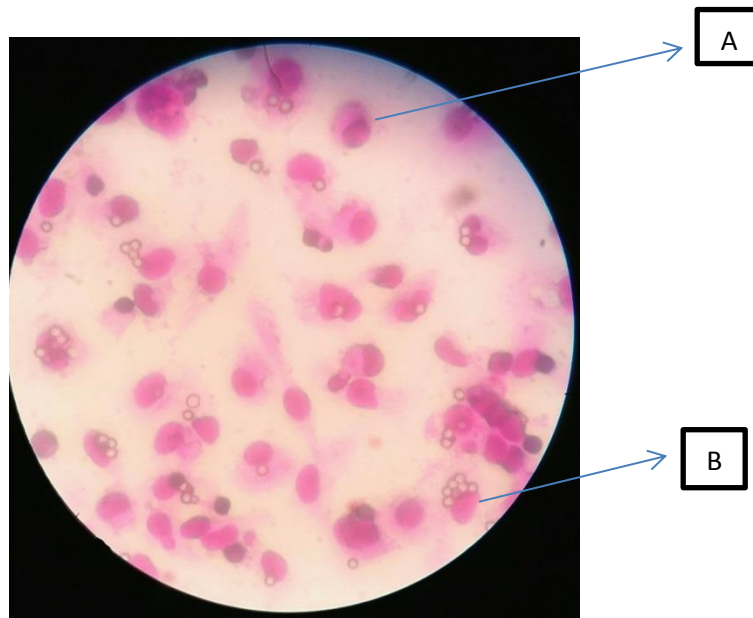


## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian**

Uji aktivitas fagositosis makrofag dilakukan menggunakan metode *in vitro*. Kemampuan fagositosis makrofag diukur dengan melihat seberapa besar makrofag memakan lateks, yaitu dengan menghitung persentase jumlah makrofag yang makan lateks diantara 100 makrofag pada setiap kelompok perlakuan serta menghitung indeks fagositosisnya. Aktifitas fagositosis makrofag dalam memakan lateks dapat dilihat pada gambar 4.1



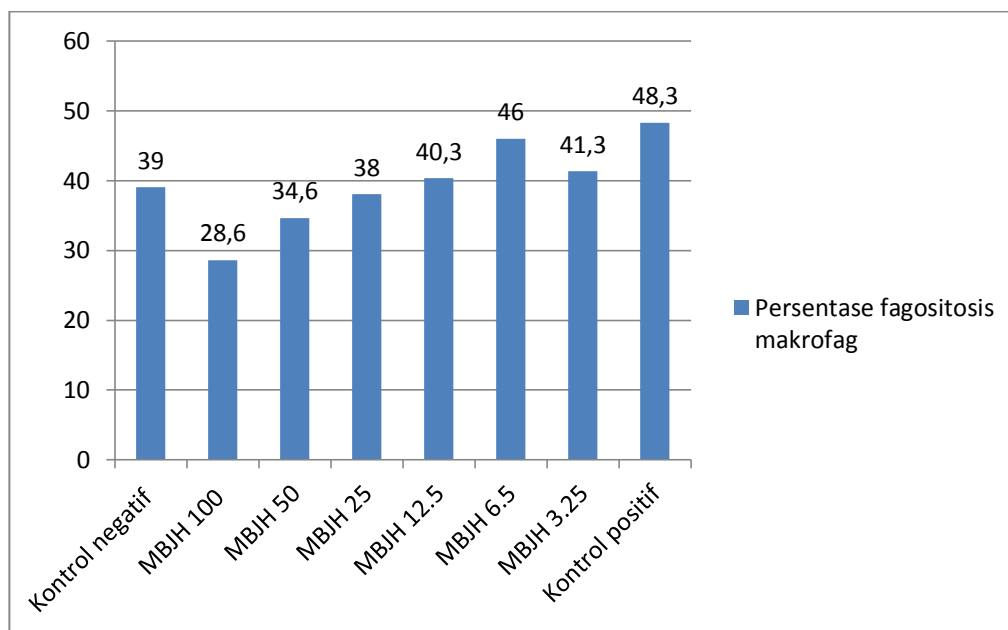
Gambar 4.1 Aktifitas fagositosis makrofag yang diinduksi benzopiren dengan pemberian MBJH secara *in vitro*. A= makrofag yang tidak memfagositosis latek; B= makrofag yang memfagositosis latek

Tabel 4.1 Hasil persentase aktivitas fagositosis makrofag dan indeks fagositosis makrofag yang telah diinduksi benzopiren dan setelah diberi mbjh

<b>Kelompok Perlakuan</b>	<b>Persentase fagositosis makrofag</b>	<b>Indeks fagositosis</b>
<b>Kontrol negatif</b>	39*	2,26*
<b>MBJH 100</b>	28,6*a	2,06*a
<b>MBJH 50</b>	34,6*a	2,15
<b>MBJH 25</b>	38a	2,29
<b>MBJH 12.5</b>	40,3a	2,14
<b>MBJH 6.5</b>	46*	2,46*
<b>MBJH 3.25</b>	41,3a	2,66*a
<b>Kontrol positif</b>	48,3*	2,31

Keterangan : \* =  $p < 0,05$  uji beda rata-rata terhadap kontrol negatif ; a= $p < 0,05$  uji beda rata-rata terhadap kontrol positif

Berdasarkan tabel di atas didapatkan bahwa signifikansi persentase aktivitas fagositosis makrofag pada pemberian minyak biji jintan hitam (mbjh) dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif adalah pada pemberian mbjh dengan konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$  dan 50  $\mu\text{g/ml}$ . Signifikansi pemberian mbjh dibanding dengan kontrol positif yaitu pada pemberian dengan konsentrasi 25  $\mu\text{g/ml}$ , 12.5  $\mu\text{g/ml}$ , dan 3.25  $\mu\text{g/ml}$ . Sedangkan jika pemberian mbjh dibandingkan dengan kontrol negatif didapatkan yang signifikan pada konsentrasi 6.5  $\mu\text{g/ml}$ . Pada indeks fagositosis makrofag signifikansi pada pemberian mbjh dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif adalah pada pemberian mbjh dengan konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$  dan 3.25  $\mu\text{g/ml}$ . Signifikansi pemberian mbjh dibanding dengan kontrol negatif adalah konsentrasi 6.5  $\mu\text{g/ml}$ . Sedangkan yang tidak signifikan adalah pada konsentrasi 50  $\mu\text{g/ml}$ , 25  $\mu\text{g/ml}$ , dan 12.5  $\mu\text{g/ml}$ .

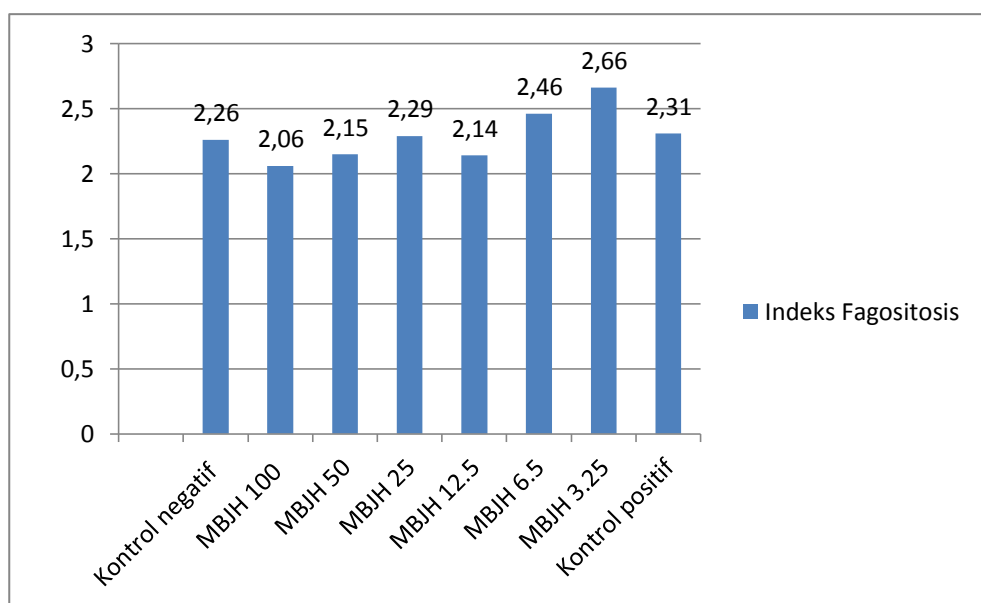


Keterangan : MBJH = minyak biji jintan hitam

Gambar 4.2 Grafik rata-rata persentase fagositosis diberi minyak biji jintan hitam (*nigella sativa*) dengan berbagai konsentrasi

Berdasarkan Grafik 4.1 di atas , dapat dilihat bahwa pada kontrol positif menunjukkan persentase makrofag yang melakukan fagositosis sangat tinggi. Hal ini terjadi karena pada perlakuan kontrol positif tidak diberikan larutan uji apapun. Pada kelompok perlakuan, pemberian mbjh pada konsentrasi 12.5  $\mu\text{g/ml}$ , 6.5  $\mu\text{g/ml}$ , dan 3.25  $\mu\text{g/ml}$  makrofag mengalami peningkatan jika dibanding dengan kontrol negatif. Urutan kemampuan fagositosis berdasarkan persentase jumlah makrofag yang makan lateks dari yang terkecil sampai terbesar adalah konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$ , konsentrasi 50  $\mu\text{g/ml}$ , konsentrasi 25  $\mu\text{g/ml}$ , kontrol negatif, konsentrasi 12,5  $\mu\text{g/ml}$ , konsentrasi 3,25  $\mu\text{g/ml}$ , konsentrasi 6,5  $\mu\text{g/ml}$ , dan kontrol positif. Namun , menurut grafik diatas dapat dilihat bahwa pada pemberian minyak biji jintan hitam dengan konsentrasi 6,5  $\mu\text{g/ml}$  memberikan

hasil yang paling optimal. Pada grafik diatas juga didapatkan bahwa pemberian mbjh dengan konsentrasi yang semakin menurun menyebabkan peningkatan aktivitas fagositosis makrofag , ini memberikan informasi bahwa pemberian mbjh berbanding terbalik dengan pemberian dosis obat pada farmakologi.



Keterangan : MBJH = minyak biji jintan hitam

Gambar 4.3 Grafik rata-rata jumlah indeks fagositosis yang diberi minyak biji jintan hitam (*nigella sativa*) dengan berbagai konsentrasi

Berdasarkan Grafik 4.2 diatas , dapat dilihat bahwa indeks fagositosis atau rata-rata jumlah lateks yang dimakan tiap makrofag aktif menunjukkan pemberian mbjh pada konsentrasi 25  $\mu\text{g/ml}$ , 6.5  $\mu\text{g/ml}$ , dan 3.5  $\mu\text{g/ml}$  mengalami peningkatan dibanding dengan kontrol negatif. Urutan rata-rata lateks yang difagosit pada makrofag dari yang terkecil sampai terbesar adalah konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$ , konsentrasi 12,5  $\mu\text{g/ml}$ , konsentrasi 50  $\mu\text{g/ml}$ , kontrol negatif, konsentrasi 25  $\mu\text{g/ml}$ , kontrol positif, konsentrasi 6,5  $\mu\text{g/ml}$ , dan konsentrasi 3,25  $\mu\text{g/ml}$ . Pada

pemberian mbjh dengan konsentrasi 3,25 µg/ml menunjukkan angka indeks fagositosis tertinggi yang menunjukkan bahwa konsentrasi pemberian minyak biji jintan hitam yang optimal yaitu pada konsentrasi 3.25 µg/ml.

## B. Pembahasan

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian minyak biji jintan hitam pada makrofag yang telah diinduksi benzopiren berpengaruh dalam meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dan indeks fagositosis. Pada pemberian minyak biji jintan hitam dengan konsentrasi 100 µg/ml, 50 µg/ml, 25 µg/ml, 12.5 µg/ml, 6.5 µg/ml, 3,25 µg/ml memberikan hasil yang optimal yaitu pada pemberian minyak biji jintan hitam dengan konsentrasi 6.5 µg/ml untuk aktifitas fagositosis makrofag , sedangkan dosis yang optimal untuk indeks fagositosis adalah pada pemberian mbjh dengan konsentrasi 3.25 µg/ml. Hasil penelitian dari akrom 2015 menunjukkan Pemberian Ekstrak Henksan Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa* Lour) dapat meningkatkan aktifitas fagositosis makrofag tikus betina galur SD yang diinduksi DMBA secara *in vitro* (Akrom dan Fatimah , 2015). Peningkatan aktivitas fagositosis makrofag menunjukkan bahwa pada tubuh terdapat benda asing baik itu bakteri, jamur maupun patogen lain.

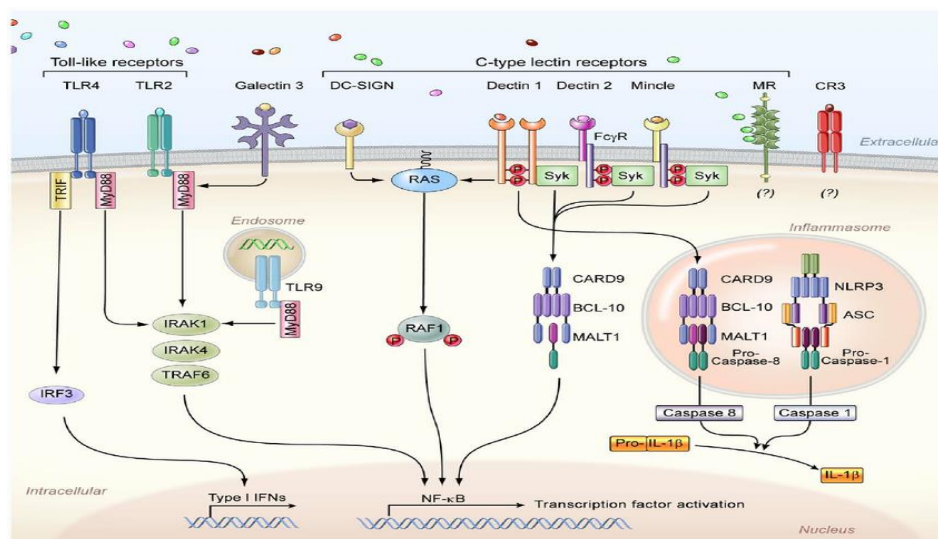
Sistem imun tubuh melakukan pertahanan dengan mangaktifkan sistem imun bawaan (non spesifik) yaitu makrofag. Makrofag merupakan sel fagosit mononuklear yang dominan melakukan pertahanan non spesifik pada tubuh (Baratawidjaja, 2006). Makrofag akan memakan dan menghancurkan mikroba, serta membersihkan jaringan yang mati dan menginisiasi proses perbaikan jaringan (Abbas *et al.*, 2014). Fagositosis adalah proses yang

melibatkan pengenalan antigen / mikroba, menelan, mencerna dan degradasi (Baratawidjaja ,2006). Tahap yang paling pertama dari aktivasi sistem imun terhadap patogen adalah tahap pengenalan molekul permukaan yang khas antara sel imun (makrofag) dengan patogen. Pathogen Associated Molecular Patterns (PAMPS) merupakan struktur molekul pada patogen yang tidak dimiliki oleh organisme lain , dapat dikenali oleh reseptor sel-sel fagosit. (Ahsani , 2014).

Makrofag akan mengenali struktur PAMPs melalui Pattern Recognition Receptor (PRRs) yang spesifik. PRRs merupakan komponen sistem imun yang memiliki reseptor untuk PAMPs. PRRs yang spesifik akan mengenali stuktur yang terdapat pada permukaan dinding patogen. Kelas mayor PRRs yang berperan penting dalam mengaktifkan respons imun non spesifik, merangsang produksi berbagai protein yang berperan dalam fungsi makrofag adalah Toll-like Reseptor (TLR) (Baratawidjaja ,2006). Pengenalan *PAMP* oleh *TLR* baik tunggal maupun heterodimer dengan *TLR* yang lain atau dengan reseptor non-*TLR* menginduksi produksi signal yang bertanggung jawab atas aktivasi gen yang diperlukan untuk memperoleh pertahanan tubuh yang efektif, terutama sitokin proinflamasi (Ghosh and May , 1998) ( Karin and Ben , 2000).

Subtipe TLR yang berperan penting dalam proses ini antara lain TLR4. TLR4 merupakan reseptor yang ada dipermukaan makrofag (Abbas *et al.*, 2014) , sinyal dari TLR mengaktifkan respon imun non spesifik, cirinya yaitu merangsang produksi faktor transkripsi yang menghasilkan produksi berbagai

protein dan makrofag melepaskan sejumlah sitokin yang berperan dalam respon imun (Baratawidjaja, 2006). Proses pengenalan PAMPs oleh TLR dapat dilihat pada Gambar 4.4



Keterangan : Komponen mikroba dikenali dan diikat reseptor CD14, TLR mengaktifkan MyD88, TRAF6, IRAK (IL-1 receptor associated kinase), faktor transkripsi seperti NF- $\kappa$ B yang melakukan translokasi dalam inti sel dan mempengaruhi ekspresi gen. Selama pengenalan dari struktur mikroba, signal TLRs akan menyebabkan perlekatan ligan pada permukaan sel yang menimbulkan reaksi pada molecules signaling cytoplasmic, dimana reaksi pertama kali adalah pada protein adapter yaitu MyD88 (Myeloid differentiation factor 88) dan kemudian mengaktifasi molekul signaling seperti IRAK dan TRAF6 (TNF receptor associated factor). Kinase yang disebut sebagai IRAK termasuk dalam signaling kompleks ini. IRAK menyebabkan terjadinya autophosphorilasi, aktivasi signal molekul yang lain seperti reseptor TNF- $\alpha$  (TNF-R). Gen yang diekspresikan dalam respons oleh TLR penting dalam menimbulkan komponen yang berbeda-beda dalam respons imun innate, disini termasuk sitokin inflamatori (TNF, IL-1, IL-8 dan IL-12), endothelial adhesion molecules (E-selection), dan protein yang berperan dalam mekanisme pembunuhan mikroba (termasuk iNOS). Gen yang secara khusus diekspresikan tergantung tipe sel. Faktor transkripsi, seperti AP-1 (Activating Protein-1) melalui jun kinase dan NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor  $\kappa$ B) yang diaktivasi dan ditranslokasi di nukleus, akan menstimulasi produksi sitokin dan aktivitas fagositosis.

Biji jintan hitam merupakan bahan yang sering digunakan sebagai obat herbal. Kandungan biji jintan hitam diantaranya yaitu asam lemak (Asam

Linoleat, Asam Miristat) dan senyawa aktif (thymoquinone thymohydroquinone, dithymoquinone, p-cymene carvacrol, 4-terpineol , T-anetol , sesquiterpene longifolene a-pinene dan timol (Janfaza and Janfaza, 2012). Thymoquinone merupakan kandungan utama biji jintan hitam yang memiliki peran secara farmakologi (Dollah, et al 2013). Pada jintan hitam kandungan thymoquinon berkisar 30% -48% (Janfaza and Janfaza, 2012). Tymoquinon ini dapat meningkatkan aktivitas fagoitosis makrofag karena tymoquinon menginduksi enzim *neu4 sialidase* yang berperan dalam mekanisme aktivasi makrofag. Peran *neu4 sialidase* dalam hantaran respon dari TLR4 menuju makrofag yaitu meningkatkan kompleks antara TLR4 dan *myd88* (Finlay *et al*, 2010). Peningkatan kompleks antara TLR4 dan *myd88* nantinya akan menginduksi faktor transkripsi dan mengaktivasi makrofag (Akira, 2003).

### **C. Kesulitan dan Keterbatasan Penelitian**

1. Terdapatnya kontaminasi pada saat kultur sel
2. Bahan yang susah didapatkan (Benzopiren)