

┌ Evy Diah Woelansari, S.Si., M.Kes.

M O N O G R A F

**Efektifitas Ekstrak
Jintan Hitam (*Nigella Sativa L*)
Terhadap Jumlah Sel Eosinofil
dalam Darah dan Jaringan
Usus Mencit yang Alergi**

**Efektifitas Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)
Terhadap Jumlah Sel Eosinofil dalam Darah
dan Jaringan Usus Mencit yang Alergi**

Monograf

© Evy Diah Woelansari, S.Si., M.Kes.

Hak cipta dilindungi undang-undang
All right reserved

Cetakan Pertama, Mei 2020

Editor: Fendi Fradana

Tata Letak & Rancang Sampul: Sang

Diterbitkan oleh Ilmi Publisher

Spring of Tomorrow A2/9

Taman, Sidoarjo

ilmipublisher@gmail.com

@ilmi.publisher

88 hlm; 15x23 cm

ISBN: 978-602-1261-28-6

Daftar Isi

Bab 1 Pendahuluan

- 1.1 Latar Belakang ~ 2
- 1.2 Rumusan Masalah ~ 6
- 1.3 Tujuan Penelitian ~ 6
- 1.4 Manfaat Penelitian ~ 7

Bab 2 Tinjauan Pustaka

- 2.1 Jintan Hitam (*Nigella sativa L.*) ~ 11
- 2.2 Alergi ~ 23
- 2.3 Ovalbumin ~ 28
- 2.4 Sel Eosinofil ~ 30

Bab 3 Metode Penelitian

- 3.1 Jenis Penelitian ~ 35
- 3.2 Tempat Penelitian ~ 35
- 3.3 Sampel Penelitian ~ 35
- 3.4 Variabel Penelitian ~ 36
- 3.5 Definisi Operasional Variabel ~ 36
- 3.6 Alat dan Bahan Penelitian ~ 37
- 3.7 Proses Ekstraksi Jintan Hitam ~ 37
- 3.8 Penentuan Dosis Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa L.*) ~ 38
- 3.9 Penentuan Dosis Pemberian Induksi Ovalbumin pada Mencit Galur Balb/c ~ 40
- 3.10 Perlakuan Terhadap Hewan Coba ~ 40
- 3.11 Prosedur Pemeriksaan Jumlah Sel Eosinofil dalam Darah ~ 43
- 3.12 Prosedur Pengambilan Usus ~ 44
- 3.13 Proses Pembuatan Preparat Histopatologis ~ 44
- 3.14 Teknik Analisis Data ~ 45
- 3.15 Luaran ~ 45
- 3.16 Kerangka Konseptual ~ 46
- 3.17 Kerangka Operasional ~ 47

Bab 4 Hasil Penelitian dan Pembahasan

4.1 Hasil Penelitian ~ 51

4.2 Analisis Data ~ 55

4.3 Pembahasan ~ 59

Bab 5 Kesimpulan dan Rekomendasi

5.1 Kesimpulan ~ 67

5.2 Rekomendasi ~ 68

Daftar Pustaka ~ 69

Lampiran ~ 77

Daftar Tabel

- Tabel 2.1 Komposisi Utama Jintan Hitam ~ 16
Tabel 2.2 Kandungan Kimia dalam Jintan Hitam ~ 16
Tabel 2.3 Kandungan Asam Lemak dalam Jintan Hitam ~ 17
Tabel 4.1 Hasil Efektifitas Ekstrak Jintan Hitam terhadap Jumlah Sel Eosinofil dalam Darah pada Mencit yang Alergi ~ 51
Tabel 4.2 Hasil Efektifitas Ekstrak Jintan Hitam terhadap Jumlah Sel Eosinofil dalam Usus pada Mencit yang Alergi ~ 54

Daftar Grafik

- Grafik 4.1 Rata-rata Sel Eosinofil dalam Darah pada Kontrol Negatif, Kontrol Positif, Perlakuan I (100 mg/KgBB), Perlakuan II (200 mg/KgBB), Perlakuan III (400 mg/KgBB) ~ 53
Grafik 4.2 Rata-rata Sel Eosinofil dalam Jaringan Usus pada Kontrol Negatif, Kontrol Positif, Perlakuan I (100 mg/KgBB), Perlakuan II (200 mg/KgBB), Perlakuan III (400 mg/KgBB) ~ 55

Daftar Gambar

- Gambar 2.1 Tumbuhan dan Biji Jintan Hitam ~ 11
Gambar 2.2 Sel Eosinofil ~ 30
Gambar 3.1 Skema Kerangka Konsep ~ 46
Gambar 3.2 Skema Kerangka Operasional ~ 47
Gambar 4.1 Sel Eosinofil dalam Darah ~ 52
Gambar 4.2 Gambaran Sel Eosinofil dalam Jaringan Usus ~ 53

Bab 1

Pendahuluan



1.1 Latar Belakang

Meningkatnya angka kejadian alergi selama 20 tahun terakhir dapat menimbulkan masalah bagi dunia kesehatan. Alergi ditimbulkan karena perubahan reaksi tubuh (menjadi rentan) terhadap suatu bahan yang ada dalam lingkungan hidup kita sehari-hari. Alergi adalah suatu perubahan reaksi atau respons pertahanan tubuh yang menolak dan tidak tahan terhadap zat-zat yang sebenarnya tidak berbahaya. Ada berbagai cara allergen masuk ke dalam tubuh yaitu melalui saluran pernafasan, allergen kontak, melalui suntikan atau sengatan, dan alergi makanan. Istilah alergi makanan juga dikenal sebagai hipersensitivitas (terhadap) makanan yang mencakup reaksi imunologik terhadap makanan atau bahan pelengkap makanan (Candra dkk, 2011).

Reaksi hipersensitivitas merupakan salah satu respons sistem imun yang berbahaya karena dapat menimbulkan kerusakan jaringan maupun penyakit yang serius. Penyakit alergi sebagai reaksi hipersensitivitas tipe I terjadi akibat paparan ulang antigen atau alergen yang berkaitan dengan antibodi *Immunoglobulin E* (IgE) spesifik pada individu atopi. Penyakit alergi dapat bermanifestasi ke berbagai sistem jaringan dan organ (Cahiadewi dkk, 2016). Reaksi alergi terjadi jika seseorang yang telah memproduksi antibodi IgE akibat terpapar suatu antigen (allergen), terpapar kembali oleh antigen yang sama (Aldi, dkk., 2013).

Alergi makanan memiliki pengertian yang beraneka ragam baik menurut proses patofisiologis yang mendasari maupun manifestasi klinisnya. Manifestasi klinis alergi makanan dapat muncul di berbagai organ seperti saluran gastrointestinal, kulit, maupun saluran respirasi (Chafen, et al, 2010). Angka kejadian alergi pada anak di Indonesia belum

dapat diketahui secara pasti, namun beberapa ahli memperkirakan sekitar 25-40% anak pernah mengalami alergi makanan (Rinawarti, 2017). Makanan yang paling umum menimbulkan reaksi hipersensitivitas adalah susu, telur, gandum, ikan, dan kacang-kacangan (WAO, 2017).

Berdasarkan penelitian Candra dkk (2011), dikatakan bahwa salah satu jenis makanan yaitu putih telur penyebab alergi pada penderita poli alergi RSCM sebesar 49%. Putih telur pada telur ayam (*Gallus gallus*) sangat kaya akan protein dan penting untuk sumber makanan meski diketahui dapat menyebabkan alergi. Pada putih telur terkandung protein yang penting antara lain ovoalbumin (54%), ovomucoid (12%), ovomucoid (11%), ovomucin (3,5%), dan lisosim (3,5%) (Abeyrathne et al, 2013). Ovalbumin merupakan protein utama dari putih telur yang dapat berperan sebagai allergen, dan biasanya digunakan untuk mencetuskan reaksi alergi pada hewan coba (Agra Quant Assay, 2011). OVA atau ovalbumin adalah fosfogliko-protein monomer dengan berat molekul 45.000 dalton.

Melalui berbagai penelitian dengan hewan coba, OVA telah terbukti dapat digunakan sebagai allergen untuk menimbulkan reaksi hipersensitivitas tipe I. Sensitisasi dengan ovalbumin baik secara inhalasi, oral maupun intraperitoneal terbukti dapat merubah kecenderungan respon imun mice (Kartikawati, 2003) Induksi ovalbumin secara intraperitoneal akan menyebabkan sensitisasi alergi sistemik, akibat terjadinya pergeseran respons imun ke arah Th2 dominan. Paparan ulang ovalbumin akan menyebabkan inflamasi alergi, dengan stimulasi IL-5 yang diproduksi Th2 dapat meningkatkan infiltrasi eosinofil (Ningrum dkk., 2016). Kondisi Th2 dominan juga meningkatkan produksi IgE spesifik dan degranulasi sel basofil, sehingga dilepaskan berbagai

mediator inflamasi seperti histamin pada reaksi alergi fase cepat dan eosinofil pada reaksi alergi fase lambat (Cahiyadewi dkk., 2016).

Eosinofilterlibat dalam patogenesis berbagai penyakit seperti infestasi cacing, alergi, kerusakan jaringan, dan imunitas terhadap tumor. Hal ini terjadi karena eosinofil mempunyai beberapa *Patterns Recognition Receptor* (PRR). (Jatmiko, 2015). Eosinofil menghasilkan dua mediator lipid yang terlibat dalam penyakit alergi yaitu leukotrien C4 dan *Platelet Activating Factor* (PAF). Mediator tersebut menyebabkan kontraksi otot polos saluran napas, meningkatkan produksi mukus, meningkatkan permeabilitas vaskular, dan membantu infiltrasi eosinofil dan neutrofil (Manurung, 2013). Eosinofil berperan secara tidak langsung pada reaksi hipersensitivitas tipe 1 melalui faktor kemotaktik eosinofil-anafilaksis. Jumlahnya meningkat di darah perifer selama reaksi alergi fase lambat dan menetap lebih lama dibanding sel inflamasi lainnya (Olson & Nardin, 2017).

Selama ini upaya pengobatan dan pencegahan yang dilakukan oleh masyarakat untuk mengatasi alergi adalah sebatas dengan penggunaan obat-obatan kimia. Menurut Zulies (2014) cara mengatasi alergi dengan terapi allergen yaitu dengan mengeksposnya terhadap allergen dengan dosis yang semakin lama semakin tinggi, menjauhi allergen, dan meminum obat-obat anti-alergi (golongan histamin). Obat ini memblokir reseptor histamin sehingga menghambat kinerja histamin dalam menimbulkan reaksi alergi. Pada alergi berat digunakan obat golongan kortikosteroid Pada alergi berat digunakan obat golongan kortikosteroid seperti, prednison, deksametason, metilprednisolon, dan hidrokortison. Penggunaan obat-obatan ini sebaiknya tidak digunakan dalam waktu lama karena dapat menyebabkan *moonface*, dia-

betes, hipertensi, osteoporosis dan autoimun. Selain itu efek samping yang lebih sering terjadi meliputi sakit kepala, gangguan psikomotor, dan efek antimuskarinik tidak digunakan dalam waktu lama karena dapat menyebabkan *moon-face*, seperti retensi urin, mulut kering, pandangan kabur, dan gangguan saluran cerna (BPOM RI, 2015).

Pemanfaatan bahan alam seperti tumbuhan yang tersebar luas dipercaya dapat menjadi obat herbal serta pencegahan terhadap penyakit (Karon, 2011). Salah satu herbal yang bisa digunakan untuk mengurangi reaksi alergi adalah jintan hitam (*Nigella sativa L.*). Jintan hitam (*Nigella sativa L.*) berpotensi sebagai imunomodulator sehingga mampu menghambat reaksi anafilaksis (Trimayanti dkk., 2015).

Pada penelitian Trimayanti (2015), kemampuan daya antianafilaksis kutan dari ekstrak etanol biji jintan hitam 30 mg/kg BB aktif tikus adalah 14,51%. Pemberian *Nigella sativa* pada imunoterapi memberikan keuntungan dengan menurunkan IgE pada pasien asma (Fattory dkk., 2015). Sebagai imunomodulator, jintan hitam (*Nigella sativa L.*) memiliki aktivitas antiinflamasi dan antialergi melalui mekanisme penurunan eosinofil, IgG1 dan IgG2a, inhibisi enzim *cyclooxygenase* (COX) dan *lypooxygenase*, serta inhibisi prostaglandin D2 (Ramadheni dkk., 2014). Nigellon (*dimer dari dithymoquinone*) dapat menekan gejala dari asma pada cabang tenggorokan dan menurunkan pelepasan kalsium pada sel-sel penyangga, yang juga melepas histamin (Ningtyas, 2012; Rahmad, 2016).

Selama ini banyak penelitian tentang alergi namun belum banyak yang meneliti sel mediator antiinflamasi di jaringan. Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti ingin melakukan penelitian mengenai efektifitas ekstrak jintan

hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap jumlah sel eosinofil dalam darah dan jaringan usus mencit yang alergi.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) efektif terhadap jumlah sel eosinofil dalam darah dan jaringan usus mencit yang alergi?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektifitas ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap jumlah sel eosinofil dalam darah dan jaringan usus mencit yang alergi.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menghitung sel eosinofil dalam darah antar-kelompok perlakuan dan kelompok kontrol;
2. Menghitung sel eosinofil di jaringan usus antar-kelompok perlakuan dan kelompok kontrol; dan
3. Menganalisis konsentrasi yang efektif dari ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap jumlah sel eosinofil dalam darah dan jaringan usus pada mencit yang alergi.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1 Memberikan informasi tentang jintan hitam (*Nigella sativa L.*) yang digunakan sebagai anti-histamin dalam upaya preventif dan terapi pada reaksi hipersensitifitas tipe I.
- 2 Memberikan informasi bagi masyarakat untuk mempergunakan jintan hitam (*Nigella sativa L.*) sebagai anti-histamin alami untuk pengobatan terhadap alergi.
- 3 Sebagai bahan referensi lanjutan tentang efektifitas jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap alergi dengan meneliti kadar *Eosinofil Cationin Protein* (ECP).

Evy Diah Woelansari, S.Si., M.Kes.

Bab 2

Tinjauan Pustaka



Evy Diah Woelansari, S.Si., M.Kes.

2.1 Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)

Jintan hitam (*Nigella sativa* L.) merupakan salah satu kekayaan hayati berupa tanaman rempah di Indonesia yang telah digunakan sebagai obat tradisional. Rempah berbentuk biji hitam ini digunakan dalam pengobatan tradisional di negara-negara Timur Tengah dan beberapa negara di Asia sebagai promotif kesehatan dan pengobatan berbagai macam penyakit. Secara empiris jintan hitam telah lama digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional pemacu respons imun dan penguat stamina (Akrom dkk, 2015).

Jintan hitam (*Nigella sativa* L.) merupakan tumbuhan herbal yang banyak ditemukan di wilayah Mediterania dan kawasan beriklim gurun seperti Timur Tengah, Eropa Timur dan Asia Tengah. Jintan hitam dikenal dengan berbagai macam nama antara lain di Inggris disebut *black seed*, *black cumin*, dan *cinnamon flower*. Di Pakistan disebut dengan *khondria*, di India disebut *kalonji* dan di Arab jintan hitam disebut *habattusauda*. Jintan hitam merupakan salah satu spesies dari genus *Nigella* yang memiliki kurang lebih 14 spesies tanaman yang termasuk dalam famili *Ranunculaceae* (Ainuzzakki, 2016).



Gambar 2.1: Tumbuhan dan Biji Jintan Hitam
(Sumber: Yusuf, 2014)

Jintan hitam merupakan tanaman herbal tahunan. Tanaman ini sudah digunakan sejak ribuan tahun yang lalu sebagai bumbu dan pengawet makanan. Dulu jintan hitam dianggap rempah biasa. Selain itu, jintan hitam juga dikenal sebagai obat-obatan herbal sejak ribuan tahun yang lalu. Jintan hitam sering digunakan sebagai obat-obatan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit seperti demam, flu, sakit kepala, asma, rematik, hingga infeksi oleh mikroba, untuk mengatasi cacing pada saluran pencernaan dan juga untuk meningkatkan status kesehatan (Yusuf, 2014).

Klasifikasi Ilmiah

Berdasarkan penggolongan dan tata nama tumbuhan, klasifikasi ilmiah dari tanaman jintan hitam adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Sub-Kingdom	: Traceabionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Ranunculales
Famili	: Ranunculaceae
Genus	: <i>Nigella</i>
Spesies	: <i>Nigella sativa</i>

(Sumber: Junaedi, 2011)

2.1.1 Morfologi dan Karakteristik Jintan Hitam

Tumbuhan ini tumbuh hingga mencapai tinggi 20-30 cm, dengan daun hijau lonjong, ujung dan pangkal runcing, tepi beringgit, dan pertulangan menyirip. Bunganya majemuk, bentuk karang, kepala sari berwarna kuning, mahkota berbentuk corong berwarna antara biru sampai putih, dengan 5-10 kelopak bunga dalam satu batang pohon (Clorinda, 2012).

Menurut Puspowardojo (2016), jintan hitam merupakan tumbuhan berbatang tegak, berkayu, dan berbentuk bulat menusuk. Tanaman ini berbunga pada bulan Juli, pada bulan September bijinya matang. Morfologi dari jintan hitam umumnya sebagai berikut:

1. Daun

Daunnya berbentuk bulat telur berujung lancip berwarna hijau. Pada permukaan daun terdapat bulu halus. Daunnya tunggal atau majemuk dengan posisi tersebar atau berhadapan serta pertulangan daunnya menyirip.

2. Bunga

Bunga jintan hitam juga ditandai dengan adanya nektar. Biji jintan hitam berukuran kecil dengan berat antara 1-5 mg berwarna abu-abu gelap atau hitam dengan permukaan kulit yang berkerut. Mahkota bunganya berjumlah 8 berwarna putih kekuningan dengan benang sari yang banyak dan berwarna kuning.

3. Buah

Buahnya berupa kapsul yang besar dan menggelembung terdiri dari 3-7 folikel yang menjadi satu, dimana masing-masing folikel ini mengandung beberapa biji.

4. Biji

Biji jintan hitam berujung tajam seperti bentuk biji wijen, keras, berwarna hitam, berbentuk lima sganda dengan kedua ujung runcing, limas yang lain lebih pendek, bersudut 3 sampai 4, panjang 1,5 mm sampai 2 mm, lebar kurang lebih 1 mm; permukaan luar berwarna hitam kecoklatan, hitam kelabu sampai hitam, berbintik-bintik, kasar, dan kerkerut.

5. Akar

Akar dari tumbuhan jintan hitam adalah akar tunggang berwarna coklat (Puspwardojo, 2016). Pada awalnya biji jintan hitam berwarna putih, lalu seiring dengan proses pematangan warna bijinya menjadi hitam. Biji ini biasanya digunakan sebagai bumbu dapur. Memiliki bau khas seperti rempah-rempah dan agak pedas, yang akan semakin tajam baunya setelah dikunyah (Yusuf, 2014). Secara makroskopik kulit biji jintan hitam terdiri atas lapisan epidermis luar dan lapisan epidermis dalam. Epidermis luar terdiri dari selapis sel yang termampat, bentuk memanjang, dinding tipis dan warnanya cokelat muda atau cokelat kehijauan. Di bawah epidermis terdapat beberapa lapis sel parenkim yang berbentuk memanjang dan tidak berwarna atau berwarna kehijauan yang sulit dibedakan karena selnya memampat. Epidermis dalam terdiri dari selapis sel berbentuk persegi empat yang tidak teratur dan selnya agak kasar. Sel tersebut mempunyai lumen jernih dan dinding berwarna cokelat (Pratama, 2016). Jintan hitam terdiri dari 4 jenis varietas yaitu Baladi dari Mesir yang bijinya relatif besar dan hitam pekat, Siri dari Saudi Arabia yang bijinya lebih lembut tapi hitam pekat juga, lalu ada Hindi dan Habbat

yang warna bijinya abu-abu masing-masing dari India dan Yaman. Di Indonesia jintan hitam sulit tumbuh secara optimal, karena butuh dataran 700 meter di atas permukaan laut (Dewi, 2012).

2.1.2 Kandungan Kimia Jintan Hitam

Jintan hitam mengandung nutrisi monosakarida yang dengan mudah diserap oleh tubuh sebagai sumber energi, juga mengandung *non-starch* polisakarida yang berfungsi sebagai sumber serat. Selain itu, khasiat jintan hitam berasal dari kandungan kimia di dalamnya, dilaporkan bahwa jintan hitam mengandung minyak atsiri, minyak lemak, asam amino, protein, alkaloid, limonene, simena, glukosida, saponin, nigeline atau zat pahit, nigelon, timokuinon, ditimokuinon, p-simen dan α -pinen (Zafar dkk, 2016).

Jintan hitam juga mengandung asam lemak yang diketahui bahwa kandungan asam lemaknya adalah sekitar 99,5% (Clorinda, 2012). Kandungan vitamin dan mineralnya meliputi kalsium, potasium, besi, magnesium, selenium, vitamin A, B1, B2, B6, C, E, dan Niasin. Bahan atau zat aktif yang terkandung dalam biji jintan hitam antara lain *Thymoquinone*, *Thymohydroquinone*, *Dithymoquinone*, *Thymol*, *Nigellicine*, *Nigellimine-N-Oxide*, *Carvacrol*, *Nigellidine*, dan *Alpha-Hedrin*. Banyak penelitian yang membuktikan bahwa *thymoquinone* merupakan komponen utama dalam minyak esensial biji jintan hitam memiliki efek anti-inflamasi, analgesik, antipiretik, antimikroba, serta dapat menurunkan tekanan darah (Wadud, 2014). Efek *thymoquinone* dalam biji jintan hitam antara lain digunakan sebagai aktivitas anti-inflamasi, perlindungan terhadap stres oksidatif serta memiliki kemampuan untuk menghilangkan

radikal bebas. Untuk zat aktif seperti *dithymoquinone* dan *hidrothymoquinone* mempunyai kemampuan sebagai penghilang radikal bebas (Puspwardojo, 2016).

Nama Bagian	Persentase
Minyak	31-35,9 %
Karbohidrat	16-19,9 %
Protein	33-34 %
Serat	4,5-6,5%
Air	5-7 %
Saponin	0,013 %
Abu	3,7-7 %

Tabel 2.1: Komposisi Utama Jintan Hitam

Nilai Rata-Rata Nutrisi	Kandungan Jintan Hitam Per-100 G Kadar Air
Energy (kcal)	531
Protein (g)	20.8
Thiamin (mg)	1.5
Riboflavin (mg)	0.1
Pyridoxine (mg)	0.5
Niacin (mg)	5.7
Calcium (mg)	185.9
Iron (mg)	10.5
Copper (mg)	1.8
Zinc (mg)	6
Phosphorus (mg)	526.5
Folacon (mg)	0.061

Tabel 2.2: Kandungan Kimia dalam Jintan Hitam (*Nigella sativa*)

Jintan hitam juga kaya asam lemak tak jenuh dan asam lemak. Asam alfa-linolenik (omega 3) dan asam linoleik (omega 6) merupakan substansi yang tidak dapat dibentuk di dalam tubuh, sehingga tubuh harus mendapat suplemen yang mengandung kedua asam tersebut. Berikut merupakan kandungan asam lemak dalam jintan hitam:

Asam Lemak	Persentase
Asam Laurat	0,6 %
Asam Miristat	0,5 %
Asam Palmitat	12,5 %
Asam stearat	3,4 %
Asam Oleat	23,4 %
Asam Linoleat (Omega-6)	55,6 %
Asam Linolenat (Omega-3)	0,4 %
Asam Eicosadinoat	3,1 %

Tabel 2.3: Kandungan Asam lemak dalam jintan hitam (*Nigella sativa*)
(Sumber: Ainuzzakki, 2016)

Berdasarkan komposisi diatas diketahui bahwa jintan hitam lebih banyak mengandung asam lemak tidak jenuh. Asam lemak tidak jenuh yang terpenting adalah asam linoleat dan asam oleat. Asam lemak ini dibutuhkan untuk pertumbuhan dan fungsi normal semua jaringan (Ainuzzakki, 2016).

Biji jintan hitam juga diketahui mengandung 8 jenis dari 10 asam amino esensial dan 7 jenis dari 10 asam amino non-esensial. Selain itu biji jintan hitam mengandung asam lemak esensial, yaitu asam linoleat dan asam linolenat yang penting untuk pembentukan Prostaglandin E1 yang menye-

imbangkan dan memperkuat sistem imun (Wadud, 2014). Terdapat dua senyawa baru yaitu 2(IH)-*naphthalenone* dan isoquinoline. Senyawa baru yang ditemukan sebuah *monodesmosidic tripertene saponin* yaitu *a-hederin*. Senyawa ini sebelumnya juga ditemukan pada daun *Hedera helix* (Yusuf, 2014). *Nigellone* (dimer dari *dithymoquinone*) yang diisolasi dari minyak atsiri jintan hitam dapat mengurangi gejala dari asma pada cabang tenggorokan, dengan cara menekan produksi histamin akibat alergi (Hidayat, 2017).

2.1.3 Manfaat Jintan Hitam

Menurut Martina (2015), jintan hitam memiliki khasiat sebagai analgesik, antihelmintik (*thymoquinone*), antiinflamasi, antioksidan, antipiretik, antitumor (kandungan *thymoquinone* dan alfa-hederin), *carminative* (menstimulasi pencernaan dan mengeluarkan gas dalam perut), *diaphoretic*, *diuretic*, *immunomodulator*, antifungi (kandungan *thymoquinon*), dan antibakteri (kandungan flavonoid, alkaloid, dan *thymoquinone*).

Kandungan dalam jintan hitam yakni *thymoquinone* berfungsi sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat jalur siklooksigenase dan lipooksigenase yang berfungsi sebagai mediator peradangan. Suatu penelitian menyatakan bahwa ekstrak jintan hitam terbukti mampu meningkatkan fungsi sel *polymorphonuclear* (PMN) (Yusuf, 2014).

Minyak jintan hitam dapat menurunkan kadar IgE, jumlah eosinofil, dan kortisol endogen di plasma dan urin pada penderita alergi (Yusuf, 2014). Kandungan biji jintan hitam antara lain minyak atsiri, minyak lemak, melantin

(saponin), zat pahit nigelin, nigelon, dan timoquinon. Minyak atsiri mempunyai aktivitas sebagai anti-alergi, anti-asma, dan anti-inflamasi (Wadud, 2014). Asam linoleat dapat menurunkan metabolisme asam arakidonat. Sedangkan asam linolenat dapat mencegah degranulasi sel mast melalui penghambatan saluran Ca^{2+} . Minyak esensial jintan hitam mengandung beberapa zat seperti 4-terpineol, *thymohydroquinone*, *thymoquinone*, *carvacrol*, *carvone*, dan *thymol*. *Thymoquinone* merupakan unsur paling banyak yang terkandung serta memiliki respons aktif dengan efek yang menguntungkan yaitu dapat menurunkan histamin darah yang diproduksi sel mast melalui penurunan kadar Ca^{2+} , penurunan IgE serum, penurunan jumlah sitokin hasil produksi Th2 yaitu IL-4, IL-5, dan IL-13 (Rachim, 2013; Trimayanti 2015).

Thymoquinone dapat menurunkan TNF pada inflamasi sehingga pemberian minyak biji jintan hitam mampu menurunkan tingkat infiltrasi sel-sel radang pada saluran pernafasan (Trimayanti, 2015).

Kristal nigellon secara in vitro menurunkan kadar Ca^{2+} intrasel dengan menghambat protein kinase C sehingga mengurangi pelepasan kalsium pada sel, yang menekan pelepasan histamin (Hidayat, 2017; Trimayanti, 2015). Kandungan dalam jintan hitam mampu mencegah dan mengontrol infeksi, alergi, dan penyakit kronis. Efek farmakologi dari jintan hitam telah terbukti sebagai anti-inflamasi dan imunomodulator. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa jintan hitam memiliki efek menghambat produksi dan aktivasi sitokin (Azimi, 2016).

Menurut penelitian Rahmi, ekstrak jintan hitam memiliki aktivitas antihistamin. Histamin adalah zat yang

diproduksi oleh jaringan tubuh yang dapat menyebabkan reaksi alergi, seperti asma. *Nigellone* (dimer dari *dithymoquinone*) yang diisolasi dari minyak atsiri jintan hitam dapat menekan gejala dari asma pada cabang tenggorokan (Hidayat, 2017).

2.1.4 Mekanisme Kerja Jintan Hitam Sebagai Imunomodulator

Jintan hitam merupakan tanaman yang dapat merangsang dan memperkuat sistem imun tubuh manusia melalui peningkatan jumlah, mutu, dan aktivitas sel-sel imun tubuh. Protein-protein yang terkandung dalam ekstrak jintan hitam dapat menghasilkan efek stimulator pada sistem imun tubuh. Jintan hitam ini diduga bekerja sebagai imunomodulator yaitu bekerja dengan cara melakukan modulasi atau perbaikan terhadap sistem imun (Marlinda, 2015).

Suatu penelitian memaparkan mengenai efek imunomodulator jintan hitam menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol jintan hitam dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB mampu meningkatkan jumlah total leukosit dan persentase limfosit pada mencit BALB/C (Zikriah, 2014). Selain itu, penelitian Ayoub (2011), menyatakan bahwa kandungan *thymoquinone* pada jintan hitam terbukti sebagai antiinflamasi terhadap anak bebek yang diberi aflaktosin (Puspowardojo, 2016).

Ekstrak jintan hitam juga mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, dan saponin. Yufri Aldi dan Suharti (2011) melakukan pengujian mengenai aktivitas ekstrak etanol jintan hitam terhadap sistem imun non-spesifik dengan menghitung jumlah antibodi menggunakan metode titer antibodi, menghitung bobot relatif limpa mencit

putih jantan dan menghitung jumlah sel leukosit dengan metode hapusan darah pada mencit putih jantan. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa dengan peningkatan dosis pemberian ekstrak etanol jintan hitam dapat meningkatkan angka titer antibodi yang merupakan respons imun spesifik. Selain itu, didapatkan pula bahwa pengaruh dosis pemberian jintan hitam sangat signifikan antara jumlah sel neutrofil segmen, limfosit, dan monosit. Sehingga diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol jintan hitam dapat meningkatkan jumlah sel leukosit darah yang merupakan sistem imun alamiah.

Menurut Marlinda (2015), memaparkan dalam penelitiannya dengan mengamati empat parameter yaitu titer antibodi, hasil perhitungan sel leukosit, bobot relatif limfa, jumlah sel limfosit, dan persentase kenaikan sel limfosit pada limfa mencit putih menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol jintan hitam dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB dapat meningkatkan titer antibodi serta dapat meningkatkan jumlah limfosit dan monosit sangat signifikan, menurunkan jumlah neutrofil segmen sangat signifikan, sedangkan sel eosinofil dan neutrofil batang tidak signifikan.

Pada umumnya inflamasi akut ini ditandai dengan penimbunan neutrofil polimorfonuklear (PMN) dalam jumlah banyak. Thymoquinone juga terbukti dapat menghambat peroksidasi non enzimatis. Asam lemak tidak jenuh yang tidak lazim yang mirip dengan asam arakhidonat juga berperan menghambat substrat. Hal ini mendukung fakta bahwa biji jintan hitam berperan sebagai anti inflamasi (Wadud, 2014).

Ekstrak jintan hitam dipercaya oleh masyarakat mempunyai khasiat salah satunya sebagai immunomodulator. Immunomodulator merupakan obat yang diharapkan dapat meningkatkan dan memperbaiki sistem imun serta dapat mengembalikan ketidakseimbangan sistem imun. Cara kerja immunomodulator adalah mengembalikan fungsi sistem imun yang terganggu disebut imunrestorasi, memperbaiki fungsi sistem imun disebut imunostimulasi dan menekan respons imun disebut imunosupresi. Pemberian immunomodulator secara alami memiliki efek yang kecil dan berkerja secara tidak langsung dalam menstimulasi sel imun, sehingga pemberian immunomodulator harus diberikan secara rutin dan dalam waktu yang lama (Saraswati, 2016).

Ekstrak jintan hitam dapat merangsang dan memperkuat sistem kekebalan tubuh manusia melalui peningkatan jumlah, mutu, dan aktivitas sel-sel kekebalan tubuh manusia, selain itu ekstrak jintan hitam juga berpengaruh menguatkan fungsi kekebalan, dimana kadar sel-sel T *Helper* meningkat dibandingkan dengan sel-sel T *Supresor* dengan perbandingan rata-rata 72% serta terjadi peningkatan aktivitas sel-sel pembunuh alami rata-rata 75%. Endarti (2009) melaporkan bahwa ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan bahan yang potensial untuk digunakan sebagai agen imunostimulan pada ikan lele dumbo yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* karena terbukti dapat meningkatkan jumlah sel leukosit dan diferensial leukosit yang sangat berperan dalam respons imun non-spesifik.

Thymoquinone yang merupakan salah satu komponen zat aktif dalam ekstrak jintan hitam memiliki kemampuan dalam meningkatkan kekebalan tubuh dan sebagai imunostimulan (Akrom dan Fatimah, 2015). *Thymoquinone* juga terbukti dapat meningkatkan jumlah neutrofil dengan men-

stimulasi ekspresi Toll-like Receptor (TLR) pada neutrofil sehingga dapat meningkatkan aktivitas fagositosis (Rachmanita, 2016).

2.2 Alergi

Alergi atau hipersensitivitas merupakan sensitivitas yang terlalu tinggi terhadap antigen sehingga paparan antigen yang selanjutnya akan menimbulkan respons imun yang berlebihan. Dalam keadaan normal terjadi keseimbangan antara Th1 dan Th2, tetapi dalam keadaan alergi akan terjadi peningkatan Th2 dan penurunan Th1. Reaksi alergi melibatkan antibodi spesifik IgE yang bertindak sebagai mediator respons alergi seperti alergi makanan, asma, rhinitis, dan lain-lain (Christina, 2014).

Alergi adalah reaksi sistem imun yang berlebihan terhadap suatu antigen tertentu yang kemudian disebut alergen, dan diperantarai oleh antibodi immunoglobulin E (IgE). Alergi berhubungan dengan atopi, yaitu suatu kecenderungan genetik untuk memproduksi antibodi IgE yang tinggi sebagai respon terhadap paparan alergen, dan akan bermanifestasi klinis menjadi penyakit alergi (Ningrum, 2016).

Alergi merupakan reaksi yang terjadi oleh suatu makanan yang pada dasarnya merupakan reaksi hipersensitivitas tipe I. Reaksi hipersensitivitas adalah respons imun yang terjadi sesudah mengkonsumsi suatu jenis makanan yang mengandung alergen atau zat penyebab alergi. Seseorang yang mengalami alergi, kinerja sistem imun akan meningkat dan memproduksi banyak antibodi. Antibodi yang banyak bereaksi terhadap adanya zat penyebab alergi

atau alergen yaitu IgE. Antibodi Imunoglobulin E mengikat dan bereaksi pada sel mast atau basofil (Rinawarti, 2017).

Daerah yang umumnya terkena efek dari alergi adalah: kulit sebesar (80-90%), paru-paru dan saluran napas sebesar (70%), saluran cerna sebesar (30-45%), jantung dan pembuluh darah sebesar (10-45%), dan sistem saraf pusat sebesar (10-15%) (Trimayanti, 2015). Faktor-faktor yang memengaruhi alergi antara lain yaitu faktor paparan alergi, genetik, dan imaturitas usus. (Rinawarti, 2017).

2.2.1 Penyebab Alergi

Penyebab alergi bermacam-macam yang kemudian disebut sebagai alergen. Pada kasus alergi saluran pernafasan, alergen bisa berupa tungau debu, kutu kucing, atau anjing, jamur, dan lain-lain yang terhirup melalui udara pernafasan. Pada alergi makanan, berbagai macam makanan yang mengandung protein tinggi seringkali menjadi penyebab alergi, seperti udang, telur, atau susu. Obat atau senyawa asing bagi tubuh juga bisa menjadi alergen bagi orang yang hipersensitif (Ikawati, 2014). Jenis makanan yang paling banyak menyebabkan reaksi alergi adalah kacang, susu, ikan laut, telur, pohon kacang-kacangan, sirip ikan, gandum, dan kedelai (Dyer & Gupta, 2013).

Antibiotik dapat menimbulkan reaksi alergi anafilaksis misalnya penisilin dan derivatnya, basitrasin, neomisin, tetrasiklin, streptomisin, sulfonamid, dan lain-lain. Obat-obatan lain yang dapat menyebabkan alergi yaitu anestesi lokal seperti prokain atau lidokain serta ekstrak alergen seperti rumput-rumputan atau jamur, Anti-Tetanus Serum (ATS), Anti-Diphtheria Serum (ADS), dan anti-bisaular juga dapat

menyebabkan reaksi alergi. Beberapa bahan yang sering dipergunakan untuk prosedur diagnosis dan dapat menimbulkan alergi misalnya zat radioopak, bromsulfalein, benzilpenisilolipolisilin (Uthari, 2015).

2.2.2 Reaksi Alergi Tipe I

Alergi tipe I dikenal sebagai *alergi segera*, yang merujuk pada waktu antara pajanan alergen dan manifestasi klinis reaksi dibandingkan dengan bentuk reaksi alergi lainnya yang dibutuhkan waktu lebih lama antara pajanan dan manifestasi klinis (Oslon & Nardin, 2017). Reaksi alergi tipe I dibagi menjadi reaksi anafilaktik (tipe Ia) dan reaksi anafilaktoid (tipe Ib). Reaksi seluler pada tipe Ia diperlukan interaksi antara IgE spesifik yang berikatan dengan reseptor IgE pada sel mast atau sel basofil dengan alergen. Interaksi ini menyebabkan pelepasan mediator yang telah disintesis sebelumnya atau mediator yang baru saja disintesis dari sel mast atau sel basofil (Munasir & Suyoko, 2010; Oslon & Nardin, 2017).

Alergen dipresentasikan ke sel T CD4+ oleh sel dendritik (yang menangkap alergen dari tempat masuknya yaitu selaput lendir hidung, paru, konjungtiva, dan peritonal). Sel T kemudian berubah menjadi sel Th2. Sel T CD4+ ini berperan penting dalam patogenesis alergi tipe I karena sitokin yang disekresikannya (khususnya IL-4 dan IL-5) menyebabkan diproduksi IgE oleh sel B, yang bertindak sebagai faktor pertumbuhan untuk sel mast dan basofil, serta merekrut dan mengaktifasi eosinofil. Antibodi IgE berikatan pada reseptor Fc berafinitas tinggi (Fcε-R1) yang terdapat pada sel mast dan basofil. Pajanan ulang terhadap antigen yang sama mengakibatkan pertautan-silang antara

antigen dengan IgE yang terikat pada permukaan sel mast atau basofil dan memicu suatu kaskade sinyal intrasel sehingga terjadi pelepasan beberapa mediator kuat (Novitasari, 2017).

Reaksi tipe I ini terdiri dari 2 fase, yaitu fase cepat dan fase lambat. Reaksi alergi fase cepat timbul saat kontak dengan antigen sampai dengan 1 jam sesudahnya. Pada fase cepat ini, akan dilepaskan mediator-mediator kimia karena degranulasi sel mast atau basofil. Mediator tersebut ada yang telah terbentuk, seperti histamin dan beberapa enzim, ada pula yang baru dibentuk, seperti prostaglandin D₂, Leukotrien D₄, Leukotrien C₄, bradikinin, dan platelet activating factor. Mediator-mediator ini selanjutnya menimbulkan efek lokal, seperti diare dan kolik pada saluran cerna, serta meningkatkan absorpsi antigen makanan sejenis atau antigen lain. Keadaan ini juga akan menimbulkan efek sistemik, seperti bronkokonstriksi dan pengendapan kompleks imun yang akan menimbulkan keluhan urtikaria (Christanto, 2011).

Fase kedua adalah reaksi alergi fase lambat. Reaksi ini mulai berlangsung 2-4 jam pasca-pajanan, dengan puncak setelah 6-8 jam, dan dapat berlangsung sampai 24-48 jam. Reaksi alergi fase lambat akan melibatkan pelepasan mediator kimia, terutama eosinofil (seperti *eosinophilic cationic protein* [ECP], *eosinophilic-derived protein*, *major basic protein*, dan *eosinophilic peroxidase*) (Christanto, 2011). Eosinofil berperan secara tidak langsung pada reaksi alergi tipe I melalui faktor kemotaktik eosinofil-anafilaksis (ECF-A = *Eosinofil Chemotactic Factor of Anaphylaxis*). Zat ini merupakan salah satu dari *preform mediator* yaitu mediator yang sudah ada dalam granula sel mast atau sel basofil

selain histamin dan faktor kemotaktik neutrofil (Munasir & Suyoko, 2010).

2.2.3 Patofisiologi Alergi

Alergen yang masuk ke dalam tubuh pada individu atopi dikenali sebagai antigen asing yang akan menggeser respon imun ke arah Th2 dominan yang memproduksi berbagai sitokin dan mediator inflamasi seperti IL-4, IL-5, IL-13 yang akan meningkatkan produksi IgE dan sel-sel inflamasi, seperti sel mast, neutrofil, dan eosinofil. Eosinofil merupakan sel inflamasi paling dominan yang akan meningkatkan jumlahnya saat terjadi reaksi alergi dan akan direkrut ke jaringan yang mengalami inflamasi. Paparan ulang alergen di saluran pernapasan akan menyebabkan reaksi inflamasi alergi yang akan menarik eosinofil ke jaringan paru (Ningrum, 2016).

IgE akan mengikat alergen di permukaan sel dan melepaskan histamin (zat yang menimbulkan kepekaan tubuh) yang ada di dalam sel basofil. Histamin menyebabkan hidung berair, hidung tersumbat, kulit gatal, dan sesak napas. Karenanya, histamin disebut juga sebagai mediator (perantara) timbulnya gejala alergi. Penyebab dari alergi belum dapat diketahui dengan jelas dan pasti, akan tetapi ada banyak faktor yang dapat memengaruhi terjadinya alergi (Rinawarti, 2017).

Sejumlah penelitian menunjukkan reaksi alergi berhubungan dengan beberapa sel inflamasi, diaktivasi oleh beberapa mediator yang dilepaskan. Salah satu sel inflamasi yang terlibat adalah eosinofil. Saat teraktivasi, eosinofil mengalami degranulasi dan melepaskan granula protein

yaitu *major basic protein* (MBP), *eosinophil cationic protein* (ECP), *eosinophil-derived neurotoxin* (EDN), dan *eosinophil peroxidase* (EPO). Granul protein eosinofil berperan dalam kerusakan dan disfungsi jaringan yang terjadi (Umborowati, 2015).

2.3 Ovalbumin

Putih telur mengandung banyak protein fungsional yang penting. Ovalbumin (54%), ovotransferrin (12%), ovomucoid (11%), ovomucin (3.5%), dan lisosim (3.5%) adalah protein yang memiliki potensi tinggi untuk digunakan pada industri setelah dilakukan pemisahan. Protein yang telah dipisahkan dapat digunakan dalam industri makanan dan farmasi atau setelah dimodifikasi dengan enzim. Ovalbumin banyak digunakan sebagai nutrisi atau suplemen (Abeyrathne, 2013).

Ovalbumin (OVA) merupakan alergen spesifik dari protein putih telur, apabila disuntikkan secara intraperitoneal pada hewan coba akan menyebabkan sensitisasi alergi sistemik, akibat terjadinya pergeseran respons imun ke arah Th2 dominan dan dilanjutkan melalui inhalasi terbukti meningkatkan aktivasi Th2 dominan dalam mekanisme ketidakseimbangan Th1-Th2. Kondisi Th2 dominan meningkatkan produksi IgE spesifik dan degranulasi sel mast dan sel basofil, sehingga dilepaskan berbagai mediator inflamasi, berupa IL-4, IL-13, IL-5, dan eosinofil sebagai reaksi alergi. Eosinofil mengandung berbagai protein toksik yang dapat merusak jaringan (Cahiyadewi dkk., 2016; Ningrum, 2016).

Ovalbumin disintesis dari sel telur ayam betina dan merupakan 54% dari total protein putih telur. Berat molekul dari ovalbumin 45kDa dengan 385 asam amino. Ovalbumin

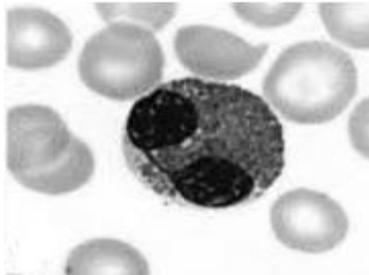
tidak memiliki squence rantai N-terminal, tetapi memiliki 3 tempat untuk modifikasi post-sintesis pada penambahan kelompok asetil N-terminal. Komposisi asam amino dari ovalbumin sangat unik jika dibandingkan dengan protein yang lain. Amino bagian N-terminalnya merupakan glisin asetil dan C-terminal merupakan prolin. Bagian terminal biasa diketahui sebagai glikoprotein dan mengandung sebuah kelompok karbohidrat yang terpaut pada N-terminal. Ovalbumin terdiri dari 3 komponen, A1 mengandung 2 kelompok fosfat, A2 mengandung 1 kelompok fosfat, dan A3 tidak memiliki kelompok fosfat. Di dalam ovalbumin proporsinya 85:12:3 (Abeyrathne, 2013).

Paparan ulang ovalbumin melalui inhalasi akan menyebabkan inflamasi alergi di saluran pernapasan, dengan stimulasi IL-5 yang diproduksi Th2 meningkatkan infiltrasi eosinofil. Eosinofil merupakan sel yang banyak ditemukan di jaringan terutama saat terjadi proses inflamasi pada reaksi alergi, sehingga sel ini dapat ditemukan di jaringan peribronkhial paru pada mencit alergi yang diberi paparan ovalbumin melalui inhalasi (Ningrum, 2016).

Kondisi yang diberikan pada penelitian ini adalah kondisi alergi, dimana kondisi yang membuat alergi adalah induksi ovalbumin. Ovalbumin merupakan protein alergenic (antigen) dapat mengaktivasi jaringan mesenterium tikus dan sering digunakan untuk menginduksi reaksi alergi pada pemberian yang berulang. Reaksi alergi terjadi melalui tahap-tahap aktivasi sel-sel imunokompeten dan aktivasi sel-sel struktural. Setelah antigen menjadi (Lestari & Santoao, 2016).

2.4 Sel Eosinofil

Eosinofil adalah jenis leukosit yang bersifat eosinofilik, sehingga mudah dikenali dari sitoplasmanya yang berwarna (merah muda) dengan granul yang jelas, dan besar. Nukleusnya memiliki 2 lobus, tetapi terkadang juga ditemukan lagi lobus ketiga yang berukuran kecil. Sel eosinofil adalah sel leukosit polimorfonuklear dengan ukuran 12-17 μ m. Eosinofil berjumlah sekitar 2-4% dari jumlah total leukosit. Nukleus eosinofil hampir menyerupai nukleus neutrofil, tetapi mempunyai jumlah lobus yang lebih sedikit. Eosinofil berperan dalam proses inflamasi, penyakit parasitik, dan alergi (Fachrudin, 2013; Saraswati, 2016; Hutapea, 2015; Jatmiko, 2015).



Gambar 2.2: Sel Eosinofil (*Atlas of Hematology*, 2013)

Sel eosinofil dihasilkan oleh sumsum tulang. Ketika telah matang, sel eosinofil akan memasuki darah dan ikut sirkulasi. Sel eosinofil kemudian memasuki jaringan yang membutuhkan, terutama pada daerah-daerah yang berbatasan dengan dunia luar seperti saluran nafas dan saluran pencernaan (Jatmiko, 2015). Eosinofil menghasilkan dua mediator lipid yang terlibat dalam penyakit alergi (leuko-

trien C4 dan *Platelet Activating Factor* (PAF). Mediator tersebut menyebabkan kontraksi otot polos saluran napas, meningkatkan produksi mukus, meningkatkan permeabilitas vaskular dan membantu infiltrasi eosinofil. Eosinofil diyakini memiliki kemampuan untuk bekerja sama dengan limfosit dan sel imun serta kemampuan berperan sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC) (Fachri, 2017).

Bab 3

Metode Penelitian



3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *posttest only control group design* yaitu mengukur adanya pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan membandingkan kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

3.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Unit Infeksius Pengembangan dan Penelitian Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya untuk proses isolasi dan perlakuan terhadap hewan coba. Laboratorium Kedokteran Fakultas Kedokteran (Histologi) Surabaya untuk pembuatan *preparat histology* dan di Unit Layanan Pengujian (ULP) Universitas Airlangga Surabaya untuk proses ekstraksi jintan hitam.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c berjenis kelamin jantan, usia 2-3 bulan, dengan berat badan 20-30 gram sebanyak 25 ekor yang didapat dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Mencit diambil secara acak kemudian diberi makan dan minum hingga mencapai berat sesuai kriteria. Mencit kemudian dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan.

Pada penelitian ini dilakukan 5 perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan), kelompok kontrol positif (hanya diinduksi ovalbumin), kelompok perlakuan 1 (pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis 100 mg/KgBB dan diinduksi ovalbumin), dan kelompok perlakuan 2 (pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis 200 mg/KgBB dan diinduksi ovalbumin), kelompok perlakuan 3 (pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis 400 mg/KgBB dan diinduksi ovalbumin). Masing-masing kelompok dilakukan replikasi sebanyak 5 kali, dengan demikian besar sampel pada penelitian ini adalah $5 \times 5 = 25$ sampel. Jadi, besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor mencit.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini terdiri dari:

1. Variabel bebas: Ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa L.*).
2. Variabel terikat: Jumlah sel eosinofil dalam darah dan jaringan usus.

3.5 Definisi Operasional Variabel

1. Ekstrak biji jintan hitam adalah hasil ekstraksi biji jintan hitam yang sudah dihaluskan, dan direndam dengan pelarut etanol 96% selama 3 hari, kemudian pelarut diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai pekat.
2. Jumlah Sel eosinofil dalam darah adalah jumlah sel leukosit yang diperoleh dengan mengambil darah mencit sebanyak 1 mL melalui jantung kemudian dibuat hapusan

dan diwarnai dengan cat giemsa, lalu dihitung di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 100x.

3. Jumlah Sel eosinofil pada jaringan usus adalah jumlah sel leukosit yang diperoleh dengan mengambil usus men-
cit dan dilakukan pembuatan preparat dan dilakukan pengecatan dengan menggunakan Hematoxillin Eosin (HE). Untuk pemeriksaan histopatologi menggunakan pembesaran objektif 40x dalam 1 lapang pandang. Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah sel eosinofil dalam jaringan kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan meliputi neraca analitik, *shaker waterbath*, *Buchner*, *rotary evaporator* dan alat-alat gelas seperti gelas ukur dan beaker glass. sonda, silet atau gunting steril, tabung *ependorf* dan spuit 1 mL, tabung EDTA 1 mL, *object glass*, *cell counter*, dan mikroskop *binokuler*. Bahan yang digunakan adalah formalin, alkohol 98%, alkohol 70%, parafin, pengecatan Hematoxilin Eosin (HE), jintan hitam, ovalbumin merk Sigma-Aldirck, cat giemsa, alkohol 96%, aquades, dan minyak imersi.

3.7 Proses Ekstraksi Jintan Hitam

Biji jintan hitam yang diperoleh dari Pasar Pabean Surabaya dilakukan penyortiran dengan mengambil biji yang terbaik. Biji jintan hitam yang telah disortir kemudian dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Dalam pengeringan ini hendaknya

dihindarkan dari panas matahari langsung. Biji jintan hitam yang telah kering kemudian dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk.

Menimbang serbuk kering jintan hitam sebanyak 150 gram kemudian serbuk kering jintan hitam yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam maserator. Dilakukan proses ekstraksi metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96 % sebanyak 750 mL (perbandingan 1 : 5) kemudian menggoyang selama 1 jam untuk mencapai kondisi homogen dalam *shaker waterbath* dengan kecepatan 120 rpm selama 1 jam. Larutan dimaserasi selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah 24 jam, larutan difiltrasi atau dipisahkan dengan menggunakan penyaring *Buchner*. Mengangin-anginkan residu penyaringan dan melakukan remaserasi ulang selama 24 jam, maserasi diulang sampai 3 kali. Filtrat dari masing-masing hasil maserasi dicampur dan dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50 °C sampai didapatkan ekstrak pekat dengan konsentrasi 100 % (Hidayat, 2015).

3.8 Penentuan Dosis Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa L.*)

Penentuan dosis pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) kepada hewan coba dilakukan untuk mengetahui dosis yang efektif sebagai efek imunomodulator. Pada penelitian ini ekstrak jintan hitam dibuat dalam tiga dosis, yaitu 100 mg/KgBB, 200 mg/KgBB, dan 400 mg/KgBB. Untuk pembuatan dosis tersebut, ekstrak jintan hitam ditimbang sesuai dengan perhitungan kemudian dilarutkan dengan pelarut NaCMC 0,5%. Menurut Larasati (2016),

perhitungan pemberian dosis pada mencit, konsentrasi yang dibuat, ekstrak yang ditimbang, volume sediaan yang dibuat, serta volume sediaan yang diberikan pada masing-masing hewan percobaan. Konsentrasi yang harus dibuat untuk mendapatkan dosis ekstrak jintan hitam 100 mg/kgBB adalah 1%, dosis 200 mg/kgBB adalah 2% dan dosis 400 mg/kgBB adalah 4%.

1. Ekstrak yang ditimbang untuk dibuat sediaan dengan berat mencit 25 gram.

Rumus = dosis \times berat hewan

- 100 mg/KgBB = 2,5 mg untuk satu ekor mencit
- 200 mg/KgBB = 5 mg untuk satu ekor mencit
- 400 mg/KgBB = 10 mg untuk satu ekor mencit

Jadi, ekstrak yang ditimbang untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak 1% adalah 2,5mg untuk satu ekor mencit, konsentrasi ekstrak 2% adalah 5mg untuk satu ekor mencit dan konsentrasi ekstrak 4% adalah 10mg untuk satu ekor mencit.

2. Volume sediaan untuk melarutkan ekstrak jintan hitam yang telah ditimbang

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{konsentrasi}}$$

Jadi, untuk mendapatkan ekstrak jintan hitam dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB masing-masing dibutuhkan 2,5mg, 5mg dan 10mg ekstrak yang kemudian dilarutkan dalam 0,25 mL pelarut per satu ekor mencit.

3.9 Penentuan Dosis Pemberian Induksi Ovalbumin pada Mencit Galur Balb/c

Pada penelitian ini pemberian ovalbumin dilakukan secara intraperitoneal pada hewan coba di hari ke-8 dan ke-15. Pada hari ke-16, 17, 18, 19, 20, 21 diberikan pemberian ovalbumin secara peroral. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Christina (2014) dan Wardhani (2017) volume ovalbumin yang diberikan adalah sebagai berikut:

Dosis intraperitoneal hari ke-8:

- 0,15 mL OVA dari 2,5 mg ovalbumin (OVA) dalam 7,75mL Al(OH)₃

Dosis intraperitoneal hari ke-15:

- 0,15 mL OVA dari 2,5 mg ovalbumin (OVA) dalam 10 mL Aquades

Dosis peroralhari ke-16, 17, 18, 19, 20, 21:

- 0,15 mL OVA dari 2,5 mg ovalbumin (OVA) dalam 2,5 mL Aquades

3.10 Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Mencit yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) jantan galur Balb/c yang memiliki berat badan 20-30 gram dan berusia 2-3 bulan. Jumlah mencit yang akan digunakan sebanyak 25 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor mencit. Sebelum digunakan, semua hewan coba diletakkan pada kandang hewan coba bersih, terdapat sirkulasi udara, dan terlebih dahulu diaklimatisasi terhadap ling-

kungan selama ± 7 hari. Hewan coba diberi makan dan minum setiap hari hingga mencapai berat badan sesuai kriteria. Berikut masing-masing perlakuan pada tiap kelompok:

1. Kelompok Perlakuan Kontrol Negatif

Lima ekor mencit tidak diberi perlakuan (tidak diberi ekstrak jintan hitam dan tidak diinduksi ovalbumin), hanya diberi pakan berupa pellet dan minum air. Kemudian dilakukan pengambilan darah untuk menghitung jumlah sel eosinofil dalam darah dan diambil jaringan usus untuk dilakukan pemeriksaan histopatologinya.

2. Kelompok Perlakuan Kontrol Positif

Lima ekor mencit hanya diberi pakan berupa pellet dan air minum atau aquadest lalu diinduksi ovalbumin pada hari ke-8 dan 15 melalui intraperitoneal sebanyak 0,15 mL. Pada hari ke-16, 17, 18, 19, 20, 21 diberi ovalbumin secara peroral. Pada hari ke-21 yaitu 6 jam setelah induksi ovalbumin, mengambil darah mencit untuk menghitung jumlah sel eosinofil dalam darah dan diambil jaringan usus untuk dilakukan pemeriksaan histopatologinya.

3. Kelompok Perlakuan I

Lima ekor mencit diberi ekstrak biji jintan hitam dengan dosis 100mg/kg BB sebanyak 0,25 mL selama 21 hari secara oral dan diberi pakan berupa pellet dan minum. Pada hari ke-8 dan 15 diinduksi ovalbumin melalui intraperitoneal sebanyak 0,15 mL. Pada hari ke-16, 17, 18, 19, 20, 21 diberi ovalbumin secara peroral. Pada hari ke-21 yaitu 6 jam setelah induksi ovalbumin, mengambil darah mencit untuk menghitung jumlah sel eosinofil da-

lam darah dan diambil jaringan usus untuk dilakukan pemeriksaan histopatologinya.

4. Kelompok Perlakuan II

Lima ekor mencit diberi ekstrak biji jintan hitam dengan dosis 200mg/kg BB sebanyak 0,25 mL selama 21 hari secara oral dan diberi pakan berupa pellet dan minum. Pada hari ke-8 dan 15 diinduksi ovalbumin melalui intraperitoneal sebanyak 0,15 mL. Pada hari ke-16, 17, 18, 19, 20, 21 diberi ovalbumin secara peroral. Pada hari ke-21 yaitu 6 jam setelah induksi ovalbumin, mengambil darah mencit untuk menghitung jumlah sel eosinofil dalam darah dan diambil jaringan usus untuk dilakukan pemeriksaan histopatologinya.

5. Kelompok Perlakuan III

Lima ekor mencit diberi ekstrak biji jintan hitam dengan dosis 400mg/kg BB sebanyak 0,25 mL selama 21 hari secara oral dan diberi pakan berupa pellet dan minum. Pada hari ke-8 dan 15 diinduksi ovalbumin melalui intraperitoneal sebanyak 0,15 mL. Pada hari ke-16, 17, 18, 19, 20, 21 diberi ovalbumin secara peroral. Pada hari ke-21 yaitu 6 jam setelah induksi ovalbumin, mengambil darah mencit untuk menghitung jumlah sel eosinofil dalam darah dan diambil jaringan usus untuk dilakukan pemeriksaan histopatologinya.

3.11 Prosedur Pemeriksaan Jumlah Sel Eosinofil dalam Darah

1. Pengambilan Sampel Darah

Sampel darah diambil pada hari ke-21 yaitu setelah 21 hari pemberian ekstrak biji jintan hitam dan 6 jam setelah induksi ovalbumin pada hari ke 21. Pengambilan darah pada mencit dilakukan dengan *punksi* jantung setelah mencit dianestesi dengan kloroform. Darah yang diperoleh dari jantung dimasukkan ke dalam tabung EDTA dihomogenkan dan dibuat hapusan.

2. Prosedur Pemeriksaan Jumlah Sel Eosinofil

Pemeriksaan jumlah sel eosinofil dilakukan dengan pewarnaan *Romanowski* dan dihitung menggunakan metode *differential counting*. Darah EDTA diteteskan sebanyak 10 μ L pada *object glass* di salah satu sisi 1cm dari tepi. Meletakkan kaca penggeser di depan tetesan darah dengan membentuk sudut 45°. Mempertahankan posisi penggeser pada 45°, kemudian menarik mundur menyentuh darah, darah melebar sepanjang tepi lalu mendorong ke depan dengan cepat penggeser pada posisi 45° dan setelah mencapai kepanjangan 2,5 cm gerakan mendorong selesai dengan jalan mengangkat penggeser sehingga terlepas dari sentuhan dengan *object glass*. Menge-ringkan preparat/sediaan (Afriansyah, 2016). Meneteskan osinop 96% ke atas sediaan itu sehingga bagian yang ter-lapis darah tertutup seluruhnya, dibiarkan selama 5 menit atau lebih lama dan kelebihan 43 eosinofil dari kaca dibuang. Menetesi sediaan dengan Giemsa yang telah diencerkan dengan larutan penyanggah dan dibiarkan selama 20 menit, kemudian dibilas dengan air suling.

Sediaan dibiarkan dalam sikap 44 eosinofil dengan posisi bagian yang tebal di bawah dan dibiarkan 44 eosinofil pada udara. Sediaan diobservasi dengan lensa objektif 40x dengan pembesaran ini diberikan penilaian terhadap sel 44 eosinofil. Mengamati sediaan dengan menggunakan lensa objektif 100x menggunakan minyak emersi dengan menyingkirkan kaca penutup terlebih dahulu. Satu tetes minyak emersi diteteskan pada sediaan apus, menggunakan objektif yang sesuai. Penilaian dilakukan terhadap jumlah sel 44 eosinofil (Chalid, dkk., 2013).

3.12 Prosedur Pengambilan Usus

Penelitian ini menggunakan dua puluh lima ekor mencit yang sudah dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Jumlah mencit yang akan digunakan sebanyak 25 ekor yang dibagi dalam 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor mencit. Pada hari ke-21 yaitu 6 jam setelah induksi ovalbumin (pada kelompok osinop positif dan kelompok perlakuan) mencit percobaan dieuthanasia dan dinekropsi. Usus diambil dan diperiksa untuk selanjutnya diproses dalam pembuatan preparat histopatologis.

3.13 Proses Pembuatan Preparat Histopatologis

Jaringan usus dioambil dan dipotong menjadi ukuran 1x1x1 cm kemudian difiksasi dalam NBF 10% selama 24 jam. Setelah di-*streaming*, kemudian dimasukkan dalam *tissue cassette* masing-masing sesuai kelompok perlakuan. *Tissue cassette* dimasukkan dalam *tissue processor* untuk

tahap dehidrasi, *clearing*, *embedding*. Sedangkan tahap blocking dilakukan dengan paraffin blok, selanjutnya *cutting* dengan mikrotom dalam ketebalan 5-6 μ . Selanjutnya preparat diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin eosin (HE). Setelah dikeringkan dan ditutup dengan cover glas, preparat siap diperiksa di bawah mikroskop. Untuk pemeriksaan histopatologi menggunakan pembesaran objektif 40x dalam 1 lapang pandang. Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah sel 45 eosinofil dalam jaringan kemudian dibandingkan dengan kelompok 45 eosinofil (Suseno dkk, 2015).

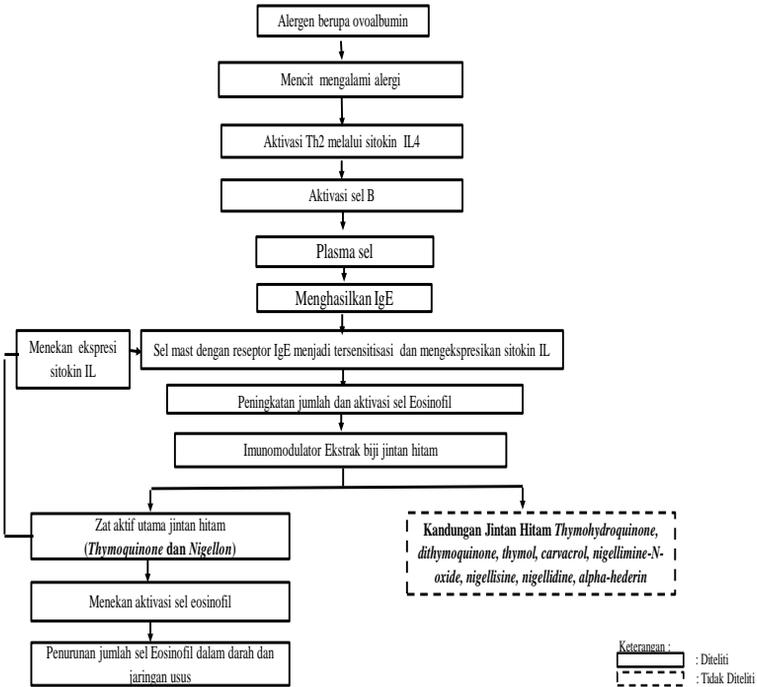
3.14 Teknik Analisis Data

Teknik analisis data disajikan dalam bentuk 45 eosinofil secara kuantitatif. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan analisis uji normalitas data yaitu uji *Kolmogorov-Sminorv*, apabila data berdistribusi normal diuji menggunakan *One Way Anova* dan apabila data tidak berdistribusi normal, maka akan diuji menggunakan uji noneosinofil *Kruskal-Wallis*.

3.1.5 Luaran

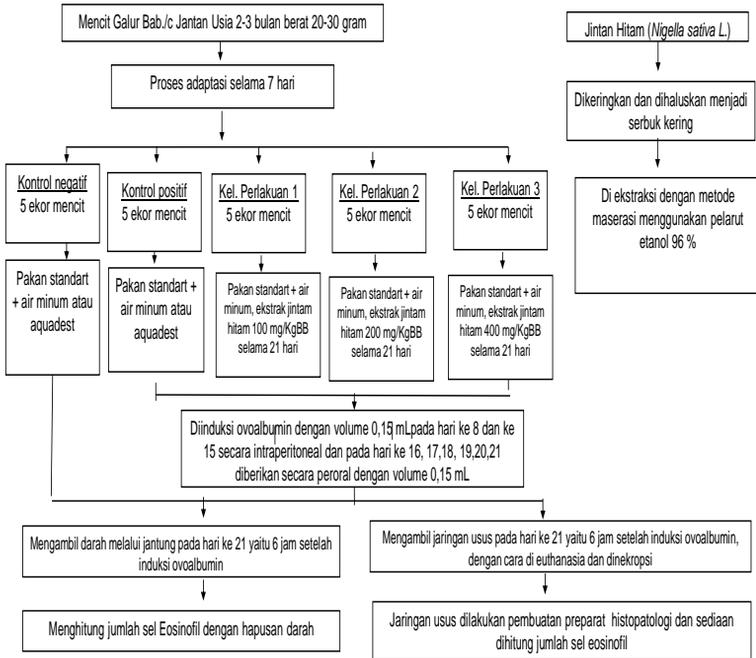
Penelitian ini diharapkan dapat dipublikasikan secara internasional dan dapat diusulkan untuk memperoleh Hak Atas Kekayaan Intelektual (HAKI).

3.16 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1: Skema Kerangka Konseptual

3.17 Kerangka Operasional



Gambar 3.2: Skema Alur Penelitian

Bab 4

Hasil Penelitian dan Pembahasan



4.1 Hasil Penelitian

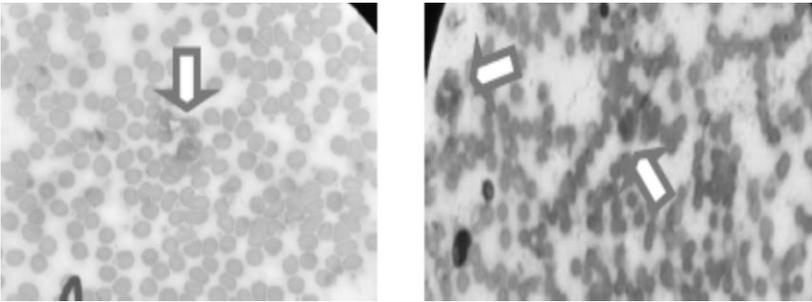
4.1.1 Hasil Penelitian Sel Eosinofil dalam Darah

Berdasarkan hasil penelitian tentang efektifitas ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap jumlah sel eosinofil dalam darah dan jaringan usus mencit yang alergi pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, dan kelompok perlakuan 3 didapatkan hasil sebagai berikut:

Jumlah Sel Eosinofil Dalam Darah (%)					
Sampel	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Perlakuan I (Dosis 100 mg/KgBB)	Perlakuan II (Dosis 200 mg/KgBB)	Perlakuan III (Dosis 400 mg/KgBB)
1	2	4	4	2	1
2	1	2	1	2	1
3	2	2	2	1	1
4	1	2	2	1	0
5	1	1	1	0	0
Rerata	1,4	2,2	2	1,2	0,6

Tabel 4.1: Hasil efektifitas ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa L.*) dosis 100 mg/KgBB, 200 mg/KgBB, 400 mg/KgBB, terhadap jumlah sel eosinofil dalam darah pada mencit yang alergi

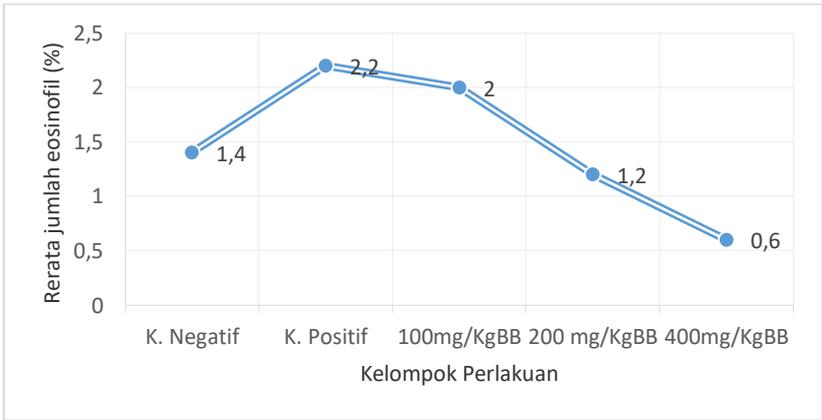
Hasil rata-rata sel eosinofil dalam darah mencit yang alergi pada kontrol negatif adalah 1,4%, rata-rata sel eosinofil pada kontrol positif dalam darah sebesar 2,2%. Rata-rata sel eosinofil pada kelompok perlakuan 1 sebesar 2%, kelompok perlakuan 2 sebesar 1,2% dan kelompok perlakuan 3 sebesar 0,6%.



Gambar 4.1: Sel Eosinofil dalam Darah

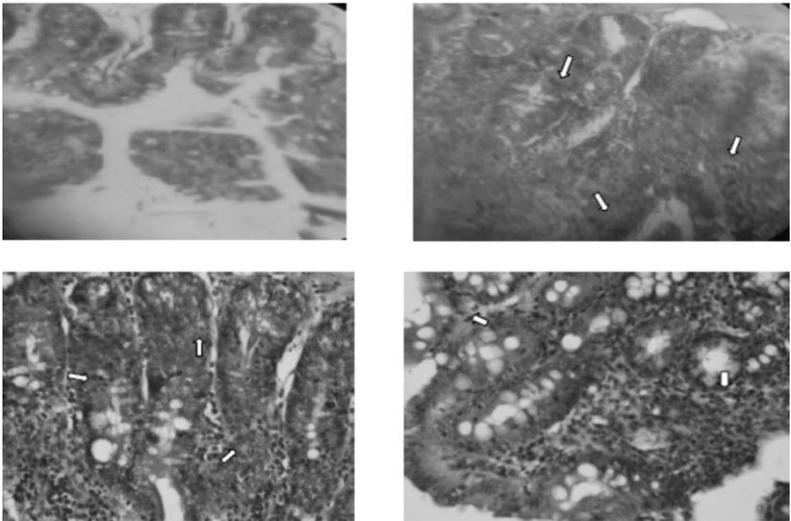
Berdasarkan sajian tabel 4.1 diketahui bahwa jumlah rata-rata sel eosinofil pada kelompok kontrol negatif adalah 1,4%, hasil tersebut lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yaitu kelompok mencit yang alergi tanpa perlakuan pemberian ekstrak biji jintan hitam dengan rata rata jumlah sel eosinofil sebesar 2,2%. Jumlah sel eosinofil pada kelompok mencit yang alergi dan diberi perlakuan pemberian ekstrak biji jintan hitam dengan dosis 100 mg/KgBB, 200 mg/KgBB, dan 400 mg/KgBB selama 21 hari cenderung menurun jumlahnya apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Penurunan rerata jumlah sel eosinofil paling besar terjadi pada pemberian dosis 400mg/KgBB dengan rerata sebesar 0,6%, rerata jumlah sel eosinofil pada kelompok tersebut kurang dari rerata jumlah sel pada kelompok kontrol negatif. Berikut grafik kenaikan dan penurunan rata-rata jumlah eosinofil.

Hasil Penelitian dan Pembahasan



Grafik 4.1: Rata-rata sel eosinofil dalam darah pada kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan I, perlakuan II, dan perlakuan III

4.1.2 Hasil Sel Eosinofil dalam Jaringan Usus



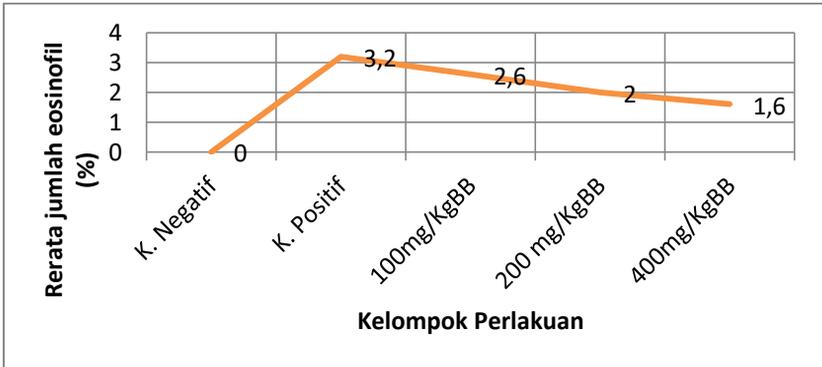
Gambar 4.2: Gambaran Sel Eosinofil dalam Jaringan Usus

Jumlah Sel Eosinofil dalam Jaringan Usus (sel/lapangan pandang)					
Sampel	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Perlakuan I (Dosis 100 mg/KgBB)	Perlakuan II (Dosis 200 mg/KgBB)	Perlakuan III (Dosis 400 mg /KgBB)
1	0	3	2	2	2
2	0	3	3	1	1
3	0	3	3	3	1
4	0	3	3	2	2
5	0	4	2	2	2
Rerata	0	3,2	2,6	2	1,6

Tabel 4.2: Hasil jumlah sel eosinofil dalam jaringan usus pada mencit yang alergi dan ekstrak ekstrak biji jintan hitam

Hasil rata-rata sel eosinofil dalam jaringan mencit yang alergi pada kontrol negatif adalah 0 sel/lp rata-rata sel eosinofil pada kontrol positif dalam darah sebesar 3,2 sel/lp. Rata-rata sel eosinofil pada kelompok perlakuan 1 sebesar 2,6 sel/lp, kelompok perlakuan 2 sebesar 2 sel/lp dan kelompok perlakuan 3 sebesar 1,6 sel/lp.

Grafik 4.2. Rata-rata sel eosinofil dalam jaringan pada kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan I, perlakuan II, perlakuan III



Grafik 4.2: Hasil jumlah sel eosinofil dalam jaringan usus pada mencit yang alergi dan ekstrak ekstrak biji jintan hitam

4.2 Analisis Data

Data hasil penelitian mengenai efektifitas ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap jumlah sel eosinofil dalam darah dan jaringan usus mencit yang alergi dianalisis secara kuantitatif menggunakan metode statistik.

4.2.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas data dilakukan untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak. Uji ini menggunakan metode *Kolmogorov-smirnov*. Berdasarkan hasil analisis menggunakan metode statistik *kolmogorov-smirnov*, didapatkan nilai signifikan Hasil Uji normalitas data didapat nilai $p = 0,173$ pada $\alpha = 0.05$, ($p > 0,05$). Sehingga data penelitian berdistribusi normal. Artinya $p > \alpha$, kesimpulan data berdistribusi normal, maka selanjutnya dilakukan uji *Anova blok design*.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Jumlah Sel Eosinofil
N		50
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1.6800
	Std. Deviation	1.11465
Most Extreme Differences	Absolute	.173
	Positive	.169
	Negative	-.173
Test Statistic		.173
Asymp. Sig. (2-tailed)		.001 ^c

4.2.2 Uji Anova Blok Design

Setelah dilakukan uji normalitas data dengan Uji *Kolmogorov Smirnov* didapatkan hasil bahwa data berdistribusi normal, maka selanjutnya dilakukan uji statistik dengan *Anova blok design* untuk mengetahui perbedaan pada faktor blok dan faktor perlakuan terhadap jumlah sel eosinofil dalam darah dan dalam jaringan. Hipotesis dari uji *Anova blok design* adalah sebagai berikut:

1. Faktor Blok

Ho : Tidak ada perbedaan jumlah sel eosinofil antar-blok (dalam darah dan jaringan).

Hi : Minimal ada sepasang blok yg berbeda.

Berdasarkan hasil analisis statistik data jumlah eosinofil, didapatkan nilai signifikan atau nilai probabilitasnya $p = 0,102 > \alpha = 0,05$, yang artinya lebih besar daripada alfa ($p > 0,05$). Sehingga H0 diterima yang artinya data homogen atau kesimpulan tidak ada perbedaan antar-blok.

2. Faktor Perlakuan

Selain itu dilakukan uji statistik dengan *Anova blok design* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan jumlah sel eosinofil antar perlakuan. Hipotesis dari uji *Anova blok design* adalah sebagai berikut:

Ho : Tidak ada perbedaan jumlah eosinofil antar-perlakuan.

Hi : Minimal ada sepasang perlakuan yang berbeda.

Berdasarkan hasil analisis statistik data jumlah eosinofil, didapatkan nilai signifikan atau nilai probabilitasnya $p = 0,000 < \alpha = 0,05$ sehingga Ho ditolak yang artinya ada perbedaan antar-perlakuan.

Dependent Variable: Jumlah sel eosinofil

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	170.400 ^a	6	28.400	39.544	.000
blok	2.000	1	2.000	2.785	.102
perlakuan	27.280	4	6.820	9.496	.000
Error	31.600	44	.718		
Total	202.000	50			

a. R Squared = .844 (Adjusted R Squared = .822)

4.2.3 Uji Post Hoc

Berdasarkan hasil uji Anova Blok Design, pengujian data dilanjutkan pada uji *Post Hoc* untuk mengetahui pasangan perlakuan yang berbeda antara sel eosinofil dalam darah dan sel eosinofil dalam jaringan.

1. Jika nilai Sig (*p-value*) < α 0,05 maka signifikan
2. Jika nilai Sig (*p-value*) > α 0,05 maka tidak signifikan

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jumlah sel eosinofil

LSD

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
(J) pemberian ekstrak jinten hitam	(J) pemberian ekstrak jinten hitam					
	kontrol Negatif	-2.0000*	.37899	.000	-2.7638	-1.2362
	kontrol Positif					
	pemberian ekstrak jinten dg dosis 100mg/Kg BB	-1.6000*	.37899	.000	-2.3638	-.8362
	pemberian ekstrak jinten dg dosis 200 mg?Kg BB	-.9000*	.37899	.022	-1.6638	-.1362
	pemberian ekstrak jinten dg dosis 400 mg/Kg BB	-.4000	.37899	.297	-1.1638	.3638
kontrol Positif	kontrol Negatif	2.0000*	.37899	.000	1.2362	2.7638
	pemberian ekstrak jinten dg dosis 100mg/Kg BB	.4000	.37899	.297	-.3638	1.1638
	pemberian ekstrak jinten dg dosis 200 mg?Kg BB	1.1000*	.37899	.006	.3362	1.8638
	pemberian ekstrak jinten dg dosis 400 mg/Kg BB	1.6000*	.37899	.000	.8362	2.3638
pemberian ekstrak jinten dg dosis 100mg/Kg BB	kontrol Negatif	1.6000*	.37899	.000	.8362	2.3638
	kontrol Positif	-.4000	.37899	.297	-1.1638	.3638
	pemberian ekstrak jinten dg dosis 200 mg?Kg BB	.7000	.37899	.071	-.0638	1.4638
	pemberian ekstrak jinten dg dosis 400 mg/Kg BB	1.2000*	.37899	.003	.4362	1.9638
pemberian ekstrak jinten dg dosis 200 mg?Kg BB	kontrol Negatif	.9000*	.37899	.022	.1362	1.6638
	kontrol Positif	-1.1000*	.37899	.006	-1.8638	-.3362
	pemberian ekstrak jinten dg dosis 100mg/Kg BB	-.7000	.37899	.071	-1.4638	.0638
	pemberian ekstrak jinten dg dosis 400 mg/Kg BB	.5000	.37899	.194	-.2638	1.2638
pemberian ekstrak jinten dg dosis 400 mg/Kg BB	kontrol Negatif	.4000	.37899	.297	-.3638	1.1638
	kontrol Positif	-1.6000*	.37899	.000	-2.3638	-.8362
	pemberian ekstrak jinten dg dosis 100mg/Kg BB	-1.2000*	.37899	.003	-1.9638	-.4362
	pemberian ekstrak jinten dg dosis 200 mg?Kg BB	-.5000	.37899	.194	-1.2638	.2638

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .718.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Berdasarkan Hasil uji Post Hoc didapat perbedaan bermakna antara pasangan perlakuan, yaitu:

1. Perlakuan kontrol negatif berbeda dengan kontrol positif.
2. Perlakuan kontrol negatif berbeda dengan pemberian ekstrak jinten dengan dosis 100mg/Kg BB.
3. Perlakuan kontrol negatif berbeda dengan pemberian ekstrak jinten dengan dosis 200mg/Kg BB.

4. Perlakuan kontrol positif berbeda dengan pemberian ekstrak jintan dengan dosis 200mg/Kg BB.
5. Perlakuan kontrol positif berbeda dengan pemberian ekstrak jintan dengan dosis 400mg/Kg BB.
6. Perlakuan pemberian ekstrak jintan dengan dosis 100mg/Kg BB berbeda dengan pemberian ekstrak jintan dengan dosis 400mg/Kg BB.

4.3 Pembahasan

Penelitian ini untuk mengetahui efektifitas ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap jumlah sel eosinofil dalam darah dan jaringan usus mencit yang alergi. Penelitian ini dilakukan selama 21 hari pada hewan coba mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c jantan yang dipilih karena sesuai pada uji farmakologi yaitu mencit jantan dapat mengurangi variasi fisiologis terutama siklus hormon betina selama siklus estrogen yang dapat mempengaruhi respons imun mencit.

Pada tabel 4.1 ditunjukkan rata-rata jumlah sel eosinofil dalam darah kelompok kontrol positif lebih banyak daripada kelompok kontrol negatif dan uji *Post Hoc* diperoleh hasil statistik bahwa perlakuan kontrol negatif berbeda dengan kontrol positif. Peningkatan jumlah sel eosinofil pada kelompok kontrol positif dibandingkan kelompok kontrol negatif disebabkan karena adanya induksi ovalbumin, sehingga mencit mengalami inflamasi dan sensitisasi akibat pemberian ovalbumin. Ovalbumin merupakan protein utama pada putih telur yang dapat digunakan sebagai alergen pada hewan coba (Cahiadewi dkk, 2016).

Ovalbumin yang digunakan dalam penelitian ini bukan sebagai alergen namun berperan sebagai protein pembawa penyebab sel eosinofil lebih sensitif, sehingga ketika terjadi paparan ulang ovalbumin sel eosinofil akan terbentuk lebih cepat. Menurut Harlow dan Lane (1998), bahwa ovalbumin merupakan protein pembawa untuk menstimulasi respon imun setelah injeksi. Alergen utama dalam penelitian ini adalah $Al(OH)_3$. Penambahan $Al(OH)_3$ pada ovalbumin akan menyebabkan ovalbumin bersifat lebih antigen di dalam tubuh. Ovalbumin pada dasarnya tidak memberikan efek jika diinduksi dalam tubuh, namun penambahan $Al(OH)_3$ dapat menyebabkan ovalbumin dikenali oleh tubuh sebagai senyawa yang asing (Leasa AN, 2010).

Induksi ovalbumin secara intraperitoneal menyebabkan sensitisasi alergi sistemik, akibat terjadinya pergeseran respons imun ke arah ke arah Th2 dominan. Sel Th2 akan menghasilkan beberapa sitokin, yaitu IL-4, IL-13 dan IL-5. Paparan ulang ovalbumin melalui peroral akan menyebabkan inflamasi alergi pada saluran pencernaan, dengan stimulasi IL-5 yang diproduksi Th2 meningkatkan infiltrasi eosinofil (Ningrum, 2016). Eosinofil merupakan sel dominan yang direkrut pada jaringan terinflamasi berkaitan dengan reaksi alergi (Cahiadewi dkk, 2016). Oleh karena itu, pada kelompok kontrol positif jumlah sel eosinofil akan meningkat untuk menetralsir adanya alergen yang berasal dari penginduksian ovalbumin pada mencit.

Pada tabel 4.4 menunjukkan rata-rata jumlah sel eosinofil dalam jaringan usus, kelompok kontrol positif yaitu 3.2 sel/lp dan kelompok kontrol negatif 0 sel/lp. Pada kontrol negatif tidak ditemukan sel eosinofil dikarenakan secara normal jaringan usus terutama usus halus tidak ada sel eosinofil, meskipun usus halus merupakan salah satu jaring-

an yang memproduksi sel eosinofil yang *naïve* (Xenakis JJ, *et al*, 2017).

Peningkatan rata-rata jumlah sel eosinofil pada kontrol positif dalam jaringan usus lebih banyak daripada jumlah sel eosinofil dalam darah. Hal ini dimungkinkan adanya banyaknya sel *naïve* yang terbentuk di dalam jaringan usus akibat induksi ovalbumin melalui intrapreitoneal dan per oral. Menurut Cahiadewi (2016), eosinofil merupakan sel dominan yang direkrut pada jaringan terinflamasi berkaitan dengan reaksi alergi. Akumulasi eosinofil pada darah tepi yang dapat saja terjadi karena adanya inflamasi pada daerah lain. Proses rekrutmen eosinofil dan pelepasan granula protein eosinofil yang memiliki efek toksik pada jaringan terinflamasi turut dipengaruhi oleh IL-5. Adanya sel eosinofil dalam darah dan jaringan menunjukkan seperti penyakit alergi (Stone, et al, 2010).

Berdasarkan hasil analisis data statistik jumlah sel eosinofil menggunakan uji *Anova blok design* pada faktor perlakuan didapatkan nilai $p = 0,000 < \alpha = 0,05$ yang artinya ada perbedaan antar-perlakuan, dan pada uji Post Hoc diperoleh hasil adanya perbedaan bermakna antara perlakuan kontrol positif dengan perlakuan pemberian ekstrak jintan dengan dosis 200mg/Kg BB dan dosis dosis 400mg/Kg BB. Hal ini kemungkinan adanya senyawa thymoquinone yang dapat menjaga stabilitas hematologi darah dengan mencegah terjadinya kenaikan maupun penurunan sel-sel darah salah satunya eosinofil. Selain itu stress oksidatif dapat meningkatkan produksi Th2 sehingga lebih banyak lagi IL-5 yang ada di dalam darah, hal ini memicu pengaktifan dan perekrutan sel eosinofil.

Hal ini sesuai dengan penelitian Nurfaizin, dkk. (2014) yang menjelaskan bahwa thymoquinone dapat menjaga darah dan mencegah terjadi penurunan eritrosit, leukosit, eosinofil dan heterofil. Stress oksidatif berperan pada peningkatan dan kelangsungan inflamasi yang berdampak pada peningkatan hipersensitivitas. Hal ini dikarenakan hilangnya kontrol oksidan dapat menimbulkan inisiasi sel Th2 yang merupakan fase awal inflamasi alergi. Reaksi inflamasi ini menyebabkan aktivasi eosinofil, sehingga jumlahnya meningkat di peredaran darah dan saluran pencernaan (Riyatno, 2013).

Pada kelompok perlakuan mencit yang diinduksi ovalbumin dengan perlakuan pemberian ekstrak biji jintan hitam dengan dosis 100mg/KgBB selama 21 hari, tidak terdapat penurunan jumlah sel eosinofil apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini disebabkan beberapa faktor yaitu kandungan thymoquinone dalam ekstrak jintan hitam dengan dosis 100mg/Kg BB jumlahnya sedikit sehingga belum mampu mencegah ekspresi peningkatan jumlah sel eosinofil. Hal ini sesuai dengan penelitian Marlinda (2015), yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol jintan hitam dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB dapat meningkatkan titer antibodi dan jumlah limfosit dan monosit sangat signifikan, serta menurunkan jumlah neutrofil segmen sangat signifikan, namun tidak signifikan pada sel eosinofil dan neutrofil batang.

Selain itu, waktu paruh eosinofil pada sirkulasi darah adalah 8-18 jam sehingga belum terjadi peluruhan dari jumlah sel eosinofilnya dan akhirnya banyak di jaringan (Stone, *et al*, 2010; Ratih, dkk, 2015; Kovalski and Weller, 2016).

Pada kelompok perlakuan dua dan tiga yaitu kelompok mencit dengan pemberian ekstrak jintan hitam dosis 200mg/KgBB dan 400 mg/KgBB selama 21 hari menunjukkan adanya penurunan jumlah sel eosinofil jika dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini dikarenakan jintan hitam dapat menekan produksi Th2 sehingga terjadi keseimbangan antara Th1-Th2 maka pelepasan mediator inflamasi, seperti IL-5 menurun. Penurunan IL-5 ini menghambat infiltrasi sel eosinofil (Cahiyadewi, 2016; Ningrum, 2016).

Hal ini sesuai dengan Azimi (2016), mencit yang disensitisasi dengan ovalbumin dan diterapi dengan minyak jintan hitam melalui peroral dapat menurunkan jumlah total leukosit, makrofag, dan eosinofil secara signifikan. Kandungan biji jintan hitam antara lain minyak atsiri, minyak lemak, melantin (saponin), zat pahit nigelin, nigelon, dan timoquinon. Minyak atsiri mempunyai aktivitas sebagai anti alergi, anti asma, dan anti inflamasi (Wadud, 2014).

Berdasarkan penelitian ini ekstrak biji jintan hitam dapat digunakan sebagai pencegahan alergi karena kandungan timoquinon mampu menekan produksi mediator-mediator inflamasi dan infiltrasi eosinofil pada daerah yang mengalami paparan alergen. Imunomodulator ekstrak biji jintan hitam, maka jumlah sel eosinofil di peredaran darah perifer cenderung menjadi normal sehingga tidak menimbulkan respons tubuh yang berlebihan terhadap alergen.

Evy Diah Woelansari, S.Si., M.Kes.

Bab 5

Kesimpulan dan Rekomendasi



Evy Diah Woelansari, S.Si., M.Kes.

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan mengenai efektifitas ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap jumlah sel eosinofil dalam darah dan jaringan usus mencit yang alergi, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Rata-rata sel eosinofil dalam darah mencit yang alergi pada kontrol negatif adalah 1,4%, rata-rata sel eosinofil pada kontrol positif dalam darah sebesar 2,2%. Rata-rata sel eosinofil pada kelompok perlakuan 1 dengan dosis 100 mg/KgBB sebesar 2%, kelompok perlakuan 2 dengan dosis 200 mg/KgBB sebesar 1,2% dan kelompok perlakuan 3 dengan dosis 400 mg/KgBB sebesar 0,6%.
2. Rata-rata sel eosinofil dalam jaringan usus mencit yang alergi pada kontrol negatif adalah 0 sel/lp, rata-rata sel eosinofil pada kontrol positif dalam darah sebesar 3,2 sel/lp. Rata-rata sel eosinofil pada kelompok perlakuan 1 dengan dosis 100 mg/KgBB sebesar 2,6 sel/lp, kelompok perlakuan 2 dengan dosis 200 mg/KgBB sebesar 2 sel/lp dan kelompok perlakuan 3 dengan dosis 400 mg/KgBB sebesar 1,6 sel/lp.
3. Berdasarkan uji statistik diperoleh konsentrasi ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa L.*) dosis 400 mg/KgBB efektif menekan jumlah sel eosinofil dalam darah dan jaringan usus pada mencit yang alergi.

5.2 Rekomendasi

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan variasi strain mencit untuk melihat potensi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap ekspresi sel eosinofil dalam darah.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai hubungan sel eosinofil dengan kadar *Eosinofil Cationin Protein* (ECP) terhadap mencit yang diberi imunomodulator ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*).

Daftar Pustaka

- Abeyrathne, E. D. N. S., H. Y. Lee, and D. U. Ahn. 2013. *Egg white proteins and their potential use in food processing or as nutraceutical and pharmaceutical agents—A review*. Poultry Science 92:3292-3299.
- Afriansyah, M. Ardi. 2016. *Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Preparat Apusan Darah Tepi Terhadap Hasil Makroskopis dan Morfologi Sel Darah Merah (Eritrosit)*. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
- AgraQaunt Ovalbumin Assay, 2011
- Ainuzzakki, Vikki. 2016. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 80 % Biji Jintan Hitam (Nigella sativa L.) Indonesia terhadap Kadar LDL-C dan HDL-C Serum Tikus (Rattus Norvegicus) Model Diabetes Melitus Tipe 2*. Malang. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Akrom, A. Widjaya, & T. Armansyah. 2015. *Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (Nigella sativa) Meningkatkan Aktivitas Fagositosis Makrofag Mencit Swiss Yang Diinfeksi Lysteria monocytogenes*. Jurnal Kedokteran Hewan 9(2): 1978-225X.
- Alattas, S.A., F.M. Zahran & S.A. Turkistany. 2016. *Nigella sativa and its active constituent thymoquinone in oral health*. Saudi Med J Vol 37. 3:235-244.

- Aldi, Yufri & Suhatri. 2011. *Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (Nigella sativa Linn.) Terhadap Titer Antibodi dan Jumlah Sel Leukosit Pada Mencit Putih Jantan*. Scientia 1:2087-5045.
- Aljabre, Salih H. M, Omar M. Alakloby, dan Mohammad A. Randhawa. 2015. *Dermatological Effects of Nigella sativa*. Journal of Dermatology and Dermatologic Surgery 19: 91-98.
- Baratawidjaja, KG. 2010. *Imunologi Dasar. Edisi VIII*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta.
- Alsamarai, Abdul Ghani Mohamed, Mohamed Abdul Satar and Amina Hamed Ahmed Alobaidi. 2012. *Evaluation of Therapeutic Efficacy of Nigella sativa (Black Seed) for Treatment of Allergic Rhinitis. Departments of Medicine and Biochemistry, Tikrit University College of Medicine Tikrit Iraq*.
- Barnianto, Ambrosius Issa. 2012. *Efek Ekstrak Nigella Sativa Terhadap Jumlah Sel T CD 4+ dan Sel T CD 8+ Jaringan Adenokarsinoma Payudara Mencit C3H*". Program Pascasarjana Magister Ilmu Biomedik Dan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Universitas Diponegoro. Semarang. Tesis.
- BPOM, 2015. *Efek antihistamin*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta Pusat.
- Chafen JS, Newberry SJ, Riedl MA, Bravata MD, Maglione M, Suttorp MJ, et al. *Diagnosing and managing common food allergies*. JAMA2010; 303(18):1848-56.3.
- Candra Yolanda, Asih Setiarini, Iris Rengganis, 2011. *Gambaran Sensitivitas Terhadap Alergen Makanan*. Makara, Kesehatan, Vol. 15, No. 1, Juni 2011, hal. 44-50.

- Dewi, Nurfita. 2012. *Dahsyatnya Jintan Hitam untuk Pengobatan Berbagai Penyakit*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Elliot, dkk. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran & Infeksi Edisi 4*. Jakarta: EGC.
- Fachri, Muhammad & Tajudin, Sari Rahmawati. 2017. *Hubungan Nilai Eosinofil Darah Tepi dengan Gejala Asma pada Pasien Asma Stabil*. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan, Vol. 13, No. 2.
- Fachrudin, Moh. Mursyid. 2013. *Jumlah Leukosit, Differensiasi Leukosit, Dan Indeks Stress Luak Jawa (Paradoxurus hermaphroditus)*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor. Skripsi.
- Fattory, Hittoh, dkk. 2015. *Efek Imunoterapi, Probiotik, Nigella Sativa terhadap Rasio CD4/CD8, Kadar Immunoglobulin E, dan Skoring Asma*. Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. 28, No. 4.
- Fiocchi Alessandro & Fierro Vincenzo. 2017. *Food Allergy. World Allergy Organization*.
- Karon, Bijoy dkk. 2011. *Preliminary Antimicrobial, Cytotoxic and Chemical Investigations of Averrhoa bilimbi Linn. and Zizyphus mauritiana Lam*. Bangladesh Pharmaceutical Journal Vol 14 No 2.
- Kartikawati H. 2003. *Pengaruh Polifenol Teh Hijau terhadap respon Alergi pada Mencit Balb/c yang disensitisasi Ovalbumin*.
- Kenyon, S.J.M dkk. 2010. *A novel role for neutrophils as a source of T cell-recruiting chemokines IP-10 and Mig*

during the DTH response to HSV-1 antigen. Diakses tanggal 2017-01-21.

Kovalski Anna and Weller Peter F. 2016. *Eosinophilia*. Prim Care Journal. NCBI.

Grimshaw KE, dkk. 2016. *Incidence and risk factors for food hypersensitivity in UK infants: results from a birth cohort study*. Clin Transl Allergy.

Gupta RS, dkk. 2013. *Parent report of physician diagnosis in pediatric food allergy*. J Allergy Clin Immunol. 2013;131(1):150-6.

Hadi, Guruh Pratomo Setiawan. 2017. *Reaksi Hipersensitivitas*.

Hidayat, Rahmad. 2017. *Efektivitas Imunomodulator Ekstrak Jintan Hitam (Negila Sativa) Terhadap Kadar Anti-Hbs Pada Tikus Wistar (Rattus norvegicus) Yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B*. Jurusan Analisis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya. Surabaya. Skripsi.

Jatmiko, Safari Wahyu. 2015. *Eosinofil Sebagai Sel Penyaji Antigen*. Jurnal Penelitian Biologi. Volume 1 No. 1. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta. <https://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v1i1.312..>

Leasa Bianca Natania. 2010. *Pemberian Ovalbumin Sebagai Penyebab Alergi Pada Marmot*. Departemen Biokimia FMIPA Institut Pertanian Bogor.

Manurung, Demas Nico M., Ellyza Nasrul, dan Irvan Medison. 2013. *Gambaran Jumlah Eosinofil Darah Tepi Penderita Asma Bronkial di Bangsal Paru RSUP Dr. M. Djamil Padang*. Jurnal Kesehatan Andalas. 2013; 2(3).

- Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. <http://jurnal.fk.unand.ac.id>. Naeim, Faramarz. 2013. *Atlas of Hematopathology. First Edition*. Elsevier Inc.: *United State of America*.
- Ningrum, Tri Setya, Suprihati, dan Yanuar Iman Santosa. 2016. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kunyit (Curcuma Longa) Terhadap Jumlah Eosinofil Di Jaringan Paru Pada Penyakit Alergi: Studi Eksperimental Pada Mencit Balb/C Yang Diinduksi Ovalbumin*. Jurnal Kedokteran Diponegoro Vol. 5, No. 4. <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/medico>.
- Olson, Kate Rittenhouse & Nardin, Ernesto De. 2017. *Imunologi dan Serologi Klinis Modern Untuk Kedokteran & Analisis Kesehatan (MLT/CLT)*. Jakarta: EGC.
- Puspowardojo, Irena Aryani. 2016. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (Nigella sativa) terhadap Kadar Superoxide Dismutase (SOD) Plasma Pada Tikus Sprague Dawley Yang Terpapar Asap Rokok*. Semarang. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Skripsi.
- Rachim, Mutia. 2013. *Studi Histopatologi Manfaat Ekstrak Jintan Hitam (Nigella sativa) Pada Pernafasan Ayam Broiler*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ramadhani, Putri, dkk. 2014. *Pengaruh Pemberian Sediaan Minyak Jintan Hitam (Nigella sativa L.) Peroral Terhadap Nilai Hitung Jenis Sel Pada Pasien Asma*. Prosiding Seminar Nasional dan Workshop “Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik IV” tahun 2014.
- Ratih, Indira, dkk. 2015. *Pengaruh Imunoterapi, Probiotik dan Jintan Hitam terhadap CD4IFN, Eosinofil, dan Skor Asma*. Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. 28, No. 3.

- Rinawarti, Fitria. 2017. *Hubungan Peran Dan Pengetahuan Ibu Dalam Pencegahan Kekambuhan Alergi Makanan Pada Balita*. Jurnal Berkala Epidemiologi, Vol.5 No.1 Januari 2017, hlm. 118-129. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga.
- Stone, Kelly D., Calman Prussin, and Dean D. Metcalfe. 2010. *IgE, Mast Cells, Basophils, and Eosinophil*. J Allergy Clin Immunol. NCBI.
- Sulistiawati, Farida & Radji, Maksum. 2014. *Potensi Pemanfaatan Nigella sativa L. sebagai Imunomodulator dan Antiinflamasi*. Pharmaceutical Science & Research. Vol.1 No. 2. Fakultas Farmasi Universitas Indonesia. Jakarta.
- Suseno Arif, Sharfina, Suryono. 2015. *Efek Angiogenesis Lumbrokinase terhadap Gambaran Histopatologi Jantung Tikus Galur Wistar Hipertensi*. e-Jurnal Pustaka Kesehatan, vol. 3 (no. 1), Januari 2015.
- Trimayanti, Yeli, Gunawan Pamudji W, dan Yul Mariyah. 2015. *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (Andrographis paniculata Nees) dan Biji Jinten Hitam (Nigella sativa L.) terhadap Reaksi Anafilaksis Kutan Aktif pada Tikus Putih Wistar Jantan yang Diinduksi Ovalbumin*. Jurnal Farmasi Indonesia, hal 70-78 Vol. 12 No. 1.
- Umborowati, Menul Ayu, Sawitri, dan Marsoedi Hoetomo. 2015. *Kadar Eosinophil dan Eosinophil Cationic Protein Meningkat pada Pasien Dermatitis Akibat Makanan*. BIKKK-Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin-Periodic al of Dermatology and Venereology Vol.27/No. 2.

- Utari, Luh Putu, dkk. 2015. *Hubungan Metode Persalinan dengan Angka Kejadian Alergi Pada Bayi*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Tesis.
- Wadud, Salma Abdul. 2014. *Uji Efektivitas Ekstrak Biji Jintan Hitam (Nigella sativa) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Shigella dysenteriae*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayataullah Jakarta. Jakarta. Skripsi.
- Zafar, K. dkk. 2016. *Pharmacological Activity of Nigella Sativa*. World Journal of Pharmaceutical Sciences 4(5): 234-241.
- Zikriah. 2014. *Uji Imunomodulator Ekstrak Etanol Jinten Hitam (Nigella sativa L.) Terhadap Jumlah Total Leukosit, Persentase Limfosit, Persentase Monosit dan Kadar Interleukin-16 Pada Mencit Balb/c*. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Jakarta. Skripsi.

Lampiran

Biodata Ketua Peneliti

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap	Evy Diah Woelansari, S.Si., M.Kes.
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Jabatan Fungsional	Lektor
4	NIP	197501212000032001
5	NIDN	4021017501
6	Tempat/Tgl Lahir	Surabaya, 21 Januari 1975
7	E-mail	evydiahw@yahoo.com
8	Nomor HP	089611897612/08121670912
9	Alamat Kantor	Jl. Karangmenjangan 18 A Surabaya
10	No Telp/Fax	
11	Mata Kuliah yang diampu	1. Imunologi 2. Hematologi 3. Transfusi darah

B. Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Adi Buana	Universitas Airlangga
Bidang Ilmu	Biologi	Imunologi
Tahun Masuk-Lulus	2002	2007-2009

C. Pengalaman Penelitian dalam 5 Tahun terakhir

No	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
1	2013	Rimpang Jahe (<i>Zingiberis rhizomae roxb</i>) Terhadap Kadar Protein Ikan Kembung (<i>Rastrelliger kanagurta</i>)	Mandiri	5.000.000

2	2014	Insidensi Infeksi <i>Treponema Pallidum</i> pada Wanita Pasangan Usia Subur	Risbinakes	12.000.000
3	2016	Faktor <i>Error Rate</i> pada Pemeriksaan Mikroskopis Malaria Mahasiswa di Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya	Mandiri	5.000.000
4	2017	Potensi Ekstrak Jintan Hitam (<i>Nigella sativa L.</i>) terhadap Proliferasi Limfosit Tikus Wistar yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B	Hibah Bersaing	35.000.000

D. Publikasi Artikel Ilmiah dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Vol/No/Tahun
1	Uji Daya Hambat Pertumbuhan Jamur <i>Trichophyton Mentagrophytes</i> dengan Penambahan Perasan Daun Lidah Buaya	Buletin Penelitian RSUD Dr. Soetomo	Vol 14 No 4 Desember 2012
2	<i>Effect Of Rimpang Temu Giring (Curcuma Heyneana Val. & V. Zijp.) And Rimpang Temu Hitam (Curcuma aeruginosa Roxb.) Boiled Water On The Mortality Of Fasciola hepatica Worm In Vitro</i>	Folia Medica Indonesiana	Vol 49 No 1 March 2013
3	Seroprevalensi <i>Toxoplasma</i>	Prosiding	ISBN 978-602-

	<i>gondii</i> pada Ibu Hamil yang Kontak dengan Unggas di Jalan Rangkah 6 Surabaya	Seminar Kesehatan Nasional	73545-0-0/Th 2015
4	<i>The Effect of Ultrasonic Application For the Microbiological Quality of Bulk Cooking Oil</i>	International Journal of Scientific & Technology Research	Vol 5 Issue 6 ISSN 2277-8616/ Th 2016
5	<i>Prevalence Sexual Transmitted Infection (Hiv And Syphilis) Among Men Who Have Sex With Men (MSM) In Surabaya</i>	Proceeding International conference on Health Polytechnic Surabaya	ISBN 978-602-73545-6-2/Th 2016
6	<i>Antimikroba Rimpang Temu glring (Curcuma Heyneana Val & V Zipp) Terhadap Limfosit Mencit Yang Diinfeksi Escherichia Coli</i>	Prosiding Seminar Kesehatan Nasional	ISBN 978-602-60579-1-4/Th 2016
7	<i>Error Rate In Malaria Microscopic Examination By the Health Analyst Student</i>	International Journal of Scientific & Technology Research	ISSN 2277-8615Vol 6, Issue 07, July 2017

E. Karya Buku dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit
1	Efek Paparan Tembakau terhadap Kadar Hemoglobin, Hematokrit dan Jumlah Eritrosit	2015	120	Soega Publishing

Kode Etik dari Komisi Etik Poltelkkes Kemenkes Surabaya



KEMENTERIAN KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
No Reg: 054/KNEPK/2014
Jl Pucang Jajar Tengah No 56 Surabaya
Email: komisietiklitkes@poltekkesdepkes-sby.ac.id

PERSETUJUAN ETIK (ETHICAL APPROVAL)

Nomor :168/S/KEPK/V/2018

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surabaya, setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul:

"EFEKTIFITAS EKSTRAK JINTAN HITAM (NIGELLA SATIVA L.) TERHADAP JUMLAH SEL EOSINOFIL DALAM DARAH DAN JARINGAN USUS MENCIT YANG ALERGI"

yang mengikutsertakan manusia sebagai subyek penelitian, dengan Ketua Pelaksana/Peneliti Utama:

EVY DIAH WOELANSARI, S.Si, M.Kes

dapat disetujui pelaksanaannya. Persetujuan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan batas waktu pelaksanaan penelitian seperti tertera dalam protokol.

Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada KEPK- Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya. Jika ada perubahan protokol dan atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol)

Surabaya, 22 Mei 2018

Ketua
Komisi Etik Penelitian Kesehatan
Kemenkes Surabaya



[Signature]
Drs. M. Rizki Nurwono, dr., DTM&H, MARS
NIP. 19530523 198003 1006


REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00201901971, 22 Januari 2019

Pencipta

Nama : **Evy Diah Woelansari, S.Si, M.Kes, drh. Ocky Dwi Suprobawati, M.Kes., dkk**

Alamat : **Rangkah 6 No.74 RT.003 RW.002 Kel.Rangkah Kec.Tambaksari, Surabaya, Jawa Timur, -**

Kewarganegaraan : **Indonesia**

Pemegang Hak Cipta

Nama : **Evy Diah Woelansari, S.Si, M.Kes**

Alamat : **Rangkah 6 No.74 RT.003 RW.002 Kel.Rangkah Kec.Tambaksari, Surabaya, Jawa Timur, -**

Kewarganegaraan : **Indonesia**

Jenis Ciptaan : **Laporan Penelitian**

Judul Ciptaan : **EFEKTIFITAS EKSTRAK JINTAN HITAM (Nigella Sativa L) TERHADAP JUMLAH SEL EOSINOFIL DALAM DARAH DAN JARINGAN USUS MENCIT YANG ALERGI**

Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : **28 September 2018, di Surabaya**

Jangka waktu perlindungan : **Berlaku selama hidup Pencipta dan terus berlangsung selama 70 (tujuh puluh) tahun setelah Pencipta meninggal dunia, terhitung mulai tanggal 1 Januari tahun berikutnya.**

Nomor pencatatan : **000132517**

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.
Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.

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



Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001



LOG BOOK HIBAH BERSAING TAHUN 2018

TANGGAL	KEGIATAN
23 Februari 2018	Pengajuan proposal penelitian Hibah Bersaing
16 April 2018	Penerimaan dan seminar protokol Hibah Bersaing
4 Mei 2018	<p>Surat ijin dan surat tugas pembuatan ekstrak jintan hitam di ULP Fakultas Farmasi Unair Surabaya</p> <p>Dokumen :</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="325 621 605 991"> </div> <div data-bbox="628 621 930 991"> </div> </div>
4-27 Mei 2018	<p>Pembuatan ekstrak jintan hitam di ULP Fakultas Farmasi Unair Surabaya</p> <p>Dokumentasi : Pembuatan Ekstrak jintan hitam</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="342 1133 577 1392"> <p style="text-align: center;">Biji Jintan Hitam</p> </div> <div data-bbox="645 1133 880 1392"> <p style="text-align: center;">Penghalusan Jintan Hitam</p> </div> </div>



Penimbangan Jintan Hitam



Penambahan etanol 96% sebanyak 750 ml dan di homogenkan



Proses Maserasi dalam *buchner* Maserasi 24 Jam



Proses *filtrasi* dan diulang maserasi sebanyak 3X



Penguapan/Pemekatan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C.



Hasil Ekstrak Jintan Hitam

Lampiran

2-13 Juni
2018

Dokumentasi : Lab Pusat Penelitian dan pengembangan Stem Cell

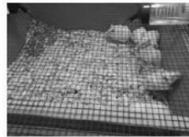


Larutan Ovalbumin

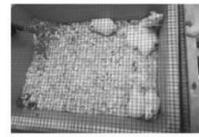
Dokumentasi Proses adaptasi dan perlakuan mencit



Kontrol Positif



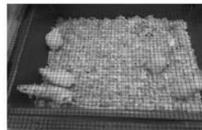
Kontrol Negatif



Kel. Perilaku I



Kel. Perilaku II



Kel Perilaku III



Pemberian Ekstrak Biji Jintan Hitam



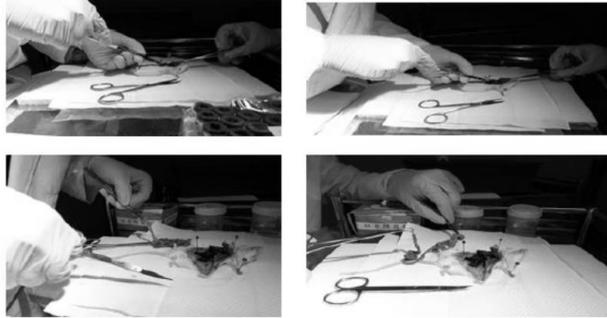
Induksi Ovalbumin Peroral

Dokumentasi : Hasil proses perlakuan pemberian ovalbumin dan jintan hitam pada menicet



Lampiran

Dokumentasi : Pengambilan jaringan usus mencit

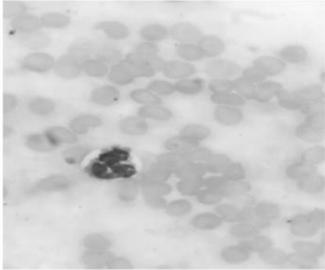


Dokumentasi : Pembuatan slide dan preparasi usus mencit dengan pemberian NBF 10% untuk pembuatan slide jaringan di Lab.Hematologi Analisis Kesehatan



Dokumentasi : Pembacaan slide untuk menghitung sel eosinofil mencit di Laboratorium Hematologi Jurusan Analisis Kesehatan



	  <p>Pembacaan sel eosinofil dalam Darah</p> <p>Sel Eosinofil dalam darah</p>
<p>25 Juni-17 Juli 2018</p>	<p>Pembuatan slide jaringan usus mencit di laboratorium Patologi Anatomi Fak. Kedokteran Unair Surabaya</p> 
<p>6-8 Agustus 2018</p>	<p>Pembacaan slide sel eosinofil pada jaringan usus mencit di laboratorium Patologi Anatomi Fak. Kedokteran Unair Surabaya</p> 