



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN SEDERHANA

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten Sederhana kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : LEMBAGA PENELITIAN, PUBLIKASI DAN PENGABDIAN MASYARAKAT UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA

Kampus Terpadu Universitas Muhammadiyah Yogyakarta,
Jl. Brawijaya, Tamantirto, Kasihan, Bantul,
D.I.Yogyakarta 55183

Untuk Invensi dengan Judul : KOMPOSISI SEDIAAN FARMASETIK UNTUK KANKER PAYUDARA DARI MINYAK BIJI JINTEN HITAM (*NIGELLA SATIVA*)

Inventor : Dr. dr. Titiek Hidayati, M.Kes.
Dr.dr. Akrom, M.Kes

Tanggal Penerimaan : 01 November 2019

Nomor Paten : IDS000004145

Tanggal Pemberian : 24 Agustus 2021

Pelindungan Paten Sederhana untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 10 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 23 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten Sederhana ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
u.b.

Direktur Paten, Desain Tata Letak Sirkuit Terpadu dan
Rahasia Dagang



Drs. YASMON, M.L.S.
NIP. 196805201994031002

KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA RI
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
DIREKTORAT PATEN

Jln. H.R. Rasuna Said, Kav. 8-9 Kuningan Jakarta Selatan 12940
Phone/Facs. (6221) 57905611; Website: www.dgip.go.id

INFORMASI BIAYA TAHUNAN UMKM

Berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 28 tahun 2019 tentang Jenis dan Tarif Atas Jenis Penerimaan Negara Bukan Pajak Yang Berlaku Pada Kementerian Hukum dan Hak Asasi Manusia, biaya tahunan yang harus dibayarkan adalah sebagaimana dalam tabel di bawah.

Nomor Paten : IDS000004145 Tanggal penerimaan : 01/11/2019
Nomor Permohonan : S00201909885 Tanggal diberi : 24/08/2021
Jumlah Klaim : 6

Biaya Tahunan Ke-	Periode Perlindungan	Batas Akhir Pembayaran	Biaya Dasar	Jumlah Klaim	Biaya Klaim	Denda	Jumlah Pembayaran
I	01/11/2019 - 31/10/2020	23/02/2022	Rp0	6	Rp0	Rp0	Rp0
II	01/11/2020 - 31/10/2021	23/02/2022	Rp0	6	Rp0	Rp0	Rp0
III	01/11/2021 - 31/10/2022	23/02/2022	Rp0	6	Rp0	Rp0	Rp0
IV	01/11/2022 - 31/10/2023	02/10/2022	Rp0	6	Rp0	Rp0	Rp0
V	01/11/2023 - 31/10/2024	02/10/2023	Rp0	6	Rp0	Rp0	Rp0
VI	01/11/2024 - 31/10/2025	02/10/2024	Rp1.650.000	6	Rp300.000	Rp0	Rp1.950.000
VII	01/11/2025 - 31/10/2026	02/10/2025	Rp2.200.000	6	Rp300.000	Rp0	Rp2.500.000
VIII	01/11/2026 - 31/10/2027	02/10/2026	Rp2.750.000	6	Rp300.000	Rp0	Rp3.050.000
IX	01/11/2027 - 31/10/2028	02/10/2027	Rp3.300.000	6	Rp300.000	Rp0	Rp3.600.000
X	01/11/2028 - 31/10/2029	02/10/2028	Rp3.850.000	6	Rp300.000	Rp0	Rp4.150.000

Biaya yang harus dibayarkan untuk pertama kali (Tahun ke-1 s.d. ke-3) adalah sebesar Rp

- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali wajib dilakukan paling lambat 6 (enam) bulan terhitung sejak tanggal diberi paten
- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali meliputi biaya tahunan untuk tahun pertama sejak tanggal penerimaan sampai dengan tahun diberi Paten ditambah biaya tahunan satu tahun berikutnya.
- Pembayaran biaya tahunan selanjutnya dilakukan paling lambat 1 (satu) bulan sebelum tanggal yang sama dengan Tanggal Penerimaan pada periode perlindungan tahun berikutnya.
- Penundaan pembayaran biaya tahunan dapat dilakukan dengan mengajukan surat permohonan untuk menggunakan mekanisme masa tenggang, diajukan paling lama 7 hari kerja sebelum tanggal jatuh tempo pembayaran biaya tahunan
- Dalam hal biaya tahunan belum dibayarkan sampai dengan jangka waktu yang ditentukan, Paten dinyatakan dihapus



(11) IDS000004145 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 24 Agustus 2021

(51) Klasifikasi IPC ⁸ : A 61K 36/71(202101), A 61K 31/122(202101)	(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten : LEMBAGA PENELITIAN, PUBLIKASI DAN PENGABDIAN MASYARAKAT UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA Kampus Terpadu Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Jl. Brawijaya, Tamantirto, Kasihan, Bantul, D.I.Yogyakarta 55183
(21) No. Permohonan Paten : S00201909885	(72) Nama Inventor : Dr. dr. Titiek Hidayati, M.Kes., ID Dr.dr. Akrom, M.Kes, ID
(22) Tanggal Penerimaan: 01 November 2019	(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten : Pemeriksa Paten : Dwi Jatmiko Cahyono, S.T.
(30) Data Prioritas : (31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara	Jumlah Klaim : 6
(43) Tanggal Pengumuman: 01 Februari 2020	
(56) Dokumen Pembanding: CN103316096A US20160213727A1 WO2011126544A2 CN111019010A	

(54) Judul Invensi : KOMPOSISI SEDIAAN FARMASETIK UNTUK KANKER PAYUDARA DARI MINYAK BIJI JINTEN HITAM (*NIGELLA SATIVA*)

(57) Abstrak :

Invensi ini berhubungan dengan komposisi minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) sebagai agen kemopreventif antikarsinogenesis bagi masyarakat berisiko tinggi akibat paparan karsinogen. Sediaan farmasetik untuk kanker payudara ini terdiri atas: zat aktif timokuinon, dan asam lemak tak jenuh, dimana, zat aktif timokuinon tersebut diperoleh dengan cara fraksinasi MBJH, dan zat aktif timokuinon tersebut sebesar 24-29% berat, paling disukai 27,4%. Sediaan kapsul/*soft capsul* MBJH dengan dosis 68 mg/kgbb diindikasikan sebagai antikarsinogenesis melalui mekanisme peningkatan ekspresi p53 dan jumlah CD8.

Deskripsi**KOMPOSISI SEDIAAN FARMASETIK UNTUK KANKER PAYUDARA DARI
MINYAK BIJI JINTEN HITAM (*NIGELLA SATIVA*)**

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan komposisi sediaan farmasetik untuk kanker payudara dari minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa*), dosis dan indikasinya yaitu sebagai agen kemopreventif antikarsinogenesis dengan meningkatkan ekspresi p53 dan jumlah limfosit CD8.

15

Latar Belakang Invensi

Kanker merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia dan dunia, oleh karena angka kejadiannya yang senantiasa meningkat, bersifat ganas dan vatal [McTurner et al., 2011; Tjindarbuni & Mangunkusumo, 2002]. Salah satu faktor yang dikaitkan dengan peningkatan insidensi kanker payudara di Indonesia adalah tingginya angka perokok dan derajat polutan karsinogenik udara pernafasan, antara lain yang bersumber dari asap rokok, asap kendaraan bermotor, asap dari industri maupun asap dari rumah tangga [Bajak, 2005; Budiono, 2006; Depkes RI, 2004; Vineis et al., 2006]. Asap rokok, asap dapur dan asap kendaraan bermotor banyak mengandung senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik yang bersifat karsinogenik dan immunosupresan, senyawa karsinogenik yang banyak terdapat dalam asap adalah adalah 7,12 dimethylbenzanthracena (DMBA) dan bensopiren [Hodgson et al., 2001; Melendez-colon et al., 2000; 1999]. Selain bersifat genotoksik karsinogen DMBA dan bensopiren juga bersifat immunotoksik [Akrom, 2011; Abbas, 2004; Wallacea et al.,

9



2018]. Paparan DMBA atau benzopirene mengakibatkan mutasi protoonkogen H-Ras [Arrington et al., 2012] dan tumor supresor gen (p53) [Xu et al., 2013], hambatan sistem imun dan berbagai enzim dalam sistem metabolisme tubuh [Arora, 5 2004; Perkin, 2012; Shimada et al., 2001; Shimada, 2006].

P53 merupakan gen yang bertanggung jawab pada pengaturan aktifitas proliferasi dan aktifitas proapoptosis sel [Budanov, 2014; Goh et al., 2015]. Gen P53 dikenal sebagai tumor supresor gen berperan menghambat proliferasi dan memacu 10 apoptosis, mencegah terjadinya mutasi gen serta memperbaiki gen yang bermutasi (Yogosawa & Kiyotsugu, 2018]. Berdasarkan hasil penelitian terbaru juga dibuktikan bahwa gen p53 terlibat dalam pengaturan respon imun. Peran gen H-Ras berkebalikan dengan gen p53, dikenal sebagai onkogen, 15 berperan memicu proliferasi dan pembentukan jaringan tumor. Senyawa DMBA telah terbukti memicu mutasi DNA dengan membentuk DNA adduct. Melalui mekanisme inflamasi kronik DMBA memperantarai terjadinya hiperproliferasi, fibrosis jaringan dan reaksi autoimunitas [Akrom, 2013; Gao et al., 2008].

20 PAH (DMBA atau BP) dimetabolisir oleh enzim sitokrom dan epoksid hidrolase mikrosomal menjadi karsinogen ultimat 7,12-dimetilbenzantracen-3,4-diol-1,2, epoksida (DMBA-DE) atau BPDE yang bersifat genotoksik dan imunotoksik [Akrom, 2012; Gao et al., 2008]. DMBA-DE dan BPDE berikatan dengan 25 DNA membentuk DNA adduct dengan gen p53 maupun H-Ras sebagai inisiator carcinogenesis [Grune, 2005; Hidayati & Akrom, 2009; Piberger et al., 2018]. Metabolit DMBA-DE juga dibuktikan menekan aktivitas sumsum tulang [Fang et al., 2013], menghambat aktifitas sel T [Akrom, 2013], toksik pada 30 spleenosit [Hidayati & Akrom, 2012], menghambat aktifitas sitokin dan deaktivasi stimulator gen IFN- γ I (STING) [Achten & Andersson, 2015]. Secara in vivo metabolit DMBA-DE terbukti melemahkan fungsi penjagaan sistem imun terhadap neoplasma.

9



Ketidakmampuan sistem imun mengenali sel kanker sebagai nonself merupakan awal kerusakan sistem pertahanan tubuh dalam memberikan perlawanan terhadap karsinogenesis [Hong et al., 2016].

5 Hasil review sistemik mengidentifikasi adanya hubungan antara gen p53 dengan STING. Mutasi gen p53 berakibat pada penurunan respon imun (Rengarajan et al., 2015]. Salah satu komponen sistem imun seluler spesifik yang berperan penting dalam membendung perkembangan neoplasma menjadi jaringan
10 tumor adalah limfosit sitotoksik CD8. Lemahnya respon imun hospes, terutama respon imun seluler oleh sel T sitotoksik (CD8), terhadap kanker akan meningkatkan morbiditas dan mortalitas yang diakibatkan oleh kanker. Sel T sitotoksik (CTL) berperan sebagai efektor dalam pemusnahan neoplasma
15 yang berbahaya secara langsung maupun menghasilkan berbagai sitokin antikanker sebagai penghambat karsinogenesis. Telah dibuktikan beberapa strategi yang diduga efektif dalam meningkatkan aktifitas limfosit sitotoksik CD8 dalam mengeliminasi neoplasma maupun menghambat karsinogenesis,
20 antara lain (i). pemberian imunogen termasuk imunogen fitokimia, (ii) merestorasi fungsi *wild type* gen p53, (iii) peningkatan fungsi regulasi gen p-53, (iv) aktifasi stimulator gen IFG- γ (STING) dan (v) meningkatkan aktifitas granzim. Gen p53 berperan penting pada aktifasi dan efikasi
25 kinerja CTL sehingga terjadi penghambatan karsinogenesis [Baratawidjaya, 2006; Muhammadiyah et al., 2009; Li & Chen, 2018; Tuo & Li, 2018].

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa makanan dan sayuran dapat dikembangkan sebagai suplemen
30 pencegahan kejadian karsinogenesis (Edwin et al., 2018; Gu et al., 2009; Surh, 2003]. Melalui mekanisme antioksidative dan imunomodulator sediaan herbal dapat dikembangkan sebagai kemopreventif antikarsinogenesis [Akrom, 2013; El-Rayes et

9



al., 2003; El Sayed & Fukushima, 2003; El Gazzar *et al.*, 2006]. Senyawa yang bersifat kemopreventif imunomodulator dapat digunakan untuk menghambat, menunda atau membalikkan proses karsinogenesis [Edwin *et al.*, 2018]. Salah satu tanaman
5 yang secara empiris sudah dipakai sebagai imunomodulator di Indonesia adalah minyak biji jinten hitam (MBJH) [Akrom, 2013; 2007; Hidayati & Akrom, 2006; 2009; Nickavar *et al.*, 2003]. Sediaan MBJH merupakan salah satu tanaman obat yang potensial untuk dikembangkan sebagai agen kemopreventif [Gali-Muhtasib
10 *et al.*, 2006]. Hal itu disebabkan harganya relatif murah, cara ekstraksi yang relatif mudah, surveilan bahan baku dapat diandalkan, dan saat ini masyarakat sudah banyak memanfaatkan tanaman obat ini untuk mengatasi berbagai kelainan kesehatan.

Sebagai zat aktif utama BJH, timokuinon dosis 50 mg/hri
15 telah dibuktikan efektif sebagai kemopreventif [Musa *et al.*, 2004]. Timokuinon juga telah dibuktikan sebagai anti ca mammae [Yi *et al.*, 2008], penghambat proliferasi limfosit pada myeloma [Mbarek *et al.*, 2007], penginduksi apoptosis [El-Mahdy *et al.*, 2005; Gali-Muhtasib *et al.*, 2008],
20 antiklastogenik [Badary *et al.*, 2007; Massadeh *et al.*, 2007], kemopreventif untuk fibrosarkoma [Badary *et al.*, 2001; Mabrouk *et al.*, 2002; Mulyasih & Akrom, 2007], dan meningkatkan aktifitas limfosit sitotoksik (CTL) [Akrom *et al.*, 2013; Randhawa & Al-Ghamdi, 2002]. BCSO telah dibuktikan
25 meningkatkan ekspresi p53 di pankreas tikus SD yang diinduksi aloksan [Akrom *et al.*, 2018; Gali-Muhtasib *et al.*, 2004]. Jinten hitam telah dibuktikan sebagai imunostimulansia melalui aksinya meningkatkan proliferasi limfosit dan aktifitas fagositosis makrofag, antileukotrien [Akrom,
30 2013; El Gazzar *et al.*, 2006; El Aziz *et al.*, 2005]. Minyak atsiri BJH juga terbukti efektif sebagai kemopreventif pada karsinogenesis (Akrom, 2013; Akrom, 2011; 2007; Badary *et al.*, 1999).

9



Kandungan dan komposisi zat aktif dari sediaan tanaman obat akan menentukan aktivitas biologis sediaan herbal tersebut (Surh, 2002), termasuk sediaan herbal jinten hitam [Nickavar et al., 2003]. Kandungan dan komposisi zat aktif sediaan obat herbal jinten hitam ditentukan dari metode ekstraksi dan senyawa pengetraksinya [Harborn, 1987]. Beberapa paten tentang sediaan herbal jinten hitam, komposisi dan indikasinya telah dipublikasikan.

f

Tabel 1. Inventor, klaim indikasi dan kandungan sediaan BJH yang sudah di publikasi

Inventor & tahun	Judul, no paten dan masa berlaku	Kandungan	Indikasi
John George BabishLinda M. PaciorettyJan Debenedetto (2007).	Compositions from <i>Nigella sativa</i> . NoUS8535740B2. Berlaku sampai 01-06-2024	Diklaimkan empat jenis ekstrak dari metode ekstraksi "supercritical CO2 extraction"dari biji <i>Nigella sativa</i> yang mengandung sekitar 0,01 hingga sekitar 40% (b/b) thymoquinone yang dapat diproduksi dengan menggunakan biji <i>N. sativa</i> dalam skala komersial	Formulasi ini memberikan indikasi farmakodinamik untuk antioksidan, termogenik, antiinflamasi, dan aktivitas biologis lainnya yang secara kualitatif dan kuantitatif berbeda dari thymoquinone saja dan berguna sebagai suplemen makanan atau terapi untuk gangguan terkait peradangan
Nasif, Nedaa Abdul-Ghani Harrow, 2006.	Asthma/ allergy therapy using <i>Nigella sativa</i> . No: EP 1709995A, berlaku sampai	komposisi farmasi terdiri dari Glycosphosphopeptical, atau sebagai biji <i>Nigella sativa</i> murni yang setara.,	untuk pengobatan asma/alergi yang aktif untuk merangsang limfosit T helper tipe I karenanya untuk secara selektif mematickan peradangan eosinofilik, juga mengobati



Inventor & tahun	Judul, no paten dan masa berlaku	Kandungan	Indikasi
Rajko Medenica, 1994.	D. <i>Nigella sativa</i> as a medicinal treatment. No paten EP0804212B1 berlaku sampai 2019	Komposisi terdiri dari 10-40% (berat/berat) biji <i>Nigella sativa</i> , 10 40% (berat/berat) jahe, 10-40% (berat/berat) ginseng, 1-40% (berat/berat) madu atau konsentrat atau ekstraknya dan 1-40% (b/b) dari pengemulsi. Formula ini disediakan sebagai serbuk dalam saset atau sebagai tablet.	infeksi saluran pernapasan virus (buang & influenza), infeksi virus lainnya, infeksi saluran kemih, penyakit radang panggul, khususnya apendisitis neuroimun, kanker, penyakit kronik, dan kelumpuhan wajah. Sebagai antikanker ajuvan atau untuk mengatasi efek samping obat anti kanker.





Berdasarkan hasil penelusuran paten yang sudah publis maka diketahui bahwa komposisi kandungan sediaan farmasetik MBJH hasil ekstraksi dengan metode dan pelarut yang kami pergunakan berbeda dengan klaim paten yang sudah publis oeh
5 karena itu kami ajukan sebagai kandidat paten kemopreventif antikarsinogenesis.

Uraian Singkat Invensi

10 Invensi yang diusulkan ini pada prinsipnya adalah pemanfaatan tanaman tradisional yaitu minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) sebagai agen pencegahan kanker (kemopreventif) untuk masyarakat berisiko tinggi, misalnya perokok, pekerja pabrik dengan paparan asap pabrik atau asap
15 kendaraan dan asap dapur.

Minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) (MBJH) disajikan dalam sediaan kapsul/soft kapsul dengan komposisi tertentu. Minyak yang dimasukkan dalam kapsul/*soft capsul* adalah diperoleh melalui proses ekstraksi bertahap
20 yaitu maserasi dengan etanol 75% kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi dengan pelarut heksan. Dengan menggunakan ekstraksi tsb dihasilkan MBJH dengan kadar timokuinon 27,4% dan asam lemak tak jenuh >70%. MBJH Sediaan kapsul/*soft capsul* mengandung 0,5 ml MBJH dengan kandungan timokuinon setara
25 dengan 136 mg. Melalui pengujian pada hewan model yang dibuat kanker yaitu tikus SD yang diinduksi DMBA terbukti sediaan MBJH dengan dosis setara 68mg/kgbb/hari timokuinon menurunkan kejadian kanker, meningkatkan ekspresi p53 dan meningkatkan jumlah CD8.

30 Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka Sediaan MBJH dosis 68 mg/kgbb diindikasikan sebagai kemopreventif antikarsinogenesis melalui peningkatan ekspresi p53 dan jumlah CD8 pada tikus SD model kanker.

9



Uraian Lengkap Invensi

Sebagaimana yang telah dikemukakan pada latar belakang invensi bahwa Biji jinten hitam (*Nigella sativa* oil) dapat digunakan sebagai bahan alternatif untuk pencegahan kanker (kemopreventif) pada masyarakat yang berisiko tinggi. Salah satu cara untuk pencegahan kanker adalah menghambat terjadinya mutasi gen protoonkogen atau gen repair oleh metabolit karsinogen melalui pencegahan terbentuknya dna adduct. Aktifitas antioksidan kandungan MBJH dapat mencegah pembentukan dna adduct sehingga tidak terjadi mutasi. Mekanisme kedua dalam menghambat karsinogenesis akibat paparan karsinogen dari PAH adalah mencegah terjadinya reaksi inflamasi yang bersifat kronik dan ekksesif akibat adanya celluler injury sehingga memudahkan terjadinya hiperproliferasi dan perubahan jaringan ikat menjadi jaringan parut dan angiogenesis. Kandungan bioaktif MBJH sudah terbukti mampu berlaku sebagai antiinflamasi baik dalam menghambat metabolisme prostaglandin maupun menghambat aktifitas komplemen dan sitokin proinflamasi.

Karakteristik MBJH

1. Metode pembuatan minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa*), dengan langkah-langkah sebagai berikut:
 - a. Biji jinten hitam (*Nigella sativa*) segar dicuci bersih dan dikeringkan diletakkan diatas tempeh kemudian diangin-angin di dalam ruangan sampai kering.
 - b. Biji jinten hitam (*Nigella sativa*) yang sudah kering ditimbang seberat 500 gr
 - c. Biji dimasukkan ke dalam alat penghancur (blender) dan diberi etanol 90% sebanyak 1000 ml, lalu dicampur.
 - d. Dilakukan Maserasi selama 72 jam, kemudian disaring

9



dengan corong Burner. Maserat berupa larutan mengandung minyak atsiri dan asam lemak tak jenuh kemudian dilakukan fraksinasi dengan pelarut heksan.

- e. Filtrat hasil maserasi difraksinasi dengan pelarut heksan sehingga diperoleh minyak BJH berwarna kuning kecoklatan dengan berbau khas minyak atsiri *Nigella sativa*. Perbandingan kandungan timokuinon BJH hasil ekstraksi dengan beberapa metode dan jenis pelarut yang telah dilakukan Pengusul disajikan pada Tabel 2.

10

Tabel 2. Kandungan MBJH hasil ekstraksi pangaju.

Jenis ekstrak BJH	Sifat fisik	Rendemen	Kadar timokuinon (%)
Ekstrak etanol	Ekstrak kental, warna hitam dan berbau khas minyak atsiri	20%	2,42
Ekstrak heksan	Ekstrak cair berwarna kuning kecoklatan, berbau khas minyak atsiri	26%	1,8
Ekstrak etanol ampas ekstrak heksan	Ekstrak kental berwarna hitam kecoklatan, berbau khas minyak atsiri	16%	0,1
Minyak destilasi langsung	Ekstrak kuning keruh agak kental, berbau khas minyak atsiri kuat	2%	6,5
ekstrak etanol kemudian difraksinasi pelarut heksan	Ekstrak kuning bening, berbau khas minyak atsiri	5%	27,2

9



f. Minyak hasil fraksinasi kemudian dimasukkan dalam cangkang kapsul. Setiap kapsul mengandung 0,5 ml MBJH. Setiap 0,5 ml MBJH ini memiliki kandungan timokuinon setara 136 mg. Dosis 2x2 atau 2x3 *soft capsul* MBJH diindikasikan sebagai kemopreventif antikarsinogenesis pada pasien berisiko tinggi ca paru.

g. MBJH dilakukan pengujian sebagai kemopreventif antikarsinogenesis pada tikus SD yang diinduksi DMBA selama 5 minggu. Pada kelompok DMBA 100% hewan uji mengalami kanker (Karcinoma) sedangkan pada kelompok normal sehat tidak mengalami kanker. Pada kelompok perlakuan mengalami kanker 40 - 60%. Pemberian MBJH dengan dosis 0.025, 0,25 dan 2,5 ml/kg bb terbukti mampu mengurangi terbentuknya kanker, baik dari jumlah nodul yang terbentuk maupun berat nodul dan waktu pembentukannya. Hasil uji kemopreventif disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengamatan pada efek kemopreventif BCSO pada tikus SD yang diinduksi DMBA 2x20 mg/kgBB/minggu selama lima minggu setelah pengobatan BCSO 0,025, 0,25 dan 2,5 ml/kgBB/hari selama dua minggu sebelum dan lima minggu selama induksi DMBA.

Kelompok uji	n	Persentase pembentukan nodul (%)	Efek kemopreventif
Normal	12	0	0
MBJH.025 +DMBA	12	50,00	50%
MBJH0,25 +DMBA	12	50,00	50%
MBJH2,5+DMBA	12	45,00	55%
Thymoquinone+DMBA	12	30,00	70%
Tamoxifen+DMBA	12	40,00	60%
DMBA	12	100,00	0%
Solvent	12	0	0

9



h. catt: BCSO0.025=black cumin seed oil dose of 0.025 ml/kg BW/day; BCSO0,25=Black cumin seed oil dose of 0,25 ml/kgBW/day; BCSO2,5 = black cumin seed oil doses of 2,5 ml/kg BW/day.

- 5 i. Dilakukan pengamatan ekspresi p53 dari jaringan mammae hewan uji dengan metode sebagaimana dilakukan oleh peneliti sebelumnya (Akrom, 2013). Pengamatan imunohistopatologi untuk ekspresi p53 menunjukkan bahwa ekspresi p53 kelompok perlakuan yang mendapatkan MJBH lebih tinggi dari ekspresi p53 pada kelompok DMBA. Kelompok DMBA memiliki ekspresi p53 lebih rendah dari kelompok sehat (normal) sebagai control. Data hasil pengujian ekspresi p53 disajikan pada Tabel 4.

15 **Table 4. Aktivitas relatif dari gen p53 pada tikus diinduksi-DMBA 10x20 mg/kg BB selama lima minggu setelah pengobatan BCSO 0,025, 0,25 dan 2,5 ml selama dua minggu sebelum dan lima minggu selama induksi DMBA. Pengambilan jaringan dilakukan pada minggu ke 27 percobaan.**

Kelompok	N	Aktivitas relatif Gen terhadap B-Aktin dari gen P53 (rata-rata \pm SD)
Normal	12	0,84 \pm 0,13
MJBH0,025 +DMBA	12	1,30 \pm 0,21*
MJBH0,25 +DMBA	12	1,24 \pm 0,15*
MJBH2,5+DMBA	12	1,30 \pm 0,09*
Thymoquinone+DMBA	12	1,26 \pm 0,06*
Tamoxifen+DMBA	12	1,12 \pm 0,10*
DMBA	12	1,06 \pm 0,10 [#]
Solvent	12	1,10 \pm 0,03

20

Catatan: BCSO0.025 = dosis minyak biji jintan hitam 0,025 ml/kg BB/hari; BCSO0,25 = Dosis minyak biji jintan



hitam 0,25 ml/kg BB/hari; BCS02,5 = dosis minyak biji jintan hitam 2,5 ml/kg BB/hari; * = $p < 0,05$ untuk kelompok DMBA; # = $p < 0,05$ untuk kelompok normal.

5 j. Dilakukan pemeriksaan jumlah sel CD8CTL hewan uji dengan metode flowcytometry sebagaimana dilakukan peneliti sebelumnya (Akrom *et al.*, 2013). Hasil pemeriksaan jumlah CD8 darah mengalami peningkatan pada kelompok perlakuan yang mendapatkan MBJH. Kelompok DMBA memiliki jumlah CD8 lebih rendah dari jumlah CD8 kelompok normal. Jumlah CD8 kelompok perlakuan lebih tinggi dari dari jumlah CD8 kelompok DMBA ($p < 0.05$). Hasil pemeriksaan CD8CTL disajikan pada Tabel 5.

15 **Table 5. Pengaruh sediaan MBJH terhadap jumlah CD8 CTL tikus SD diinduksi DMBA.**

Kelompok	n	CD8 (persentase /%)	Persen Kenaikan jumlah CD8 terhadap kelompok DMBA
Normal	12	10,02±1,54*	-
BCS00.025 +DMBA	12	9,87±3,56*	125%
BCS00,25 +DMBA	12	10,89±2,09*	148%
BCS02,5+DMBA	12	6,26±3,63*	43%
Thymoquinone+DMBA	12	9,25±0,95*	111%
Tamoxifen+DMBA	12	9,94±2,23*	126%
DMBA	12	4,39±2,38	-
Solvent	12	8,82±2,25*	-

Berdasarkan data pada Tabel 5, MBJH memiliki kemampuan meningkatkan jumlah CD8 CTL antara 43% - 148% dari jumlah CTL kelompok DMBA.

9

**Klaim**

1. Komposisi sediaan farmasetik untuk kanker payudara yang terdiri atas:
5 zat aktif timokuinon, dan
 asam lemak tak jenuh,
 dimana,
 zat aktif timokuinon tersebut diperoleh dengan cara fraksinasi MBJH, dan
10 zat aktif timokuinon tersebut sebesar 24-29% berat, paling disukai 27,4%.

2. Sediaan farmasetik untuk kanker payudara sesuai dengan klaim 1, dimana sediaan tersebut digunakan sebagai agen kemopreventif antikarsinogenesis dengan meningkatkan ekspresi p53 dan jumlah limfosit CD8.
15

3. Sediaan farmasetik untuk kanker payudara sesuai dengan klaim 1, dimana sediaan tersebut dibuat dalam sediaan kapsul/*soft capsul* berisi 0,5 ml MBJH dan setiap kapsul mengandung timokinon 136 mg.
20

4. Sediaan farmasetik untuk kanker payudara sesuai dengan klaim 1 dan 3, dimana *soft capsul* tersebut digunakan dengan dosis timokuinon setara 68 mg/kgbb/hari yang diindikasikan sebagai kemopreventif antikarsinogenesis.
25

5. Sediaan farmasetik untuk kanker payudara sesuai dengan klaim-klaim 1 sampai 4, dimana sediaan tersebut melalui mekanisme kerja dalam mencegah kejadian kanker pada perokok berat adalah dengan meningkatkan jumlah CD8 dan meningkatkan ekspresi p53.
30

f



6. Sediaan farmasetik untuk kanker payudara sesuai dengan klaim 1 sampai 5, dimana sediaan tersebut diberikan menggunakan kapsul/*soft capsul* dengan dosis 1-3x/hari selama 1-4 minggu.

5
10

15

f

Abstrak**KOMPOSISI SEDIAAN FARMASETIK UNTUK KANKER PAYUDARA DARI
MINYAK BIJI JINTEN HITAM (*NIGELLA SATIVA*)**

5

Invensi ini berhubungan dengan komposisi minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa*) sebagai agen kemopreventif antikarsinogenesis bagi masyarakat berisiko tinggi akibat paparan karsinogen. Sediaan farmasetik untuk kanker payudara ini terdiri atas: zat aktif timokuinon, dan asam lemak tak jenuh, dimana, zat aktif timokuinon tersebut diperoleh dengan cara fraksinasi MBJH, dan zat aktif timokuinon tersebut sebesar 24-29% berat, paling disukai 27,4%. Sediaan kapsul/*soft capsul* MBJH dengan dosis 68 mg/kgbb diindikasikan sebagai antikarsinogenesis melalui mekanisme peningkatan ekspresi p53 dan jumlah CD8.

20

25

f