



REPUBLIK INDONESIA  
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

**SURAT PENCATATAN CIPTAAN**

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia Republik Indonesia, berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta yaitu Undang-Undang tentang perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra (tidak melindungi hak kekayaan intelektual lainnya), dengan ini menerangkan bahwa hal-hal tersebut di bawah ini telah tercatat dalam Daftar Umum Ciptaan:

- I. Nomor dan tanggal permohonan : EC00201706561, 13 Desember 2017
- II. Pencipta
- Nama : **EVY DIAH WOELANSARI, S.SI,M.Kes**  
Alamat : RANGKAH 6 NO. 74 , SURABAYA, JAWA TIMUR, -  
Kewarganegaraan : Indonesia
- Nama : **SUHARIYADI, S.Pd,M.Kes**  
Alamat : CEMANDI KEL. CEMANDI KEC. SEDATI, KABUPATEN SIDOARJO, JAWA TIMUR, -  
Kewarganegaraan : Indonesia
- Nama : **RETNO SASONGKOWATI, S.PD,S.SI,M.Kes**  
Alamat : KARANGAN MULYA 4/10 RT 003/ RW 006 KEL. BABATAN KEC. WIYUNG, SURABAYA, JAWA TIMUR, -  
Kewarganegaraan : Indonesia
- III. Pemegang Hak Cipta
- Nama : **EVY DIAH WOELANSARI, S.SI,M.Kes**  
Alamat : RANGKAH 6 NO.74, SURABAYA, JAWA TIMUR, -  
Kewarganegaraan : Indonesia
- IV. Jenis Ciptaan : Buku
- V. Judul Ciptaan : **POTENSI EKSTRAK JINTAN HITAM (NIGELLA SATIVA L) TERHADAP PROLIFERASI LIMFOSIT TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI VAKSIN HEPATITIS B**
- VI. Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 28 September 2017, di SURABAYA
- VII. 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.
- VIII. Nomor pencatatan : 05882

Pencatatan Ciptaan atau produk Hak Terkait dalam Daftar Umum Ciptaan bukan merupakan pengesahan atas isi, arti, maksud, atau bentuk dari Ciptaan atau produk Hak Terkait yang dicatat. Menteri tidak bertanggung jawab atas isi, arti, maksud, atau bentuk dari Ciptaan atau produk Hak Terkait yang terdaftar. (Pasal 72 dan Penjelasan Pasal 72 Undang-undang Nomor 28 Tahun 2014 Tentang Hak Cipta)

a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA  
REPUBLIK INDONESIA  
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL  
u.b.  
DIREKTUR HAK CIPTA DAN DESAIN INDUSTRI

Dr. Dra. Erni Widhyastari, Apt., M.Si.  
NIP. 196003181991032001

**BUKU LAPORAN PENELITIAN**

**POTENSI EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa L.*) TERHADAP  
PROLIFERASI LIMFOSIT TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI VAKSIN  
HEPATITIS B**

**BIDANG ILMU ANALIS KESEHATAN (KODE 379)**



**Peneliti Utama : Evy Diah Woelansari, S.Si, M.Kes (NIP. 197501212000032001)**  
**Anggota (1) : Suhariyadi, S.Pd, M.Kes (NIP. 196808291989031003)**  
**Anggota (2) : Retno Sasongkowati, S.Pd, S.Si, M.Kes (NIP. 196510031988032002)**

**POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES SURABAYA  
TAHUN 2017**

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul: Potensi Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa L.*) Terhadap Proliferasi Limfosit Tikus Wistar yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B

### Peneliti Utama

Nama Lengkap : Evy Diah Woelansari, S.Si, M.Kes  
NIP : 197501212000032001  
Jabatan Fungsional : Lektor  
Program Studi : Diploma 4 Analisis Kesehatan Surabaya  
Poltekkes : Poltekkes Kemenkes Surabaya  
Nomor HP : 08121670912  
Alamat e-mail : evydiahw@yahoo.com

### Anggota 1

Nama Lengkap : Suhariyadi, S.Pd, M.Kes  
NIP : 196808291989031003  
Program Studi : Diploma 3 Analisis Kesehatan Surabaya

### Anggota 2

Nama Lengkap : Retno Sasongkowati, S.Pd, S.Si, M.Kes  
NIP : 19196510031988032002  
Program Studi : Diploma 4 Analisis Kesehatan Surabaya  
Institusi/Industri Mitra : FKH dan FK Patologi Anatomi Unair Surabaya  
Nama Institusi Mitra : Mulyorejo dan DR. Moestopo Surabaya  
Alamat :  
Penanggung Jawab :  
Tahun Pelaksanaan : 2017  
Sumber Dana Penelitian : Poltekkes Kemenkes Surabaya  
Biaya Penelitian : Rp. 30.000.000,-

Surabaya, September 2017

Menyetujui Pakar  
Penelitian Hibah Bersaing

Ketua Peneliti

DR. Ir. H. Bambang Guruh Irianto, AIM, MM  
NIP. 195801091980101001

Evy Diah Woelansari, S.Si, M.Kes  
NIP. 197501212000032001

Direktur  
Poltekkes Kemenkes Surabaya

Ka Unit PPM

Dr. Bambang Hadi Sugito, M.Kes  
NIP 196204291993031002

Setiawan, S.KM., M.Kes  
NIP 196304211985031005

## PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertandatangan di bawah ini :

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

NIP / NIDN : 197501212000032001 / 4021017501

Judul Penelitian : Potensi Ekstrak Jintan Hitam (*Negila sativa L*) Terhadap Proliferasi Limfosit Tikus Wistar yang Diinduksi Virus Hepatitis B

Dengan ini menyatakan bahwa hasil penelitian ini merupakan hasil karya sendiri dan benar keasliannya. Apabila ternyata di kemudian hari penelitian ini merupakan hasil plagiat atau penjiplakan atas karya orang lain, maka saya bersedia bertanggung jawab sekaligus menerima sanksi.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak dipaksakan.

Peneliti Utama



Evy Diah Woelansari, S.Si, M.Kes  
NIP. 197501212000032001

## DAFTAR ISI

	Halaman
Lembar Pengesahan.....	i
Lembar Pernyataan keaslian .....	ii
Abstrak .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL .....	vi
DAFTAR GAMBAR .....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB 1    PENDAHULUAN.....	1
1.1    LatarBelakang.....	1
1.2    RumusanMasalah.....	5
1.3    TujuanPenelitian.....	5
1.4    ManfaatPenelitian.....	5
BAB 2    TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1    Virus Hepatitis B.....	6
2.2    Patogenesis Hepatitis B .....	6
2.3    Penularan Hepatitis B.....	10
2.4    ResponImunTerhadapInfeksi Hepatitis B .....	11
2.5    Diagnosis Laboratorium Hepatitis B.....	13
2.6    TinjauanTentangJintanHitam ( <i>Nigella sativa L</i> ).....	34
BAB 3    METODE PENELITIAN.....	27
3.1    JenisPenelitian.....	27
3.2    TempatPenelitian .....	27
3.3    Sampel Penelitian.....	27
3.4    VariabelPenelitian .....	28
3.5    Definisi Operasional Variabel.....	28
3.6    AlatdanBahanPenelitian .....	28
3.7    Proses EkstraksiJintanHitam .....	29
3.8    Prosedur Proses Ekstraksi .....	29
3.9    PenentuanDosisPemberianEkstrakJintanhitam .....	29
3.10    PenentuanDosisInduksiVaksin Hepatitis B PadaTikusWistar.....	32
3.11    AdaptasiHewanCoba .....	33
3.12    PerlakuanHewanCoba .....	33
3.13    Proses PembuatanPreparatHistopatologis .....	34
3.14    TeknikAnalisa Data .....	35
3.15    Luaran .....	35
3.16    KerangkaKonseptual .....	36
3.17    KerangkaOperasional .....	37
BAB 4    HASILANALISIS DAN PEMBAHASAN.....	38

4.1 Hasil Analisis.. .....	38
4.2 Pembahasan.....	45
<b>BAB 5 KESIMPULAN DAN REKOMENDASI.....</b>	<b>50</b>
5.1 Kesimpulan .....	50
5.2 Rekomendasi.....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	<b>51</b>
<b>LAMPIRAN</b>	<b>57</b>
<b>LOG BOOK PENELITIAN</b>	

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi utamajintanhitam.....	21
Tabel 2.2 Kandungankimiadalamjintanhitam .....	21
Tabel 2.3 Kandungan asam lemak dalamjintanhitam .....	21
Tabel 4.1 Konversi dosis hewan percobaan dengan manusia .....	33
Tabel 4.2 Hasil proliferasi limfositikus Wistar setelah pemberian ekstrak jintanhitam yang diinduksi vaksin Hepatitis B .....	39

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar2.1 Struktur Virus Hepatitis B .....	8
Gambar2.2 TumbuhandanBijiJintanHitam.....	16
Gambar3.1 SkemaKerangkaKonseptual .....	36
Gambar3.1 SkemaKerangkaOperasional .....	37
Gambar 4.1. GambaransediaanHistopatologihepartikusWistarpada semuakelompok .....	40
Gambar 4.2 Diagram rata-rata proliferasisellimfositpadahepartikusWistar.....	41



## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran1. Biodata ketuadan anggotapeneliti
- Lampiran2. Surat ijin peminjaman kandang hewan coba
- Lampiran3. Surat Tugas Penelitian di FKH Unair
- Lampiran4. Surat Persetujuan Etik
- Lampiran5. Surat Tugas Pembuatan Ekstraksi Jintan Hitam di ULP Fakultas Farmasi Unair Surabaya
- Lampiran6. Surat Ijin Pembuatan dan Pembacaan Preparat
- Lampiran7. Surat Tugas Pembuatan Preparat di Laboratorium Patologi Anatomi FK Unair Surabaya
- Lampiran8. Perlakuan Tikus Wistar
- Lampiran9. Pembedahan Tikus Wistar untuk Diambil Hepar
- Lampiran10. Proses Pembuatan Sediaan Histopatologi
- Lampiran11. Hasil Pemeriksaan Perhitungan Sel Proliferasi Limfosit
- Lampiran12. Gambaran Sel Proliferasi Limfosit Hepar Tikus pada Semua Kelompok
- Lampiran13. Uji Statistik Penelitian

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Virus Hepatitis B (VHB) merupakan masalah kesehatan masyarakat yang serius di seluruh dunia. Hepatitis B merupakan penyakit infeksi hati yang disebabkan oleh virus Hepatitis B (VHB) bersifat akut maupun kronis yang dapat menyebabkan sirosis hati, kanker hati dan kematian. (WHO, 2015). Pada tahun 2013 secara nasional terdapat 1.2% penduduk di Indonesia mengidap penyakit Hepatitis B, dan kondisi ini meningkat dua kali lipat dari tahun 2007, yaitu sekitar 0.6%. Daerah di Indonesia yang memiliki angka prevalensi diatas angka Nasional yaitu, Nusa Tenggara Timur, Papua, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tengah, Maluku, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Utara, NAD, Kalimantan Tengah, Kalimantan Selatan, dan Sumatera Utara (Kemenkes, 2014).

Virus hepatitis B dapat ditularkan melalui perkutan (misal, tusukan yang melalui kulit) atau mukosa, paparan darah infeksius atau cairan tubuh yang mengandung darah. HBsAg telah dideteksi pada beberapa darah dan cairan tubuh, hanya serum, semen, dan air liur dapat menularkan. Virus hepatitis B relatif stabil di lingkungan dan tetap dapat hidup lebih dari 7 hari pada permukaan lingkungan pada suhu kamar. Virus hepatitis B pada konsentrasi  $10^2-3$  virion / mL dapat muncul pada permukaan lingkungan walaupun tidak terlihat adanya darah dan masih dapat menyebabkan penularan. Jika infeksi sudah berlanjut, maka dapat menimbulkan kerusakan hati atau sirosis hati (Pambudi *et al*, 2016). Virus Hepatitis B akan mengalami replikasi di sel *hepar* pada saat 3 hari pasca berada didalam peredaran darah penderita (Indah, 2011).

Adanya infeksi dari VHB secara alamiah akan mendorong respon imun tubuh untuk bereaksi melawan virus yang masuk baik secara humoral maupun seluler. Dalam proses pengobatan infeksi virus terkait juga sistim imunitas penderitanya. Respon imun tubuh akan bekerja ketika tubuh terpapar oleh benda asing seperti bakteri, virus dan mikroorganisme lainnya. Ketika VHB masuk ke dalam tubuh, Seorang penderita dapat dikatakan terinfeksi virus Hepatitis B apabila ditandai dengan Hepatitis B *surface* antigen (HBsAg) positif dalam serum. Sehingga, petanda serologis yang pertama kali terdeteksi setelah virus Hepatitis B masuk kedalam tubuh adalah *surface* antigen dari Hepatitis B (Triani, 2013). Lalu, virus akan menyerang sel hati pada saat 3 hari pasca berada didalam peredaran darah penderita dan melakukan replikasi. Selanjutnya, kode genetik virus Hepatitis B ini melakukan proses transkripsi di sel hati dan memproduksi protein-protein yang merupakan komponen dari virus Hepatitis B. Protein pertama kali terproduksi adalah *surface* antigen Hepatitis B (Indah,2011 ; Bahrin, dkk.,2014). Hal ini dapat menyebabkan terjadinya inflamasi pada hati dan memicu respon imun tubuh untuk memberikan tanda dan gejala adanya infeksi hepatitis B (Andareto, 2015).

Sistim imunitas berhubungan dengan respon imun yang dimediasi oleh sel limfosit. Sel imun yang berperan penting dalam respon imun infeksi virus Hepatitis B salah satunya adalah sel limfosit. Limfosit merupakan komponen penting pada sistim imun baik seluler maupun humoral. Limfosit T memiliki *T cell receptor* pada permukaan sel untuk mengenali virus. Limfosit T juga membantu limfosit B dalam memproduksi antibodi dan mengontrol sistim imun (Baratawijaya, 2010; Khairinal, 2012).

Virus hepatitis B masuk ke dalam tubuh dan dikenali oleh reseptor, kemudian dipresentasikan APC (*Antigen Presenting Cell*) oleh MHC (*Major Histo Compatibility*).

Aktivasi limfosit akibat terpicunya antigen melalui APC akan menyebabkan terjadinya proliferasi limfosit. Proliferasi sel limfosit dipengaruhi oleh interleukin-2 (IL-2) untuk berproliferasi menjadi Th1 dan Th2. Peningkatan proliferasi digunakan sebagai indikator peningkatan aktivitas sistem imun melawan infeksi (Khairinal, 2012 ; Setyani, 2012; Gunawan, 2013).

Berbagai upaya komprehensif dalam pencegahan dan pengendalian infeksi hepatitis B dilakukan. Selama ini upaya pengobatan dan pencegahan yang dilakukan oleh masyarakat untuk mengatasi infeksi virus hepatitis B adalah sebatas dengan penggunaan obat-obatan kimia dan vaksinasi. Pengobatan dengan menggunakan bahan-bahan kimia juga belum memberikan hasil yang memuaskan. Pencegahan yang dilakukan dengan vaksin memang memberikan harapan, tetapi dampaknya bagi masyarakat baru akan terlihat setelah puluhan tahun (Aslamiah, 2011). Beberapa pilihan pengobatan hepatitis B telah digunakan seperti lamivudine, entecavir dan peg-interferon, namun keberhasilan pengobatannya masih terbatas yaitu hanya sekitar 65-70 % (Murray, 2016). Obat-obatan yang berasal dari bahan kimia tentunya memiliki efek samping jika digunakan secara terus menerus salah satunya terjadi *immunocompromised*.

Alternatif pencegahan yang dapat digunakan untuk mengatasi infeksi hepatitis B adalah dengan pemanfaatan bahan alam. Pemanfaatan bahan alam seperti tumbuhan yang tersebar luas dipercaya dapat menjadi obat herbal serta pencegahan terhadap penyakit. (Karon, 2011). Salah satu bahan alam yang dapat digunakan adalah jintan hitam (*Nigella sativa L.*). Jintan hitam (*Nigella sativa L.*) atau “*black cumin*” adalah tanaman herbal tahunan yang termasuk dalam keluarga *Ranunculaceae*. Jintan hitam memiliki beberapa kandungan antara lain asam amino, protein, alkaloid, saponin, tanin, nigelin (zat pahit),

nigellone dan minyak esensial (Zafar dkk, 2016). Salah satu kandungan bahan aktif jintan hitam yang mempunyai efek farmakologis adalah *thymoquinone* yang bermanfaat salah satunya sebagai antiinflamasi dan sebagai imunomodulator (Alattas dkk, 2016). Senyawa yang memiliki imunostimulator dengan cara mengaktifkan sel limfosit T, sel NK, maupun sel makrofag. resistensi tubuh terhadap infeksi mikroba tergantung pada aktivasi dari sel limfosit Sel limfosit T akan teraktivasi, berdiferensiasi dan berproliferasi bila dipicu oleh antigen atau mitogen. Kemampuan sel ini untuk berproliferasi atau membentuk klon menunjukkan kemampuan respon imunologik (Jawetz.,*et al.*, 2005; Wiedosari,2013).

Menurut penelitian, senyawa *thymoquinone* merupakan komponen utama dalam minyak esensial jintan hitam yang memiliki kemampuan dalam meningkatkan kekebalan tubuh dan sebagai imunostimulan (Akrom dan Fatimah, 2015). *Thymoquinone* juga terbukti dapat meningkatkan jumlah neutrofil dengan menstimulasi ekspresi *Toll-like Receptor* (TLR) pada neutrofil sehingga dapat meningkatkan aktivitas fagositosis. Adanya aktivasi TLR ini akan meningkatkan aktivitas sel fagositosis seperti neutrofil PMN sehingga jumlah neutrofil PMN pun akan meningkat (Rachmanita, 2016).

Suatu penelitian mengenai efek imunomodulator jintan hitam menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol jintan hitam dengan dosis 250 mg/kgBB mampu meningkatkan jumlah total leukosit dan persentase limfosit pada mencit BALB/C (Zikriah, 2014). Menurut Oleh karena itu, perlu adanya penelitian mengenai pemanfaatan bahan alam seperti jintan hitam sebagai alternatif pola terapi terhadap infeksi virus hepatitis B, sehingga dapat mengurangi efek samping dari penggunaan bahan-bahan kimia untuk pengobatan dan pencegahannya.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Bagaimanakah Potensi Ekstrak Jintan Hitam (*Negila sativa L*) Terhadap Proliferasi Limfosit Tikus Wistar yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan umum**

Untuk mengetahui Potensi Ekstrak Jintan Hitam (*Negila sativa L*) Terhadap Proliferasi Limfosit Tikus Wistar yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B

### **1.3.2 Tujuan khusus**

1. Menghitung sel proliferasi limfosit antar kelompok perlakuan dan kelompok kontrol
2. Membandingkan sel proliferasi limfosit terhadap dosis ekstrak Jintan Hitam (*Negila sativa L*) pada kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 sehingga diperoleh dosis yang optimal.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Memberikan informasi tentang jintan hitam (*Nigella sativa L.*) yang dapat digunakan sebagai imunomodulator alami dalam upaya preventif dan sebagai terapi penyakit Hepatitis B
2. Sebagai bahan referensi lanjutan untuk peneliti lain tentang efektifitas jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap Hepatitis B.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Virus Hepatitis B**

Hepatitis B adalah infeksi hati yang disebabkan oleh virus hepatitis B (VHB) (WHO, 2015). Virus hepatitis B dapat menyebabkan peradangan hati akut atau kronis yang pada sebagian kecil kasus dapat berlanjut menjadi sirosis hati atau kanker hati. Hepatitis B merupakan peradangan hati yang bersifat sistemik, akan tetapi hepatitis bisa bersifat asimtomatik (Wijayanti, 2016). Secara klinis, infeksi virus hepatitis B dapat dibagi menjadi infeksi akut dan kronis (Slamet dkk., 2014). Dikatakan Hepatitis B akut jika perjalanan penyakit kurang dari 6 bulan sedangkan dikatakan Hepatitis B kronis bila penyakit menetap, tidak menyembuh secara klinis atau laboratorium atau pada gambaran patologi anatomi selama 6 bulan (Marinda, 2015). Infeksi hepatitis B akut ditandai dengan adanya HBsAg dan immunoglobulin M (IgM) antibodi terhadap antigen inti, HBeAg. Selama fase awal infeksi, HBeAg pasien juga positif. Infeksi kronis ditandai dengan positifnya HBsAg ( lebih dari 6 bulan), dengan atau tanpa HBeAg. HBsAg adalah penanda utama risiko untuk berkembang menjadi penyakit hati kronis dan karsinoma hepatoseluler di kemudian hari. Adanya HBeAg mengindikasikan bahwa darah dan cairan tubuh dari individu yang terinfeksi sangat menular (WHO, 2015).

#### **2.2 Patogenesis Hepatitis B**

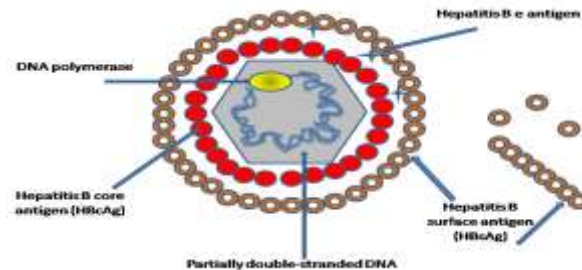
Hepatitis B disebabkan oleh virus hepatitis B yang terbungkus serta mengandung genom DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*) yang berasal dari suatu genus Orthohepadnavirus anggota famili Hepadnavirus berdiameter 40-42 nm

dengan inti nukleokapsida, densitas elektron, diameter 27 nm. Selubung luar lipoprotein dengan ketebalan 7 nm. Inti virus hepatitis B mengandung double-stranded DNA partial (3,2 kb) dan protein polimerase DNA dengan aktivitas reverse transkriptase. Antigen hepatitis B core (HBcAg) merupakan protein struktural. Antigen hepatitis B e (HBeAg) protein non-struktural yang berkorelasi secara tidak sempurna dengan replikasi aktif virus hepatitis B. Selubung lipoprotein virus hepatitis B mengandung antigen permukaan hepatitis B (HBsAg) dengan tiga selubung protein: utama, besar, dan menengah. Lipid minor dan komponen karbohidrat. HBsAg dalam bentuk partikel non infeksius dengan bentuk sferis 22 nm atau tubular (Ekasari, 2016).

Masa inkubasi virus hepatitis B berkisar antara 15-180 hari dengan rata-rata 60-90. Virus ini dapat terus berkembang biak dalam sel-sel hati atau hepatosit dan merusak fungsi hati. Akibat serangan virus hepatitis B sistem kekebalan tubuh kemudian akan memberi respon dan melawan virus hepatitis B. Apabila tubuh berhasil melawan maka virus akan terbasmi habis, tetapi jika gagal virus akan tetap tinggal dan menyebabkan hepatitis B kronis dimana pasien menjadi karier atau pembawa virus seumur hidup. Infeksi virus hepatitis B terjadi bila partikel utuh virus hepatitis B berhasil masuk ke dalam hepatosit, kemudian kode genetik virus hepatitis B masuk ke dalam sel hati untuk memerintahkan sel hati memproduksi protein-protein yang merupakan komponen virus hepatitis B. Adanya infeksi dari virus hepatitis B secara alamiah akan mendorong respon imun tubuh untuk bereaksi melawan virus yang masuk baik secara humoral maupun seluler. Apabila proses ini berhasil maka virus dapat dibasmi habis. Namun jika gagal virus akan tetap tinggal dan menyebabkan Hepatitis B. Virus hepatitis



Bpada dasarnya memiliki 3 jenis antigen spesifik HBsAg, HBeAg dan HBcAg. Protein pada selubung virus membentuk HBsAg, sedangkan pada inti virus terdapat HBcAg dan pada nucleocapsid terdapat HBeAg (Andini, 2016).



Gambar 2.1 : Struktur Virus Hepatitis B (Sumber : Andini, 2016)

Masa inkubasi infeksi VHB bervariasi, yaitu sekitar 45-120 hari, dengan rata-rata 60-90 hari. Variasi tersebut tergantung jumlah virus yang menginfeksi, cara penularan, dan faktor host. Sel hati manusia merupakan target organ bagi VHB. Virus masuk ke dalam tubuh manusia melalui aliran darah untuk mencapai sel hati. Virus ini mula-mula melekat pada reseptor spesifik di membran sel hati kemudian akan masuk ke dalam sitoplasma sel hati. Dalam sitoplasma, VHB melepaskan mantelnya (selubung) sehingga melepaskan nukleokapsid. Selanjutnya nukleokapsid akan menembus dinding sel hati (Mustofa & Kurniawaty, 2013).

Antigen VHB diekspresikan pada permukaan hepatosit dan melalui *antigenpresenting cell* (APC) akan dipresentasikan kepada sel T helper. Sel T helper yang teraktivasi akan meningkatkan pembentukan sel B yang distimulasi antigen menjadi sel plasma penghasil antibodi dan meningkatkan aktivasi sel T sitotoksik. Sel T sitotoksik bersifat menghancurkan secara langsung sel hati yang terinfeksi. Hal ini yang diperkirakan menjadi penyebab utama

kerusakan sel hati. Sel T sitotoksik juga dapat menghasilkan interferon- $\gamma$  dan tumor nekrosis faktor alfa (TNF- $\alpha$ ) yang memiliki efek antivirus tanpa menghancurkan sel target (Marinda, 2015). Nukleokapsid membawa virus tersebut masuk ke dalam inti dimana rcDNA (*relaxed circular DNA*) di ubah menjadi cccDNA (*Covalently Closed Circular DNA*) seperti gambar di bawah ini. cccDNA berfungsi sebagai *template* untuk transkripsi RNA dari empat virus yang dikirim ke sitoplasma dan digunakan sebagai mRNA untuk translasi protein VHB. Pre genomic RNA juga berfungsi sebagai *template* untuk replikasi VHB yang terjadi pada nukleokapsid dalam sitoplasma. Beberapa HBV DNA dan *polymerase* mengandung kapsid yang akan diangkut kembali ke dalam inti, dimana mereka akan melepaskan generasi baru rcDNA menjadi bentuk cccDNA tambahan (*Newly infected cell*). Envelope yang akan masuk ke dalam RE (retikulum endoplasma) dan disekresikan kembali setelah melewati golgi kompleks. dalam Wirayuda, 2014)

Selain menjadi 42-47 nm virion, darah yang terinfeksi VHB mengandung 20 nm HBsAg dan *derivate* lipid (Gish, 2009). Hati merupakan tempat utama replikasi virus hepatitis B. Masa inkubasi berkisar dari 15-180 hari (rata-rata 60-90 hari). Viremia berlangsung selama beberapa minggu sampai bulan setelah infeksi akut. Sebanyak 1-5% dewasa, 90% neonatus, dan 50 % bayi akan berkembang menjadi hepatitis kronik dan viremia yang persisten. Infeksi persisten dihubungkan dengan hepatitis kronik, sirosis dan kanker hati. VHB ditemukan di darah, semen, sekret serviko vaginal, saliva, cairan tubuh lain (Soemohardjo, 2014).

### 2.3 Penularan Hepatitis B

Penularan dari virus hepatitis B seringkali berasal dari paparan infeksi darah atau cairan tubuh yang mengandung darah (Wijayanti, 2016). Penularan hepatitis B dapat terjadi bila seseorang mengalami kontak dengan cairan tubuh pasien hepatitis B di daerah yang mengalami luka. Virus hepatitis B dapat ditemukan di cairan tubuh penderita seperti darah, air liur, cairan serebrospinalis, peritoneum, pleura, amnion, semen, cairan vagina, dan cairan tubuh lainnya, namun tidak semuanya memiliki kadar virus yang infeksius (Slamet dkk., 2014). Virus hepatitis B juga dapat menetap di berbagai permukaan benda yang berkontak dengannya selama kurang lebih satu minggu, seperti ujung pisau cukur, meja, noda darah, tanpa kehilangan kemampuan infeksiusnya. Virus hepatitis B tidak dapat melewati kulit atau barrier membran mukosa, dan sebagian akan hancur ketika melewati barrier. Kontak dengan virus terjadi melalui benda-benda yang bisa dihindari oleh darah atau cairan tubuh manusia, misalnya sikat gigi, alat cukur dan lain sebagainya. Infeksi virus hepatitis B merupakan masalah kesehatan masyarakat yang serius dimana infeksi bisa ditularkan melalui hubungan seksual, kontak parenteral atau dari ibu yang terinfeksi kepada bayinya saat lahir dan apabila sudah menginfeksi sejak awal kehidupan, dapat menyebabkan penyakit hati kronik, termasuk sirosis dan karsinoma hepatoseluler (Andini, 2016). Pola transmisi di Indonesia umumnya terjadi secara vertikal. Penularan secara vertikal adalah penularan yang terjadi pada masa perinatal, yaitu penularan dari ibu kepada anaknya yang baru lahir. Infeksi yang terjadi saat neonatus akan menyebabkan kronisitas pada 90% kasus, sedangkan infeksi yang terjadi saat dewasa hanya 10% yang akan mengalami kronisitas. Penularan

hepatitis secara horizontal yang lebih umum terjadi adalah lewat hubungan seksual yang tidak aman. Selain itu, transmisi horizontal hepatitis B juga bisa terjadi lewat penggunaan jarum suntik bekas pasien hepatitis B, transfusi darah yang terkontaminasi virus hepatitis B, pembuatan tato, penggunaan pisau cukur, sikat gigi, dan gunting kuku bekas pasien hepatitis B.

Kebanyakan orang yang terinfeksi tampak sehat dan tanpa gejala, namun bisa saja bersifat infeksius (Marinda, 2015). Kelompok yang berisiko tinggi tertular virus hepatitis B antara lain yaitu penyalahgunaan obat intravena atau pengguna narkoba jarum suntik, homoseksual dan heteroseksual yang sering berganti pasangan, bayi yang lahir dari ibu dengan HBsAg positif, karyawan rumah sakit, pasien dengan immunocompromised serta pasien yang sering mendapatkan transfuse darah (Telaumbanua, 2012).

#### **2.4 Respon Imun Terhadap Infeksi Hepatitis B**

Tubuh manusia memiliki suatu system pertahanan terhadap benda asing dan pathogen yang disebut sebagai system imun. Sistem imun didefinisikan sebagai suatu proses dan mekanisme pertahanan tubuh. Respon imun timbul karena adanya reaksi yang dikordinasi sel-sel, molekul-molekul terhadap mikroba dan bahan lainnya. Mekanisme sistem imun secara umum dibagi menjadi dua yaitu sistem imun alamiah atau non spesifik (*natural/innate/native*) dan sistem imun didapat atau spesifik (*adaptive/acquired*). Baik sistem imun non spesifik maupun spesifik memiliki peran masing-masing, keduanya memiliki kelebihan dan kekurangan namun sebenarnya kedua system tersebut memiliki kerjasama yang erat (Marlinda, 2015).

Sistem imun alamiah merupakan baris pertahanan awal terhadap benda asing atau mikroba patogen potensial yang masuk ke dalam tubuh. Sistem imun alamiah diaktifkan jauh lebih cepat daripada sistem imun adaptif dan pada umumnya bekerja setelah adanya infeksi untuk meringankan fase awal infeksi serta membatasi penyebaran patogen yang masuk. Ketika di dalam sel hati, sistem imun alamiah didorong oleh satu set kompleks leukosit dan protein antimikroba, termasuk sel Natural Killer (NKs), Natural Killer T sel (NKTs), sel dendritik (DCs), neutrofil, eosinofil dan komponen komplemen. Dari satu set kompleks sel tersebut, neutrofil memiliki peran penting terutama dalam pertahanan terhadap infeksi (Xu dkk, 2014). Sistem imun alamiah ini memiliki dua sistem pertahanan yaitu pertahanan tingkat pertama dan pertahanan tingkat kedua. Pada pertahanan tingkat pertama tubuh akan dilindungi dari segala macam mikroba patogen yang menyerang tubuh secara fisik, kimia dan flora normal. Pertahanan kedua yang dilakukan oleh tubuh untuk melawan mikroba patogen meliputi fagosit, inflamasi demam dan substansi antimikroba.

Virus hepatitis B masuk ke dalam tubuh dan dikenali oleh reseptor, kemudian dipresentasikan APC (*Antigen Presenting Cell*) oleh MHC (*Major Histo Compatibility*). Limfosit T dan limfosit B matur yang belum terpapar oleh antigen dikenal dengan istilah *naive limfosit*. dengan istilah *naive limfosit*. Limfosit naif ini berada dalam keadaan istirahat pada siklus sel dan apabila teraktivasi oleh antigen melalui *Antigen Presenting Cell* (APC) akan terjadi proliferasi limfosit. Mekanisme ini menghasilkan suatu proses yang disebut sebagai *clonal expansion* sehingga menghasilkan jumlah sel yang banyak. Limfosit T, baik CD4 maupun CD8 berproliferasi dan berdiferensiasi. Proliferasi sel limfosit dipengaruhi oleh

interleukin-2 (IL-2) untuk berproliferasi menjadi Th1 dan Th2. Proses diferensiasi Th1 melibatkan reseptor sel T, IFN- $\gamma$ , IL-12 dan T-bet, STAT1, STAT4 sebagai faktor transkripsi. Fungsi utama Th1 sebagai pertahanan dalam melawan infeksi terutama oleh mikroba intraselular, mekanisme efektor ini terjadi melalui aktivasi makrofag, sel B dan sel neutrofil. Diferensiasi Th2 muncul sebagai respon terhadap reaksi alergi dan parasit, melibatkan reseptor sel T, IL-4, faktor transkripsi GATA-3 dan STAT6. IL-4 menstimulasi terhadap produksi IgE yang berfungsi dalam opsonisasi parasit. Selain itu, IL-5 juga diproduksi oleh Th2 yang mengaktivasi eosinofil sebagai respon terhadap adanya antigen parasit. Peningkatan proliferasi digunakan sebagai indikator peningkatan aktivitas sistem imun melawan infeksi (Khairinal, 2012 ; Setyani, 2012; Gunawan, 2013).

## **2.5 Diagnosis Laboratorium Hepatitis B**

Diagnosis ditegakkan dengan anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang. Anamnesis umumnya tanpa keluhan, perlu digali riwayat transmisi seperti pernah transfusi darah, seks bebas serta riwayat ikterus sebelumnya. Pemeriksaan fisik didapatkan hepatomegali. Pemeriksaan penunjang terdiri dari pemeriksaan laboratorium, USG abdomen dan Biopsi hepar. Pemeriksaan laboratorium pada VHB terdiri dari pemeriksaan biokimia, serologis, dan molekuler. Pemeriksaan USG abdomen tampak gambaran hepatitis kronis, selanjutnya pada biopsi hepar dapat menunjukkan gambaran peradangan dan fibrosis hati (Andini, 2016). Pemeriksaan laboratorium pada VHB terdiri dari:

### **1. Pemeriksaan Biokimia**

Stadium akut VHB ditandai dengan AST dan ALT meningkat >10 kali nilai normal, serum bilirubin normal atau hanya meningkat sedikit, peningkatan *Alkali Fosfatase* (ALP) >3 kali nilai normal, dan kadar albumin serta kolesterol dapat mengalami penurunan. Stadium kronik VHB ditandai dengan AST dan ALT kembali menurun hingga 2-10 kali nilai normal dan kadar albumin rendah tetapi kadar globulin meningkat. Peningkatan kadar ALT menggambarkan adanya aktifitas nekroinflamasi. Oleh karena itu pemeriksaan ini dipertimbangkan sebagai prediksi gambaran histologi. Pasien dengan kadar ALT yang meningkat menunjukkan proses nekroinflamasi lebih berat dibandingkan pada ALT yang normal. Pasien dengan kadar ALT normal memiliki respon serologi yang kurang baik pada terapi antiviral. Oleh sebab itu pasien dengan kadar ALT normal dipertimbangkan untuk tidak diterapi, kecuali bila hasil pemeriksaan histology menunjukkan proses nekroinflamasi aktif. Pemeriksaan histologi adalah untuk menilai tingkat kerusakan hati, menyisihkan diagnosis penyakit hati lain, prognosis dan menentukan manajemen antiviral.

## 2. Pemeriksaan serologis

Indikator serologi awal dari VHB akut dan kunci diagnosis penanda infeksi VHB kronik adalah HBsAg, infeksi bertahan di serum >6 bulan. Pemeriksaan HBsAg berhubungan dengan selubung permukaan virus. Sekitar 5-10% pasien, HBsAg menetap di dalam darah yang menandakan terjadinya hepatitis kronis atau *carrier*. Setelah HBsAg menghilang, anti-HBs terdeteksi dalam serum pasien dan terdeteksi sampai waktu yang tidak terbatas sesudahnya. Karena terdapat variasi dalam waktu timbulnya anti-HBs, kadang

terdapat suatu tenggang waktu (*window period*) beberapa minggu atau lebih yang memisahkan hilangnya HBsAg dan timbulnya anti-HBs. Selama periode tersebut, anti-HBc dapat menjadi bukti serologik pada infeksi VHB (Marinda, 2015).

### 3. Pemeriksaan molekuler

Pemeriksaan molekuler menjadi standar pendekatan secara laboratorium untuk deteksi dan pengukuran DNA VHB dalam serum atau plasma. Pengukuran kadar secara rutin bertujuan untuk mengidentifikasi carrier, menentukan prognosis, dan monitoring pengobatan antiviral. Metode pemeriksaannya antara lain sebagai berikut :

- Radioimmunoassay (RIA) mempunyai keterbatasan karena waktu paruh pendek dan diperlukan penanganan khusus dalam prosedur kerja dan limbahnya.
- *Hybrid Capture Chemiluminescence* (HCC) merupakan teknik hibridisasi yang lebih sensitive dan tidak menggunakan radioisotope karena sistem deteksinya menggunakan substrat *chemiluminescence*.
- Amplifikasi signal (metode Polymerase Chain Reaction/PCR) telah dikembangkan teknik real-time PCR untuk pengukuran DNA VHB. Amplifikasi DNA dan kuantifikasi produk PCR terjadi secara bersamaan dalam suatu alat pereaksi tertutup (Andini, 2016).

### 4. Pemeriksaan Histologi

Meliputi biopsi hati. Pemeriksaan ini dapat menunjukkan gambaran peradangan dan fibrosis hati. Pemeriksaan histologi bertujuan untuk menilai



tingkat kerusakan hati, menyisihkan diagnosis penyakit hati lain, prognosis dan menentukan manajemen anti viral (Mustofa dan Kurniawaty, 2013)

## 2.6 Tinjauan Tentang 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 2.2 : Tumbuhan dan Biji Jintan Hitam (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, 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 : Tracheobionta  
 Super Divisi : Spermatophyta  
 Divisi : Magnoliophyta  
 Kelas : Magnoliopsida  
 Ordo : Ranunculales  
 Famili : Ranunculaceae  
 Genus : *Nigella*  
 Spesies : *Nigella sativa* (Junaedi, 2011)

### **2.6.1 Morfologi dan Karakteristik Jintan Hitam**

Tumbuhan ini tumbuh hingga mencapai tinggi 20-30 cm, dengan daun hijau lonjong, ujung dan pangkal runcing, tepi beriringgit, dan pertulangan menyirip. Bunganya majemuk, bentuk karang, kepalasari 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 menggembung terdiri dari 3 -7 folikel yang menjadi satu, masing-masing folikel ini mengandung beberapa biji.

4. Biji

Biji jintan hitam berujung tajam seperti bentuk biji wijen, keras, berwarna hitam, berbentuk limas ganda 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, 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 coklat muda atau coklat 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 coklat (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).

### 2.6.2 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 didalamnya, 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  $\alpha$ -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 antiinflamasi, 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 stress oksidatif serta memiliki kemampuan untuk menghilangkan radikal bebas. Untuk zat aktif seperti *dithymoquinone* dan *hidrothymoquinone* mempunyai kemampuan sebagai penghilang radikal bebas (Puspwardojo, 2016).

Tabel 2.1: Komposisi Utama Jintan Hitam

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

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

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 :

Tabel 2.3 : Kandungan Asam lemak dalam jintan hitam (*Nigella sativa*)

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 %

(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 menyeimbangkan dan memperkuat sistem imun (Wadud, 2014).

### **2.6.3 Manfaat Jintan Hitam**

Menurut Yusuf (2014), jintan hitam sudah digunakan sejak jaman dahulu selain karena bijinya memiliki aroma yang khas yang sering digunakan sebagai bumbu penyedap masakan. Berbagai khasiat jintan hitam pun telah dirasakan, salah satunya adalah penggunaan jintan hitam sebagai obat untuk mengatasi demam, sakit gigi, sakit kepala, pilek, luka atau iritasi luar, obat antijamur, dan obat cacing terutama pada anak (Mayasafira, 2012).

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*).

Berbagai penelitian terdahulu menjelaskan bahwa kandungan jintan hitam terbukti mampu memperkuat dan menstabilkan sistem imunitas tubuh dengan

meningkatkan rasio antara sel- *T helper* dan sel-*T suppressor* sebesar 55 % dengan rata-rata pencapaian aktivitas sel pembunuh alami (sel NK) sebesar 30 %. Jintan hitam mampu menstimulasi sumsum tulang dan sel imun, melindungi sel normal dari perusakan sel oleh virus, menghancurkan sel tumor dan meningkatkan jumlah antibodi yang diproduksi oleh sel B. Selain itu, ekstrak jintan hitam juga memiliki efek terapi seperti bronkhodilatator, imunomodulator, antibakteri dan hepatoprotektor (Mayasafira, 2012).

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). Penelitian lain juga membuktikan bahwa efek dari jintan hitam dalam menstimulasi sitokin *Macrophage Activating Factor* (MAF) sehingga meningkatkan fungsi makrofag yang berperan dalam sistem imun seluler (Yusuf, 2014).

#### Mekanisme Kerja Ekstrak 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 respon 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 antibody 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 immunorestorasi, memperbaiki fungsi sistem imun disebut immunostimulasi dan menekan respons imun disebut immunosupresi. 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 immunostimulan pada ikan lele dumbo yang terinfeksi

*Aeromonas hydrophila* karena terbukti dapat meningkatkan jumlah sel leukosit dan diferensial leukosit yang sangat berperan dalam respon 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 menstimulasi ekspresi *Toll-like Receptor* (TLR) pada neutrofil sehingga dapat meningkatkan aktivitas fagositosis (Rachmanita, 2016).

## **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 control.

#### **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 Patologi Anatomi Surabaya untuk pembuatan preparat patologi anatomi dan di Unit Layanan Pengujian (ULP) Universitas Airlangga Surabaya untuk proses ekstraksi jantan hitam.

#### **3.3 Sampel Penelitian**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang memiliki berat badan 100-200 gram dan berusia 2-3 bulan yang didapat dari Unit Infeksius Pengembangan dan Penelitian Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Tikus diambil secara acak atau random kemudian diberi makan dan minum hingga mencapai berat yang sesuai dengan kriteria. Tikus kemudian dikelompokkan menjadi 4 kelompok untuk diberi perlakuan.

Penelitian ini dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif K(-), kelompok kontrol positif K(+), kelompok perlakuan 1 (KP1) dan kelompok

perlakuan 2 (KP2). Perlakuan dalam penelitian ini adalah kelompok kontrol negatif (hanya diberi aquadest), kelompok kontrol positif (hanya diinduksi dengan vaksin hepatitis B), kelompok perlakuan 1 (pemberian ekstrak jintan hitam dosis 75 mg/kgBB) dan kelompok perlakuan 2 (pemberian ekstrak jintan hitam dosis 150 mg/kgBB).

### **3.4 Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas : ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*)
2. Variable terikat : Proliferasi limfosit

### **3.5 Definisi Operasional**

1. Ekstrak jintan hitam adalah biji jintan hitam yang sudah dihaluskan, ditimbang, dan direndam dengan pelarut Etanol 96% selama 3 hari, kemudian pelarut diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.
2. Proliferasi limfosit adalah perbanyakan sel limfosit sebagai respon terhadap antigen. Kemampuan limfosit dalam berproliferasi menunjukkan secara tidak langsung kemampuan respon imunologik atau tingkat kekebalan (Khairinal, 2013)

### **3.6 Alat dan Bahan Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat untuk membuat simplisia jintan hitam yaitu blender. Alat untuk membuat ekstrak jintan hitam metode maserasi yang meliputi neraca analitik, *shaker waterbath*, *Buchner*, *rotary evaporator* dan alat-alat gelas seperti gelas ukur dan beaker glass. sonda, silet atau gunting steril, tabung *eppendorf* dan mikroskop *binokuler*. Formalin, alkohol 98%, alkohol 70%, parafin, pengecatan Hematoxilin Eosin (HE).vaksin Hepatitis B jenis Engerix yang diperoleh dari Kimia Farma Surabaya. Jintan Hitam

### 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.

### 3.8 Prosedur Proses ekstraksi

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 vacum evaporator* pada suhu 50 °C sampai didapatkan ekstrak pekat dengan konsentrasi 100 % (Hidayat, 2015).

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

Pemberian ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) dilakukan secara per oral selama 7 hari. Penentuan dosis pemberian ekstrak jintan hitam dilakukan untuk mengetahui dosis yang efektif sebagai efek imunomodulator. Ekstrak jintan hitam didapatkan dari proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Kemudian ekstrak jintan hitam dibuat dalam dua dosis, yaitu 75 mg/KgBB dan 150 mg/KgBB. Untuk pembuatan dosis tersebut,

ekstrak jintan hitam ditimbang sesuai dengan perhitungan kemudian dilarutkan dengan pelarut NaCMC 0,5%. Perhitungan pemberian dosis pada tikus, konsentrasi yang dibuat, ekstrak yang ditimbang serta volume sediaan untuk melarutkan ekstrak jintan hitam yang telah ditimbang menurut Larasati (2016) adalah sebagai berikut :

1. Konsentrasi yang dibuat

$$\text{Rumus : } \frac{a}{100b} \%$$

Keterangan :

a = dosis

b = persen pemberian (1% untuk pemberian oral)

$$\text{a) } 75 \text{ mg/KgBB} = \frac{75}{100 \times 1} \% = 0,75 \%$$

$$\text{b) } 150 \text{ mg/KgBB} = \frac{150}{100 \times 1} = 1,5 \%$$

Jadi, konsentrasi yang harus dibuat untuk mendapatkan dosis ekstrak jintan hitam 75 mg/kgBB adalah 0,75 % dan dosis 150 mg/kgBB adalah 1,5 %.

2. Ekstrak yang ditimbang untuk dibuat sediaan dengan berat tikus 180 gram.

Rumus = dosis  $\times$  berat hewan

$$\begin{aligned} \text{a) } 75 \text{ mg/KgBB} &= 75 \text{ mg/KgBB} \times 180 \text{ gramBB} \\ &= 75 \text{ mg/KgBB} \times 0,18 \text{ kgBB} \\ &= 13,5 \text{ mg untuk satu ekor tikus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b) } 150 \text{ mg/KgBB} &= 150 \text{ mg/KgBB} \times 180 \text{ gramBB} \\ &= 150 \text{ mg/KgBB} \times 0,18 \text{ kgBB} \\ &= 27 \text{ mg untuk satu ekor tikus} \end{aligned}$$

Jadi, ekstrak yang ditimbang untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak 0,75 % adalah 13,5 mg untuk satu ekor tikus dan konsentrasi ekstrak 1,5 % adalah 27 mg untuk satu ekor tikus.

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

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

$$\begin{aligned} \text{a) } 75 \text{ mg/KgBB} &= \frac{13,5 \text{ mg}}{0,75\%} &&= \frac{13,5 \text{ mg}}{\frac{0,75 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}} \\ &= 13,5 \text{ mg} \times \frac{100 \text{ mL}}{0,75 \text{ gram}} &&= 13,5 \text{ mg} \times \frac{100 \text{ mL}}{750 \text{ mg}} \\ &= 1,8 \text{ mL untuk satu ekor tikus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b) } 150 \text{ mg/KgBB} &= \frac{27 \text{ mg}}{1,5\%} \\ &= \frac{27 \text{ mg}}{\frac{1,50 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}} \\ &= 27 \text{ mg} \times \frac{100 \text{ mL}}{1,50 \text{ gram}} = 27 \text{ mg} \times \frac{100 \text{ mL}}{1500 \text{ mg}} \\ &= 1,8 \text{ mL untuk satu ekor tikus} \end{aligned}$$

Jadi, untuk mendapatkan ekstrak jintan hitam dengan dosis 75 mg/kgBB dibutuhkan 13,5 mg ekstrak yang kemudian dilarutkan dalam 1,8 mL pelarut per satu ekor tikus dan untuk ekstrak jintan hitam dengan dosis 150 mg/kgBB dibutuhkan 27 mg ekstrak yang kemudian dilarutkan dalam 1,8 mL pelarut per satu ekor tikus. (Larasati, 2016)



### 3.10 Penentuan Dosis Pemberian Induksi Vaksin Hepatitis B pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Pemberian vaksin dilakukan secara intraperitoneal pada hari ke-0 (setelah 7 hari pengkondisian). Volume vaksin Hepatitis B yang diberikan dihitung berdasarkan dosis pemberian pada manusia yang dikonversikan untuk dosis tikus. Dosis vaksin normal dari manusia ke tikus kemudian dikalikan 10 untuk menjadikan kondisi tikus menjadi hepatitis B positif.

Rumus = faktor konversi manusia ke tikus x dosis pemakaian

$$\begin{aligned} \text{Dosis vaksin normal} &= 0,018 \times 1,8 \text{ mL} \\ &= 0,0324 \text{ mL} \end{aligned}$$

Kemudian dikalikan 10x pemakaian untuk membuat kondisi tikus menjadi hepatitis, sehingga perhitungannya adalah :

$$\begin{aligned} \text{Dosis infeksi hepatitis B} &= \text{Dosis vaksin normal} \times 10 \\ &= 0,0324 \text{ mL} \times 10 \\ &= 0,324 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, volume vaksin hepatitis B yang diinduksikan pada satu ekor tikus adalah 0,324 mL (Prastiwi, 2009).

Tabel 4.1 Konversi dosis hewan percobaan dengan manusia

Dicari Diketahui	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 1,5 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,23	27,80	29,7	64,10	124,20	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,20	9,20	17,80	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,40	5,20	10,20	31,50
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,40	4,50	14,20
Kucing 1,5 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,20	4,10	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,43	0,1	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	1,24	0,52	1,0	3,10
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

(Sumber : Dina, 2016)

### 3.11 Adaptasi Hewan Coba

Tikus yang digunakan adalah tikus jantan galur Wistar yang memiliki berat badan 100-200 gram dan berusia 2-3 bulan. Jumlah tikus yang akan digunakan sebanyak 24 ekor yang dibagi dalam 4 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 6 ekor tikus. Sebelum digunakan, semua hewan coba terlebih dahulu dilakukan adaptasi terhadap lingkungan selama  $\pm 7$  hari, mulai hanya dengan diberikan makan dan minum *et libitum*. Kandang hewan coba didesinfektan dengan menggunakan alkohol 70% setiap hari sejak dilakukan adaptasi sampai penelitian selesai.

### 3.12 Perlakuan Hewan Coba

Pada penelitian ini menggunakan dua puluh empat ekor tikur yang sudah dibagi menjadi empat kelompok perlakuan,.Dua kelompok kontrol yaitu kelompok kontrol negatif yang tidak diberi ekstrak jintan hitam maupun diinduksi vaksin hepatitis B serta kelompok

kontrol positif yang hanya diinduksi dengan vaksin hepatitis B. Kelompok perlakuan 1 setiap hari diberi ekstrak jintan hitam selama 7 hari dengan dosis 75 mg/kgBB dan Kelompok perlakuan 2 setiap hari diberi ekstrak jintan hitam selama 7 hari dengan dosis 150 mg/kgBB sebanyak 1,8 mL satu kali sehari, lalu diinduksi dengan vaksin hepatitis B secara intraperitoneal pada hari ke 7 perlakuan. Pada hari ke-8 Pada semua tikus percobaan dieuthanasia dan dinekropsi. Hepar diambil dan diperiksa untuk selanjutnya diproses dalam pembuatan preparat histopatologis.

### **3.13 Proses Pembuatan Preparat Histopatologis**

Organ hepar dioambil dan dipotong menjadi ukuran 1x1x1 cm kemudian difiksasi dalam NBF 10% selama 24 jam. setelah *distreaming*, kemudian dimasukkan dalam *tissue cassette* masing-masing sesuai kelompok perlakuan. *Tissue cassette* dimasukkan dalam *tissue processor* untuk tahap dehidrasi, *clearing*, *embedding*. Sedangkan tahap bloking dilakukan dengan paraffin blok, selanjutnya *cutting* dengan mikrotom dalam ketebalan 5-6  $\mu$ . Selanjutnya preparat diwarnai dengan pewarnaan hematoxilin eosin (HE).

Prosedur pewarnaan hematoxilin eosin (HE) yang dipakai adalah sebagai berikut :

Deparafinisasi dengan xylol (2x2 min). Hidrasi dengan serial Alkohol 100% (2x2 min) – 95% (2min) – 90% (2 min) – 80% (2 min) - 70% (2min) – Distilled water (3min). Inkubasi dalam larutan hematoxilin Mayers selama 15 min. Cuci dalam air mengalir selama 15-20 menit. Observasi di bawah mikroskop, bila masih terlalu biru cuci lagi di air mengalir selama beberapa menit. Bila sudah cukup warnanya lanjutkan ke langkah selanjutnya. Counterstaining dalam larutan Eosin working solution selama 15 detik hingga 2 menit tergantung pada umur eosin dan kedalaman warna yang diinginkan. Dehidrasi dalam serial

alkohol dengan gradasi meningkat perlahan mulai 70% hingga 100% masing-masing 2 menit. Jernihkan dan dealkoholisasi dalam xylol 2x2 min. Tutup dengan balsem Kanada Hasil/ Interpretasi berupa inti sel berwarna biru dan sitoplasma berwarna kemerahan dengan adanya beberapa variasi warna pada komponen tertentu. Setelah itu preparat siap diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x.

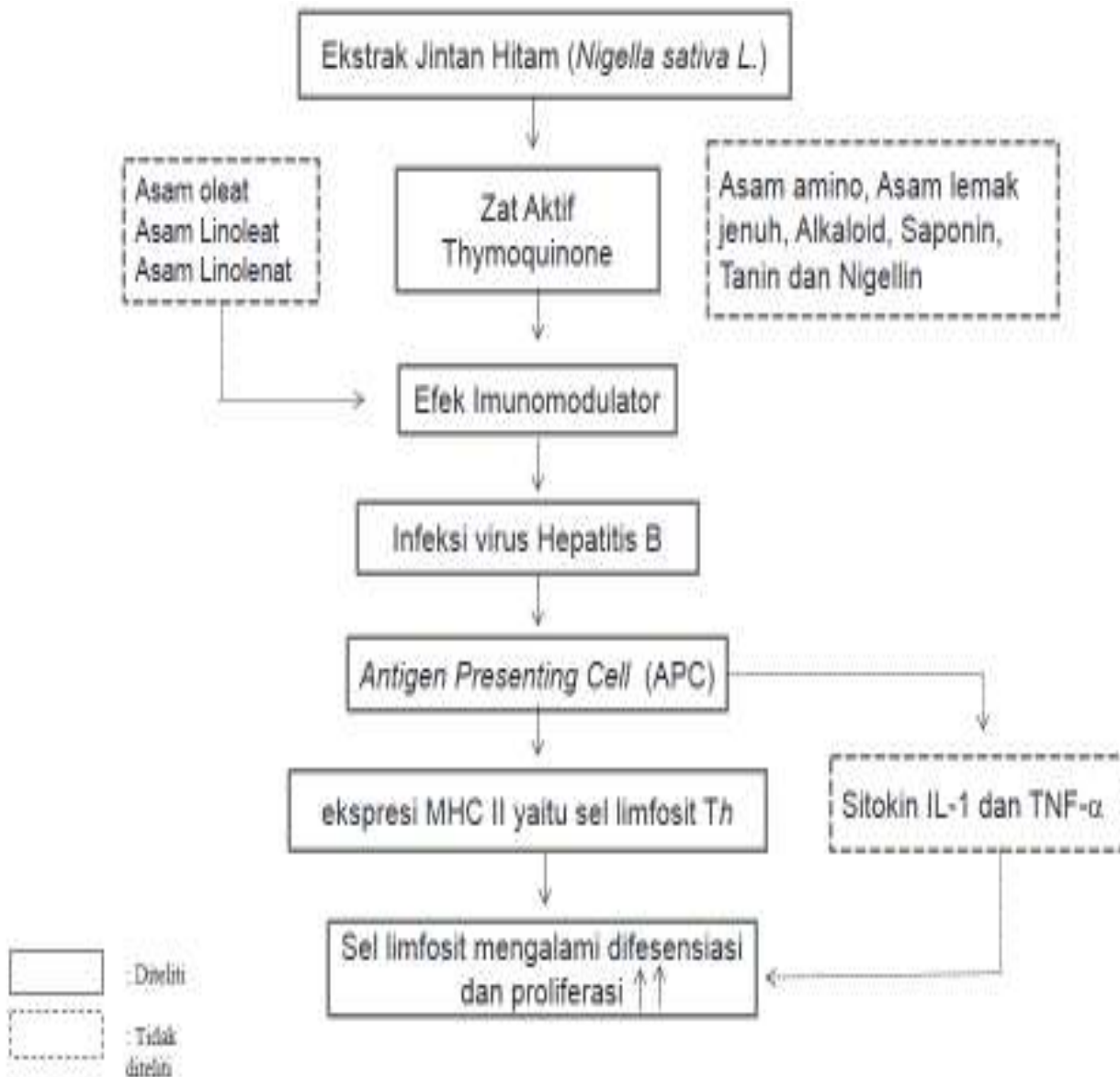
### **3.14 Teknik Analisa Data**

Teknik analisa data disajikan dalam bentuk tabel secara kuantitatif. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan analisa 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 non parametrik *Kruskal-Wallis*

### **3.15. Luaran**

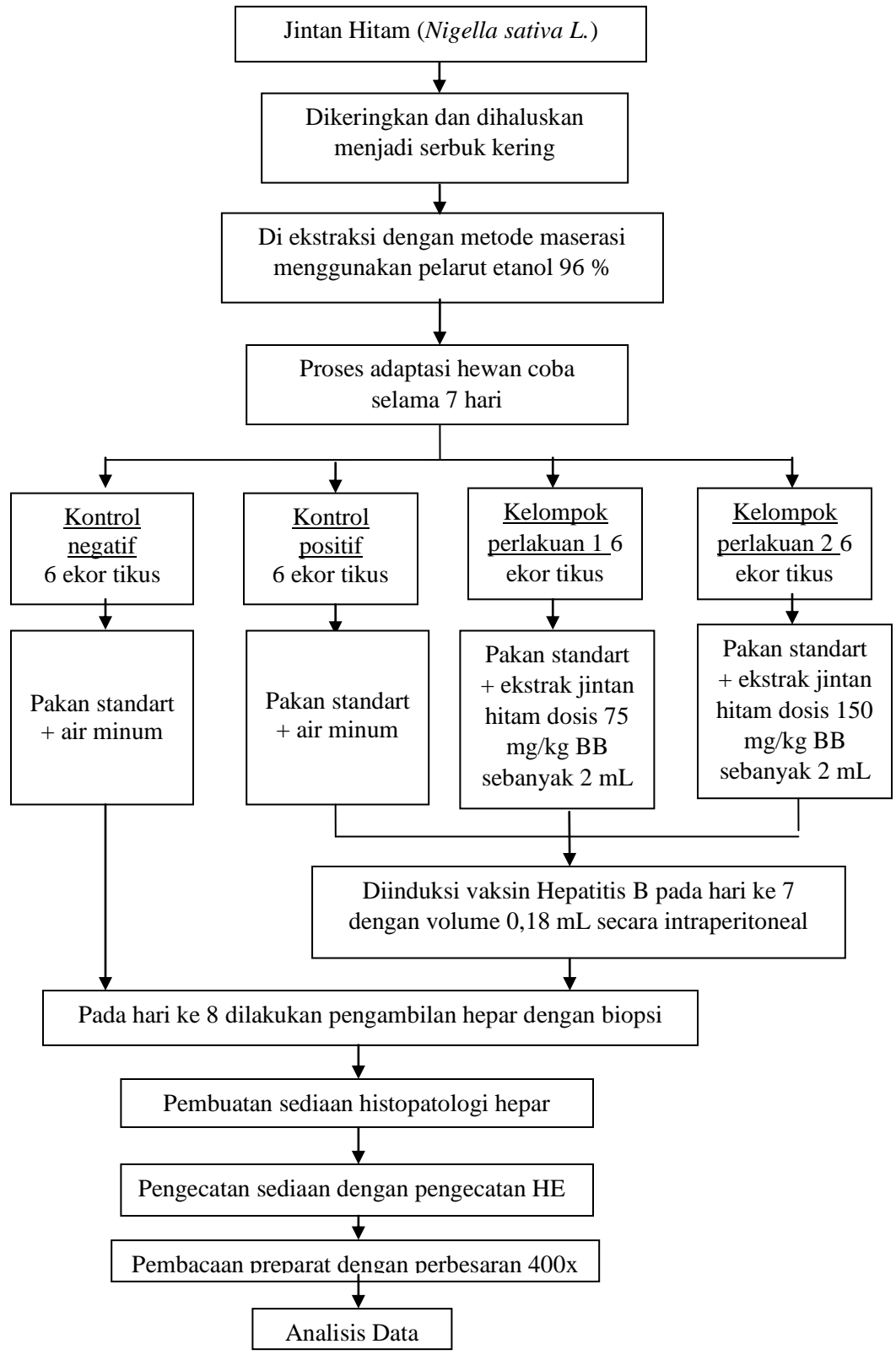
Penelitian ini diharapkan dapat dipublikasikan secara internasional dan dapat diusulkan untuk memperoleh Hak Atas Kekayaan Intelektual (HAKI)

### 3.16 Kerangka Konseptual



**Gambar 3.1** Skema Kerangka Konseptual

### 3.17 Kerangka Operasional



Gambar 3.1 Skema Kerangka Operasional

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Analisis

Berdasarkan hasil penelitian mengenai potensi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap proliferasi limfosit tikus wistar yang diinduksi vaksin Hepatitis B pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1 dan perlakuan 2 pada tikus wistar yang diinduksi vaksin hepatitis B dengan melakukan hitung proliferasi limfosit pada jaringan hepar tikus yang telah diadaptasi selama 7 hari dan dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Dalam penelitian ini menggunakan 24 hewan coba tikus yang dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1 dan perlakuan 2 yang semuanya dikondisikan hepatitis B kecuali kelompok kontrol negatif. Perlakuan kontrol negatif yaitu tikus tidak diberi ekstrak jintan hitam dan tidak diinduksi vaksin Hepatitis B, perlakuan kontrol positif yaitu tikus tidak diberi ekstrak jintan hitam namun diinduksi vaksin Hepatitis B, perlakuan 1 yaitu pemberian ekstrak jintan hitam dosis 75 mg/KgBB pada tikus selama 7 hari dan diinduksi vaksin Hepatitis B, dan perlakuan 2 yaitu pemberian ekstrak jintan hitam dosis 150 mg/KgBB pada tikus selama 7 hari dan diinduksi vaksin Hepatitis B. Bahan uji dari pemeriksaan sel limfosit yang mengalami peningkatan (proliferasi) yang berasal dari hepar diambil dan diperiksa untuk selanjutnya diproses dalam pembuatan preparat histopatologis, dan didapatkan hasil pemeriksaan sebagai berikut.

Tabel 4.1 Hasil proliferasi limfosit tikus Wistar setelah pemberian ekstrak jintan hitam yang diinduksi vaksin Hepatitis B

NO	Kelompok Kontrol Positif (sel/plp)	Kelompok Kontrol Negatif (sel/plp)	Kelompok 1 (sel/plp)	Kelompok 2 (sel/plp)
1	137	115	136	143
2	141	128	142	149
3	147	124	145	150
4	132	119	130	164
5	158	98	104	167
6	144	103	128	155
Rerata	143,1	114,5	130,8	154,7

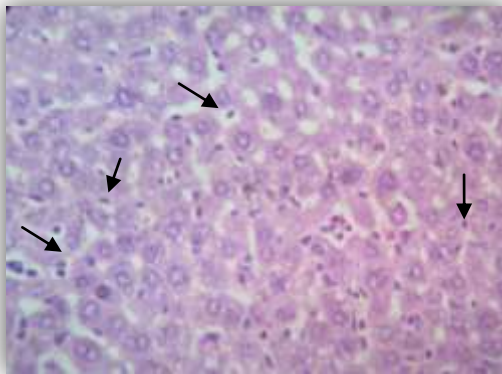
Keterangan :

Kontrol Negatif : Kelompok berisi tikus sejumlah enam ekor tanpa perlakuan (hanya diberi pakan).

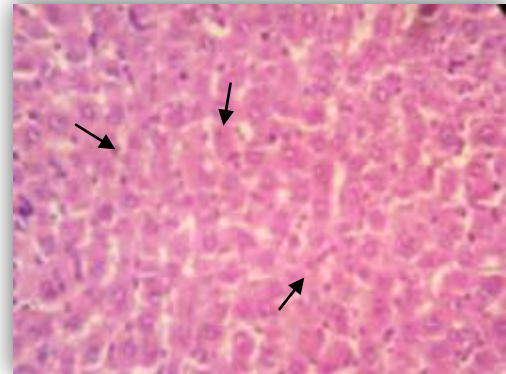
Kontrol Positif : Kelompok berisi tikus sejumlah enam ekor yang diinduksi dengan vaksin Hepatitis B.

Perlakuan 1 : Kelompok berisi tikus sejumlah enam ekor diberi ekstrak jintan hitam dosis 75 mg/KgBB dan diinduksi vaksin hepatitis B.

Perlakuan 2 : Kelompok berisi tikus sejumlah enam ekor diberi ekstrak jintan hitam dosis 150 mg/KgBB dan diinduksi vaksin hepatitis B selama tujuh hari berturut-turut.

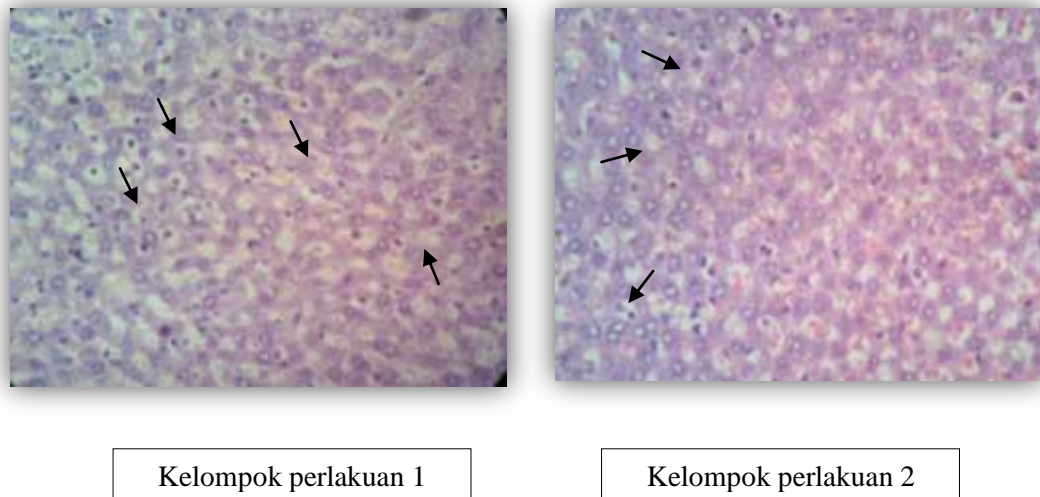


Kelompok kontrol positif



Kelompok kontrol negatif





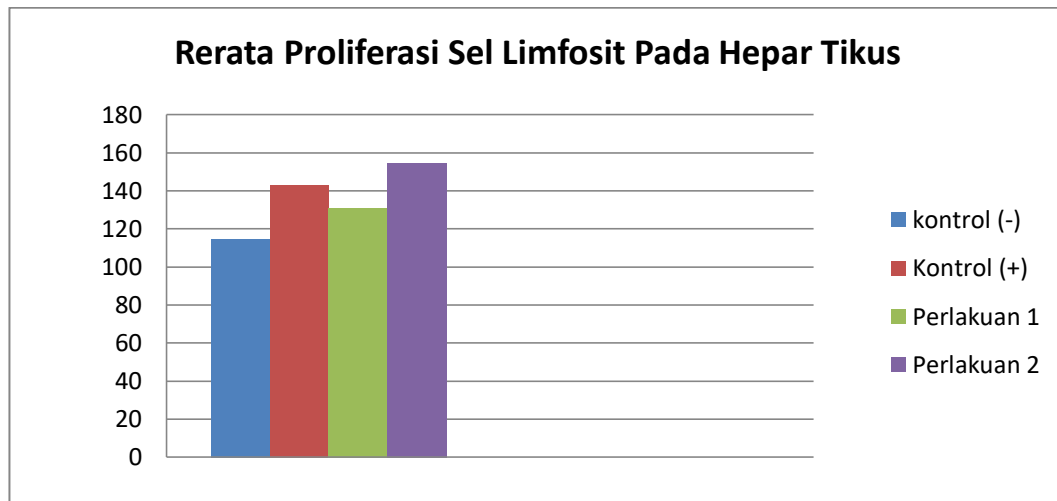
**Gambar 4.1.** Gambaran sediaan Histopatologi Hepar Tikus Wistar pada semua kelompok

Berdasarkan dari data diatas dapat diketahui bahwa pada kelompok kontrol negatif yaitu tanpa perlakuan, rata-rata jumlah sel limfosit 114,5 sel/plp, sedangkan pada kelompok kontrol positif yaitu yang diinduksi dengan menggunakan vaksin Hepatitis B, mengalami peningkatan dengan rata-rata jumlah sel limfosit 143,1 sel/plp. Pada kelompok perlakuan 1 yaitu setelah pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis 75 mg/KgBB selama 7 hari dan kemudian diinduksi dengan vaksin hepatitis B, Rerata jumlah sel leukosit adalah mengalami peningkatan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yaitu 130,8 sel/plp, serta pada kelompok perlakuan 2 yaitu setelah pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis 150 mg/KgBB selama 7 hari dan kemudian diinduksi dengan vaksin hepatitis B, Rerata jumlah sel leukosit adalah mengalami peningkatan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yaitu 154,7 sel/plp.

**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
jumlah sel perlapang pandang	24	98.00	167.00	135.7917	18.58232
Valid N (listwise)	24				

Dari jumlah sel limfosit pada kontrol positif, kontrol negatif, perlakuan 1 dan perlakuan 2, didapatkan nilai minimum 98 dan maksimum 167. Rata-rata 135,79 dengan standar deviasinya sebesar 18,58.



Gambar 4.2 Diagram rata-rata proliferasi Sel limfosit pada hepar tikus Wistar

Berdasarkan diagram batang di atas dapat diketahui bahwa setelah pemberian ekstrak jintan hitam dosis 75 mg/KgBB dan diinduksi dengan vaksin hepatitis (perlakuan 1), jumlah rata-rata sel limfosit pada tikus mengalami peningkatan dibandingkan dengan kontrol negatif dan masih dibawah nilai dari kontrol positif. Pada pemberian ekstrak jintan hitam dosis 150 mg/KgBB dan diinduksi dengan vaksin hepatitis (perlakuan 2), jumlah rata-rata sel limfosit pada tikus mengalami peningkatan dibandingkan dengan kontrol positif.

#### 4.1.2. Analisa Data

Data penelitian terlebih dahulu dilakukan uji normalitas menggunakan *One Sample Kolmogorof-Smirnov* untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal, dan uji homogenitas untuk menguji apakah ragam dari populasi-populasi tersebut sama. Selanjutnya dilakukan uji *Anova One Way* dengan tingkat kepercayaan 95 % ( $P < 0,05$ ) untuk mengetahui kemaknaan perbedaan

antara kelompok perlakuan, yang dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Significance Difference)* untuk mengetahui perbandingan antara mean perlakuan yang satu dengan mean perlakuan lain. Apabila data tidak berdistribusi normal, maka akan diuji menggunakan uji non parametric *Kruskal-Wallis*.

#### 4.1.3 Uji Normalitas Data

Uji normalitas digunakan untuk mengetahui apakah data potensi ekstrak jintan hitam (*Negila sativa L*) terhadap proliferasi limfosit tikus Wistar yang diinduksi vaksin Hepatitis B terdistribusi normal atau tidak. Uji Normalitas yang digunakan yaitu uji *Kolmogorov-Sminov*.

Pedoman dalam pengambilan keputusan adalah sebagai berikut :

1.  $H_0$  : data terdistribusi normal.
2.  $H_i$  : data tidak terdistribusi normal.

Jika nilai signifikannya atau nilai probabilitasnya (*p-value*)  $< \alpha$ , dimana  $\alpha = 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_i$  diterima.

Jika nilai signifikannya atau nilai probabilitasnya (*p-value*)  $> \alpha$ , dimana  $\alpha = 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_i$  ditolak.

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		jumlah sel perlapang pandang
N		24
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	135.7917
	Std. Deviation	18.58232
Most Extreme Differences	Absolute	.110
	Positive	.081
	Negative	-.110
Test Statistic		.110
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 <sup>c,d</sup>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Hasil uji normalitas data dengan uji *Kolmogorof-Smirnov* menunjukkan signifikansi  $p = 0,200$ . Hal tersebut menunjukkan bahwa  $H_0$  diterima yang berarti bahwa data sel limfosit pada semua perlakuan berdistribusi normal.

#### 4.1.4 Uji *One Way Anova*

Setelah dilakukan uji Normalitas Data dengan Uji Kolmogorov Smirnov didapatkan hasil bahwa data berdistribusi Normal, maka selanjutnya dilakukan uji statistic dengan *Anova One Way* untuk mengetahui pengaruh atau perbedaan secara signifikan atau tidak akan potensi ekstrak Jinten Hitam (*Nigella Sativa L.*) terhadap Proliferasi Limfosit Tikus Wistar Yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B. Hipotesis dari uji *One-Way Anova* adalah sebagai berikut:

$H_0$  : Tidak ada potensi ekstrak jintan hitam terhadap proliferasi limfosit tikus wistar yang diinduksi vaksin Hepatitis B

$H_1$  : Ada potensi ekstrak jintan hitam terhadap proliferasi limfosit tikus wistar yang diinduksi vaksin Hepatitis B

Pedoman sebagai berikut :

1. Jika nilai signifikan atau nilai probabilitasnya ( $p\text{-value}$ )  $< \alpha$  (alfa yang digunakan 0,05), maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima.
2. Jika nilai signifikan atau nilai probabilitasnya ( $p\text{-value}$ )  $> \alpha$  (alfa yang digunakan 0,05), maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak.

#### ANOVA

jumlah sel perlapang pandang

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5331.458	3	1777.153	13.615	.000
Within Groups	2610.500	20	130.525		
Total	7941.958	23			

Berdasarkan hasil uji *One Way Anova* di atas, didapatkan bahwa nilai signifikan ( $p$ ) = 0,000 pada  $\alpha = 0,05$ , artinya  $p < \alpha$ , Kesimpulan  $H_0$  ditolak, artinya ada potensi ekstrak Jinten Hitam (*Nigella Sativa L.*) terhadap Proliferasi Limfosit Tikus Wistar Yang Diinduksi Vaksin Hepatitis B

#### 4.1.5 Uji Post Hoc

Uji *Post Hoc* digunakan untuk melihat letak perbedaan pada setiap perlakuan. Penelitian ini menggunakan uji Anova yang diperkuat dengan uji LSD yang bertujuan untuk mengetahui lebih lanjut kelompok mana yang berbeda meannya apabila pada pengujian ANOVA dihasilkan ada perbedaan bermakna ( $H_0$ ) ditolak atau melihat letak perbedaan diantara masing-masing kelompok perlakuan.

Pengambilan hasil keputusan dari data yang diuji dengan menggunakan Anova dapat dilihat dari yaitu :

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

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: jumlah sel perlapang pandang  
LSD

(I) pemberian ekstrak jinten hitam dan vaksin Hepatitis B	(J) pemberian ekstrak jinten hitam dan vaksin Hepatitis B	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok kontrol positif	kelompok kontrol negatif	28.66667	6.59608	.000	14.9075	42.4259
	perlakuan 1	12.33333	6.59608	.076	-1.4259	26.0925
	perlakuan 2	-11.50000	6.59608	.097	-25.2592	2.2592
kelompok kontrol negatif	kelompok kontrol positif	-28.66667	6.59608	.000	-42.4259	-14.9075
	perlakuan 1	-16.33333	6.59608	.022	-30.0925	-2.5741
	perlakuan 2	-40.16667	6.59608	.000	-53.9259	-26.4075
perlakuan 1	kelompok kontrol positif	-12.33333	6.59608	.076	-26.0925	1.4259
	kelompok kontrol negatif	16.33333	6.59608	.022	2.5741	30.0925
	perlakuan 2	-23.83333	6.59608	.002	-37.5925	-10.0741
perlakuan 2	kelompok kontrol positif	11.50000	6.59608	.097	-2.2592	25.2592
	kelompok kontrol negatif	40.16667	6.59608	.000	26.4075	53.9259
	perlakuan 1	23.83333	6.59608	.002	10.0741	37.5925

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

Berdasarkan Hasil uji Post Hoc didapat perbedaan bermakna antara pasangan perlakuan yaitu : kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 1, kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 2 serta kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2. Sedangkan kontrol positif dengan perlakuan 1 dan perlakuan 2 tidak ada beda.

#### **4.2 PEMBAHASAN**

Penelitian eksperimental laboratoris yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap proliferasi limfosit tikus wistar yang diinduksi vaksin Hepatitis B. Penelitian ini dilakukan selama 8 hari pada hewan coba tikus galur wistar jantan yang dipilih karena sesuai pada uji farmakologi yaitu tikus jantan dapat mengurangi variasi fisiologis terutama siklus hormon betina selama siklus estrogen yang dapat mempengaruhi respon imun tikus.

Pada tabel 4.1 menunjukkan jumlah proliferasi sel limfosit pada kelompok kontrol positif lebih banyak dari pada kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah sel proliferasi limfosit pada kelompok kontrol positif. Peningkatan jumlah sel proliferasi limfosit ini merupakan salah satu petanda adanya inflamasi. Pada kelompok kontrol positif ini mengindikasikan bahwa kemungkinan terjadi proses inflamasi pada tubuh tikus yang disebabkan oleh masuknya benda asing, yaitu oleh antigen surface HBsAg yang terkandung dalam vaksin hepatitis B yang diinduksikan pada tikus.

Berdasarkan hasil analisis data dapat diketahui bahwa terjadi belum peningkatan dari sel proliferasi limfosit (130,8 sel/plp) pada perlakuan 1

dibanding dengan kelompok kontrol positif, namun jumlah sel proliferasinya meningkat dibanding dengan kelompok kontrol. Pada uji Post Hoc tidak beda atau tidak signifikan antara kelompok perlakuan 1 dengan kontrol positif ( $p=0,076$ )  $>$   $\alpha$  0,05. Hal ini disebabkan ekstrak jintan hitam dosis 75 mg/KgBB ini menunjukkan masih terjadi inflamasi dan kandungan *thymoquinone* pada ekstrak jintan hitam ini mampu mengaktifasi sel limfosit pada hepar mengalami proliferasi sehingga jumlahnya meningkat namun belum mampu untuk mengeliminasi patogen virus yang masuk. Hal ini menandakan Antigen *surface* Hepatitis B (HBsAg) yang terdapat dalam vaksin hepatitis B yang diinduksikan dapat memacu terjadinya inflamasi dalam tubuh tikus. Proses inflamasi ini ditandai dengan meningkatnya jumlah sel limfosit pada hepar (Irfan, dkk 2014). HBsAg merupakan protein *surface* spesifik dari virus hepatitis B diekspresikan pada permukaan hepatosit dan melalui *antigen presenting cell* (APC) dipresentasikan kepada sel limfosit T helper. Sel limfosit T helper yang teraktivasi memicu pembentukan proliferasi limfosit T (Marinda, 2015).

Kelompok perlakuan 2 tikus wistar yang diinduksi vaksin hepatitis B, kemudian diberi ekstrak jintan hitam dosis 150 mg/KgBB secara oral diketahui jumlah proliferasi limfosit meningkat dibanding dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil uji *Post Hoc* menunjukkan ( $p=0,000$ )  $<$   $\alpha$  0,05 yang artinya ada beda antara kelompok perlakuan 2 dengan kelompok negatif. Peningkatan jumlah sel limfosit pada kelompok perlakuan 2 tikus wistar yang diberi ekstrak jintan hitam dosis 150 mg/KgBB dibanding semua kelompok kontrol, membuktikan bahwa kandungan *thymoquinone* dalam ekstrak jintan hitam pada dosis ini dapat mengatasi infeksi virus yang masuk secara lebih maksimal sehingga tidak terjadi

inflamasi. Hal ini ditunjukkan sel limfosit yang mengalami proliferasi sebanyak 154,7 sel/plp dan tikus wistar tidak mengalami inflamasi. Mekanisme *thymoquinone* sebagai antiinflamasi berperan sebagai penghalang jalur *siklooksigenase* dan *lipooksigenase* dari metabolisme asam arakhidonat (Hawarima, 2017). Adanya hambatan pada jalur *siklooksigenase* yang berpengaruh terhadap penurunan PGE2 dan sitokin proinflamatori (IL-1, IL-2, IL-6 dan TNF- $\alpha$ ) akan berpengaruh terhadap penurunan aktivitas fagositosis. Hambatan jalur *lipooksigenase* yang berpengaruh terhadap produksi leukotrien yang dikenal sebagai mediator aktivitas leukosit.

Pada uji *Post Hoc* pada perlakuan 1 dan perlakuan 2 terdapat perbedaan bermakna ( $p=0,002$ )  $> \alpha 0,05$ , yang menunjukkan dosis ekstrak jintan hitam 75 mg/KgBB mampu mengaktifkan proliferasi sel limfosit namun dosis ekstrak jintan hitam 150 mg/KgBB lebih banyak mengaktifkan sel limfosit untuk berproliferasi pada hepar. Menurut Marlinda (2015), pemberian ekstrak etanol jintan hitam dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB dapat meningkatkan persentase kenaikan sel limfosit pada limfa mencit putih. Hal ini disebabkan karena adanya keterkaitan kandungan *thymoquinone* dalam ekstrak jintan hitam pada dosis.

Semakin besar dosis ekstrak jintan hitam maka semakin besar pula potensi meningkatkan proliferasi dan diferensiasi sel limfosit. Hal ini sesuai dengan penelitian Tyastuti (2006) yang mengatakan semakin banyak jumlah limfosit T yang aktif semakin besar jumlah bahan-bahan penghambat pertumbuhan sel tumor (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , dan IL-2R) yang terekspresikan sehingga sel tumor semakin mudah ditekan perkembangannya. *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) diproduksi



oleh limfosit T yang aktif dan bersama-sama dengan *Interferon- $\gamma$*  (IFN- $\gamma$ ) bersifat sitotoksik terhadap antigen virus Hepatitis B. IFN- $\gamma$  sangat berperan dalam pertahanan terhadap serangan virus karena mampu meningkatkan ekspresi MHC kelas I dan II yang berperan dalam pengenalan antigen yang dihasilkan oleh virus Hepatitis B.

Ekstrak jintan hitam berupa *thymoquinone* ini memiliki efek imunomodulator sehingga dapat memstimulasi sel limfosit T yang distimulasi akan memproduksi sitokin berupa interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) dan interleukin -2 (IL-2). IFN- $\gamma$  akan berperan dalam aktivasi sel makrofag dan dapat menginduksi ekspresi molekul *major histocompatibility complex* (MHC) kelas II pada sel makrofag, sehingga membantu fungsi sel makrofag pada folikel limfoid untuk mengenali substansi asing. Sel makrofag juga dapat melepas sitokin, yaitu IL-1 yang berperan dalam memacu proliferasi sel Th. Sedangkan IL-2 tidak hanya berperan pada ekspansi klon sel limfosit T setelah dikenal antigen, tetapi juga meningkatkan proliferasi dan diferensiasi sel imun lain (Wiedosari, 2013).

Efek ekstrak jintan hitam dapat menstimulasi sitokin *Macrophage Activating Factor* (MAF) sehingga meningkatkan fungsi makrofag yang berperan dalam sistem imun seluler. *Thymoquinone* mampu meningkatkan fungsi sel-sel imun baik seluler maupun humoral (Yusuf, 2014). Sel makrofag mempunyai peranan penting dalam sistem imun non-spesifik sebagai pertahanan awal terhadap invasi mikroorganisme maupun imunitas anti-tumor dengan fungsinya sebagai fagosit profesional untuk menghancurkan dan menyajikan antigen kepada sel limfosit. Sel makrofag yang teraktivasi akan

melaksanakan fungsi efekturnya sebagai aktivator sel limfosit, mikrobisidal dan tumorisidal. (Wiedosari, 2013).

Pada kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 diketahui tidak terdapat kerusakan pada sel-sel hati atau hepatosit. Hal ini ditandai pada sediaan preparat histopatologis pada perlakuan 1 dan perlakuan 2 terlihat tidak terdapat kerusakan hepar (*hepatobiliary onstructive*) atau nekrosis pada jaringan hepar. Kemungkinan dikarenakan sel proliferasi limfosit yang terekspsi adanya bahan akhit jintan hitam *Thymoquinone* mampu menjaga serangan antigen virus Hepatitis B sehingga bentuk, inti dan krotain sel-sel hepatosit terlihat normal. Menurut Dollah *et al* (2013) dalam penelitiannya mengatakan bahwa pemberian jintan hitam 1 gram/kg BB, secara histopatologi mampu melindungi jaringan hepar dari kerusakan dan fungsi hepar tetap terjaga.

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN REKOMENDASI

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan mengenai potensi ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) terhadap proliferasi limfosit tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi vaksin hepatitis B, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Sel proliferasi limfosit pada kelompok kontrol positif sebesar 143,1 sel/plp, kelompok kontrol negatif sebesar 114,5 sel/plp, kelompok perlakuan 1 dengan dosis 75 mg/KgBB sebesar 130,8 sel/plp dan kelompok perlakuan 2 dengan dosis 150 mg/KgBB sebesar 154,7 sel/plp.
2. Terdapat perbedaan antara jumlah sel proliferasi limfosit pada perlakuan 1 dengan perlakuan 2 ( $p=0,002 > \alpha 0,05$ ), dan dosis optimal jintan hitam adalah 150 mg/KgBB

#### 5.2 Rekomendasi

1. Bagi masyarakat diharapkan jintan hitam (*Nigella sativa L.*) dapat dikonsumsi sebagai suplemen sehingga dapat menjadi alternatif pencegahan terhadap virus hepatitis B.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai *lethal dose* dan kandungan bahan aktif lain dari ekstrak jintan hitam untuk pemanfaatan ekstrak jintan hitam agar bisa diaplikasikan sebagai alternatif imunomodulator maupun imunopreventif terhadap infeksi hepatitis B.

## DAFTAR PUSTKA

- 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.
- Aminah.2013. *Analisis Ketepatan Pemberian Imunisasi HB-0 di Wilayah Kerja Puskesmas Patiluban Mudik Kecamatan Natal Tahun 2012*. Medan.Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara.
- Andareto, Obi. 2015. *Penyakit Menular di Sekitar Anda*. Jakarta: Pustaka Ilmu Semesta
- Andini, Septi Tri. 2016. *Titer Anti HBS dengan Variasi Waktu Pembacaan absorbansi pada Elisa Reader*. Semarang. Program D-IV Analisis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Arief,Sjamsul.2012.HepatitisVirus.Dalam:Juffreee,Mohammad.*BukuAjarGastroenterologi-Hepatologi*.Badan PenerbitIDAI, Jakarta:296-7.
- Ariyanti, Riane. 2012. *Deteksi Migrasi Polymorphonuclear Neutrophil (PMN) Akibat Demam Berdarah Dengue (DBD) Pada Cairan Sulkus Gingiva Dan Whole Sativa*.Jember.Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Aslamiah, Suaibatul. 2011. *Model Persamaan Differensial Delay Untuk Infeksi Virus Hepatitis B*. Tesis. Medan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatra Utara.
- Bahrn, Uleng dan Arif, Mansyur. 2014. *Koeksistensi HBsAg dan Anti-HBs di Makassar*. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Wadi Husada. Volume : 1.

- Baratawidjaja, KG. 2010. *Imunologi Dasar*. Edisi VIII. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta
- CDC, 2014. *Factor risk Associated Reported Hepatitis B*
- Clorinda, Freicillya Rebecca. 2012. *Uji Kemampuan Minyak Jintan Hitam (Nigella sativa) Menghambat Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Jember. Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Dewi, Nurfitia. 2012. *Dahsyatnya Jintan Hitam untuk Pengobatan Berbagai Penyakit*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Dina, Nur Farah. 2016. *Efektivitas Temu Hitam (Curcuma aeruginosa Roxb) Terhadap Kadar C-Reactive Protein (CRP) Pada Mencit Yang Terinfeksi Bakteri Eschericia coli*. Surabaya. Program Studi DIII Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya.
- Dollah *et al*, 2013. *Toxicity Effect of Nigella Sativa on the Liver Function of Rats. Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2013, 3(1), 97-102 doi: <http://dx.doi.org/10.5681/apb.2013.016> <http://apb.tbzmed.ac.ir/>
- Ekasari, Nur. 2016. *Korelasi Serum GP73 Terhadap Derajat Fibrosis Hati Pasien Hepatitis B dan C*. Tesis: Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Elliot, dkk. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran & Infeksi Edisi 4*. Jakarta: EGC
- Goyal, A. & J.M. Murray. 2016. *Modelling the Impact of Cell-To-Cell Transmission in Hepatitis B Virus*. Plos One 11 (8): 10.1371
- Gunawan, Josephine Rahma. 2013. *Pengaruh Pemberian Gabungan Ekstrak Paleria macrocarpa dan Phyllanthus niruri terhadap Persentase Limfoblas Limpa Pada Mencit Balb/C*. Semarang. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Hidayat, R. 2015. *Pengaruh Ekstrak Biji Jintan Hitam (Nigella Sativa) Sebagai Anti Bakteri Alami Dalam Menghambat Pertumbuhan Enterococcus faecalis*. Banda Aceh. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala.
- Hawarima, Victoria. 2017. *Efek Protektif Thymoquinone terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Sprague dawley Yang Diinduksi Rifampisin*. Bandar Lampung. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Irfan, U. Bahrun & M. Arif. 2014. *Koeksistensi HBsAg dan Anti HBs di Makassar*. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Wadi Husada Vol.1 No.3.

- Indah, Agustina Dwi. 2011. *Hubungan Peningkatan SGPT dengan Hasil HBsAg Pada Pasien Hepatitis B Di Rumah Sakit Marsudi Waluyo*. Volume : 2. Nomor : 1.
- Irfan, U. Bahrun & M. Arif. 2014. *Koeksistensi HBsAg dan Anti HBs di Makassar*. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan WADI HUSADA Vol.1 No.3.
- 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.
- Kemenkes. 2013. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta
- 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.
- Khairinal, 2013. *Efek Kurkumin Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Dari Limpa Mencit C3H Bertumor Payudara Secara in Vitro*. Tesis Universitas Indonesia
- Krishnan, Suhashani. 2010. *Jumlah Leukosit pada Pasien Apendisitis Akut di RSUP Haji Adam Malik Medan Pada 2009*. Medan. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara.
- Larasati, Kifia Desi. 2016. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Temulawak ( Curcuma xanthorrhiza Roxb) terhadap Kadar LDL (Low Density Lipoprotein) pada Mencit (Mus musculus)*. Surabaya. Program Studi DIII Analisis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya.
- Marinda, Ferina Dwi. 2015. *Uji Diagnostik RAPID TEST HBsAg DIASPOT® Untuk Mendiagnosis Infeksi Hepatitis B Di Rumah Sakit Urip Sumoharjo Bandar Lampung*. Lampung. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Marlinda, Lita. 2015. *Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (Nigella sativa Linn.) Terhadap Peningkatan Fagositosis dalam Respon Imun Tubuh*. J Majority 4(3): 58-64.
- Mayasafira, Dian. 2012. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Minyak Jintan Hitam (Nigella sativa) Terhadap Gambaran Diferensiasi Leukosit dan Luasan Sumsu Tulang Mencit (Mus musculus)*. Bogor. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Melia, J. dkk. 2011. *Identifikasi Leukosit Polymorphonuclear (PMN) Dalam Darah Sapi Endometritis Yang Diterapi Dengan Gentamisin, Flumequin, Dan Analog PGF<sub>2</sub>α*. Jurnal Kedokteran Hewan.

- Mustofa S. & Kurniawaty E. 2013. *Manajemen gangguan saluran serna: Panduan bagi dokter umum*. Bandar Lampung: Aura Printing & Publishing. hlm.272-7
- Pambudi R, Ramadhian R. 2016. Efektivitas Vaksinasi Hepatitis B dalam Menurunkan revalensi Hepatitis B. Vol.5. Universitas Lampung
- Panggabean, Elizabeth Loloan. 2010. *Karakteristik Penderita Hepatitis B Rawat Inap di RSUD Rantau Prapat Kabupaten Labuhan Batu Tahun 2006-2009*. Medan. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara.
- Permatasari, Nur. 2012. *Instruksi Kerja Pengambilan Darah, Perlakuan, Dan Injeksi Pada Hewan Coba*. Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya. Malang.
- Pham, Edward A. dkk. 2016. *Future Therapy for Hepatitis B Virus : Role of Immunomodulators*. Curr Hepatology Rep. 15:237-244
- Pradipta, Aditya. 2011. *Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sansevieria trifasciata Prain Terhadap Staphylococcus aureus IFO 13276 Dan Pseudomonas aeruginosa IFO 12689*. Yogyakarta. Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
- Prastiwi, Rini. 2009. *Efek Hepatoprotektor Brotowali (Tinospora cordifolia Miers) Terhadap Virus Hepatitis B*. Surakarta. Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Pratama, Ferdiansyah Septianto. 2016. *Pengaruh Infusa Jintan Hitam (Nigella sativa L.) terhadap Pertumbuhan Jamur Malassezia furfur*. KTI. Surabaya. Program Studi DIII Analisis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya.
- Pratiwi, Mutia. 2010. *Efek Ekstrak Lerak (Sapindus Rarak DC) 0,01 % Terhadap Penurunan Sel-Sel Radang Pada Tikus Wistar Jantan (Penelitian In Vivo)*. Medan. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatra Utara.
- Puspwardojo, 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.
- Rachmanita, Muthia. 2016. *Pengaruh Minyak Biji Jintan Hitam (Nigella sativa L.) terhadap Jumlah Neutrofil Studi Eksperimental Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Diinfeksi Escherecia coli Secara In Vivo*. Semarang. Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung.

- Rahman, M.A. 2014. *Uji Efektivitas Ekstrak Jintan Hitam (Nigella sativa) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus pyogenes*. Jakarta. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Saraswati, Rika Agustina. 2016. *Pengaruh Jumlah Leukosit Polimorfonuklear Setelah Pemberian Sari Daun Jambu Biji Pada Mencit Yang Dinfeksi Bakteri Escherichia coli*. Surabaya. Program Studi DIII Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya.
- Setiorini, Yeni. 2012. *Deteksi Secara Imunohistokimia Immunoglobulin A (IgA) Pada Usus Halus Tikus Yang Diberi Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC)*. Bogor. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Simbolon, Ayu Muzda Amalia. 2010. *Pengaruh Karakteristik Ibu dan Lingkungan Sosial Budaya Terhadap Pemberian Imunisasi Hepatitis B pada Bayi 0-7 Hari di Kelurahan Aek Muara Pinang Kecamatan Sibolga Selatan Kota Sibolga Tahun 2010*. Medan. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatra Utara.
- Sinthary, Venna. 2014. *Respon Imun Terhadap Virus*. Kendari. Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo.
- Slamet & Nugrahini, Naning. *Pedoman Tatalaksana dan Rujukan Hepatitis B di Fasyankes*. 2014. Edisi Pertama. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Telaumbanua, Sepniman Jaya. 2012. *Pemeriksaan Jumlah Leukosit pada Penderita Hepatitis B Yang Dirawat Inap di RSUD Advent Medan Tahun 2012*. Medan. Akademi Analis Kesehatan Sari Mutiara.
- Triani, Eva. 2013. *Analisis Molekuler Virus Hepatitis B pada Calon dan Tenaga Kerja Indonesia (TKI) Asal Pulau Lombok Nusa Tenggara Barat dengan HBsAg Positif*. Universitas Airlangga Surabaya. Tesis.
- Vanessa, Rebecca dkk. 2014. *Pemanfaatan Minuman Serbuk Instan Kayu Manis (Cinnamomum burmanii BI.) Untuk Menurunkan Kadar Kolesterol Total Darah Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. Yogyakarta. Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
- Wadud, S.A. 2014. *Uji Efektivitas Ekstrak Biji Jintan Hitam (Nigella sativa) terhadap Pertumbuhan Bakteri Shigella Dysentriae*. Jakarta. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- WHO. 2015. *Hepatitis B Disease*.



- Wiedosari Ening, 2013. *Aktivitas Proliferasi Sel Limfosit Mencit Secara In Vitro Dari Ekstrak bawang Putih (Allium sativum)*. Seminar Nasional teknologi peternakan dan Veteriner 2013
- Wijayanti, I.B. 2016. *Efektivitas HBsAg – Rapis Screening Test untuk Deteksi Dini Hepatitis B*. Surakarta. Program Studi D-III Kebidanan Stikes Kusuma Husada Surakarta.
- Wirayuda, Andreas. 2014. *Hubungan Antara Beberapa Faktor Penyebab Terhadap Terjadinya Hepatitis B Di Rumah Sakit Umum Pusat Haji Adam Malik Medan Pada Tahun 2012-2013*. Medan. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara.
- Xu, R. dkk. 2014. *The Role of Neutrophils in the developments of liver diseases*. Cellular and Molecular Immunology 11: 224-231.
- Yogarajah, H. dkk. 2013. *Laboratory Diagnosis of Hepatitis B*. E-Journal Udayana Medika Vol 1. No 1.
- Yuliantoro, Ricky Trinugroho. 2011. *Pengaruh Pemberian Terapi Adjuvan Minyak Jinten Hitam (Nigella sativa) Terhadap Hitung Limfosit Mencit Balb/C Model Sepsis*. Surakarta. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Yusuf, Mentari Syahirah. 2014. *Efektivitas Penggunaan Jintan Hitam (Nigella sativa) Dalam Proses Percepatan Penyembuhan Luka Setelah Pencabutan Gigi*. Makassar. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
- 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-1 pada Mencit Balb/c*. Jakarta. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.