, Izzet Akosman, Averi Barrett, Nicole Hardy, Bernadette Kane, et al. 2022. "Efficacy of Antiviral Therapies for COVID-19: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials." *BMC Infectious Diseases* 22 (January): 107. <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07068-0>.
 32. Torres, Ronaldo Lopes, Iraci Lucena da Silva Torres, Gabriela Laste, Maria Beatriz Cardoso Ferreira, Paulo Francisco Guerreiro Cardoso, and Adriane Belló-Klein. 2014. "Effects of Acute and Chronic Administration of Methylprednisolone on Oxidative Stress in Rat Lungs." *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 40 (3): 238–43. <https://doi.org/10.1590/S1806-37132014000300006>.
 33. Nor, M, Haryati, The First Case of Covid-19 in South Kalimantan. *JURNAL RESPIRASI, SEPTEMBER 2020, VOL 06 (03)*; 67-74
 34. Abouelela, M. E., Assaf, H. K., Abdelhamid, R. A., Elkhyat, E. S., Sayed, A. M., Oszako, T., Belbahri, L., El Zowalaty, A. E., & Abdelkader, M. S. A. (2021). Identification of potential SARS-CoV-2 main protease and spike protein inhibitors from the genus aloe: An in silico study for drug development. *Molecules*, 26(6).
 35. Nusantoro, Fadlan. Analisis Sifat Mirip Obat, Prediksi ADMET, dan Penambatan Molekular Isatinil-2- Aminobenzoilhidrazon dan kompleks logam transisi Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) Terhadap BCL2-XL. *Akta Kimia Indonesia* 5(2), 2020, 114-126. DOI: <http://dx.doi.org/10.12962/j25493736.v5i2.7881>

36. Tallei, T. E., Tumilaar, S. G., Niode, N. J., Fatimawali, Kepel, B. J., Idroes, R., Effendi, Y., Sakib, S. A., & Emran, T. Bin. (2020). Potential of Plant Bioactive Compounds as SARS-CoV- 2 Main Protease (Mpro) and Spike (S) Glycoprotein Inhibitors: A Molecular Docking Study. Scientifica, 2020
37. Pengawas Obat dan Makanan. PEDOMAN UJI TOKSISITAS PRAKLINIK SECARA IN VIVO. RANCANGAN 20 NOVEMBER 2020. <https://jdih.pom.go.id/download/product/1192/-/2020>

BAB VI : KESIMPULAN DAN SARAN

Pemberian *Nigella Sativa* pada pasien COVID-19 tidak memberikan perbedaan bermakna terhadap nilai SOD, CAT dan AOPP pada kelompok dosis 1x600 mg, kelompok 2x600 dan kelompok kontrol. Pemberian *Nigella Sativa* pada pasien COVID-19 memberikan perbedaan bermakna terhadap nilai MDA dan Peroksida pada kelompok dosis 1x600 mg dan 2x600 mg.

Pada kelompok pemberian *Nigella sativa* dosis 1x600 dan 2x600 mg dapat menurunkan nilai MDA dan Peroksida dan yang lebih baik dalam menurunkan adalah kelompok pemberian *Nigella sativa* dosis 2x600 mg.

Linoleic acid menunjukkan interaksi paling kuat dengan sisi aktif dari KEAP1. *Linoleic acid* merupakan senyawa dengan aktivitas antioksidan yang tidak bersifat hepatotoksik, karsinogenik, imunotoksik, mutagenik atau sitotoksik dengan toksisitas oral akut yang cukup aman.

Thymol merupakan senyawa yang toksik jika dibandingkan dengan senyawa lainnya.

Saran untuk penelitian ini adalah :

- *Nigella Sativa* dapat menjadi pertimbangan sebagai terapi antioksidan tambahan pada pasien COVID-19 derajat sedang.
- Penelitian selanjutnya dapat menggunakan subjek yang lebih banyak dengan sebaran data yang homogen. Jumlah responden yang terbatas pun dapat menjadi salah satu alasan yang memungkinkan memberi pengaruh bias terhadap hasil penelitian ini. Total sampel yang minimal didapatkan adalah 30 orang, namun peneliti hanya bisa mendapatkan 27 responden walaupun sudah dilakukan di multisenter di Ruang Isolasi RSUD Ulin, RSUD Dr. H. Moch. Ansari Saleh, dan RSUD Sultan Suriansyah Banjarmasin dan dikarenakan beberapa alasan, meliputi penurunan angka infeksi COVID-19 dibandingkan tahun 2019- 2021, sulitnya menemukan pasien COVID-19 derajat

sedang karena masyarakat sudah mendapatkan vaksin dan booster sehingga ketika mereka terinfeksi COVID-19 pun gejala yang dirasakan hanya gejala derajat ringan.

- Penelitian selanjutnya dapat mengendalikan faktor pengganggu berupa jenis pengobatan yang didapat, komorbid dan onset penyakit secara lebih ketat. Penelitian selanjutnya dapat dilakukan pada pasien COVID-19 derajat ringan dan berat untuk mengetahui efektivitas *Nigella Sativa* terhadap derajat keparahan lainnya.
- Hasil penelitian dapat digunakan sebagai bahan edukasi masyarakat dan peneliti selanjutnya.