

Pengaruh Pemberian Minyak Biji Jinten Hitam (*Nigella Sativa L.*) Terhadap Persentase Ekspresi Interleukin-2 Pada Perokok Aktif

The Effect Of Black Cumin (Nigella Sativa L.) Seed Oil on The Percentage Of Interleukin-2 Expression In Active Smokers

Laili Apriani⁽¹⁾, Andrey Wahyudi⁽²⁾

⁽¹⁾Program Studi Farmasi, Universitas Qomarul Huda

⁽²⁾Program Studi Farmasi, Universitas Ngudi Waluyo

Email Korespondensi: lailiapriani16@gmail.com

ABSTRAK

Asap rokok memiliki kandungan utama yaitu 7,12- dimethylbenz[a]anthracene (DMBA), nikotin dan tar yang mempengaruhi sistem imun bawaan dan adaptif. Nikotin dan tar mampu menekan ekspresi Interleukin-2 (IL-2) pada *Pheripheral Blood Mononuclear Cell* (PBMC) dengan mengurangi pensinyalan dalam aktivasi sel T. Minyak Biji Jinten Hitam (MBJH) secara in vitro maupun in vivo telah digunakan sebagai senyawa imunomodulator dengan kandungan utamanya yaitu timokuinon dan diharapkan mampu meningkatkan IL-2. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana pengaruh MBJH terhadap ekspresi IL-2 pada perokok aktif. Sebanyak 36 relawan sehat perokok aktif dengan usia >18 tahun dibagi menjadi 4 kelompok. Intervensi plasebo dan kapsul MBJH 450 mg diberikan selama 30 hari. Desain penelitian yang digunakan yaitu *Randomized Controlled Trial* (RCT) *single blind*. Persentase IL-2 dianalisis dengan menggunakan *flow cytometer* dan rata-rata IL-2 dianalisis menggunakan *Kruskal Wallis*. Persentase ekspresi IL-2 paling rendah yaitu pada kelompok plasebo dengan rerata 1,67%, dan meningkat pada kelompok kapsul MBJH 450 mg 3x1, 3x2 dan 3x3 dengan ekspresi IL-2 berturut-turut yaitu 3.54%, 3.49% dan 3.72%. Simpulan penelitian ini adalah pengaruh pemberian MBJH terhadap persentase IL-2 tidak bermakna secara statistik, tetapi pada rerata ekspresi IL-2 menunjukkan kenaikan pada kelompok yang diberikan MBJH dibandingkan kelompok kontrol yang diberikan plasebo.

Kata kunci : Jintan Hitam, Ekspresi Interleukin-2, Perokok Aktif

ABSTRACT

Cigarette smoke has the main content, namely 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA), nicotine and tar which affect the innate and adaptive immune system. Nicotine and tar are able to suppress the expression of Interleukin-2 (IL-2) in Pheripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) by reducing signaling in T-cell activation. Black cumin seed oil (MBJH) both in vitro and in vivo has been used as an immunomodulatory compound containing. The main one is Timoquinone and it is expected to be able to increase IL-2. The purpose of this study was to find out how MBJH influences IL-2 expression in active smokers. A total of 36 healthy active smoker volunteers aged >18 years were divided into 4 groups. Placebo intervention and 450 mg MBJH capsules were administered for 30 days. The research design used was a single blind Randomized Controlled Trial (RCT). The percentage of IL-2 was analyzed using a flow cytometer and the average IL-2 was analyzed using Kruskal Wallis. The lowest percentage of IL-2 expression was in the placebo group with an average of 1.67%, and it increased in the 450 mg MBJH capsule group 3x1, 3x2 and 3x3 with IL-2 expression of 3.54%, 3.49% and 3.72% respectively. Conclusion in this research was the effect of MBJH administration on the

percentage of IL-2 was not statistically significant, but the mean of IL-2 expression showed an increase in the group given MBJH compared to the control group given placebo.

Keywords: Black Cumin, Interleukin-2 Expression, Active Smokers

PENDAHULUAN

Merokok secara langsung dapat mengelaborasi setidaknya 60 karsinogen kuat terhadap jaringan epitel yang berpotensi memicu kerusakan DNA pada bronkus, laring, dan sel epitel paru-paru. Sintesis yang paling umum dalam asap rokok adalah nikotin, 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA), formaldehida, amonia, karbon monoksida, karbon dioksida, benzopiren, tar, aseton, hidrokuinon, kadmium dan nitrogen oksida (Vu *et al.*, 2015). Kandungan asap rokok tersebut dapat mempengaruhi sistem imun bawaan dan adaptif. Sel-sel imun adaptif yang dipengaruhi oleh rokok yaitu sel-sel T-helper (Th1 / Th2 / Th17), CD4+, CD25+, sel T regulator, sel T CD8+, sel B dan sel memori limfosit T/B, sementara sel imun bawaan yang dipengaruhi oleh rokok sebagian besar adalah sel dendrit, makrofag dan sel *Natural Killer* (NK) (Qiu *et al.*, 2017)

Nikotin dan tar dalam rokok mampu menekan ekspresi interleukin-2 pada *peripheral blood mononuclear cell* (PBMC) dengan mengurangi pensinyalan dalam aktivasi sel T yang dihubungkan oleh antigen (Arimilli *et al.*, 2019). Interleukin-2 ialah faktor pertumbuhan (*growth factor*) untuk semua subpopulasi sel T. Fungsi lain dari Interleukin-2 yaitu merangsang diferensiasi dan proliferasi sel *Natural Killer* (NK) dan meningkatkan daya bunuh sel NK. Interleukin-2 juga merangsang proliferasi limfosit B untuk manifestasi antibodi. Ekspresi Interleukin-2 dimodulasi oleh Interleukin-5 dan Interleukin-6. Aktivasi biologis dari Interleukin-2 dilakukan melalui ikatan dengan reseptor membran yang hanya diekspresikan pada sel yang aktif saja sedangkan pada sel yang tidak aktif tidak didapatkan reseptor Interleukin-2 (Suega, 2006).

Ketika daya tahan tubuh lemah maka leveransir infeksi akan dengan mudah menyebabkan berbagai infeksi penyakit, menembus pertahanan tubuh dan dapat menyebabkan ketidakseimbangan sistem imun. Upaya untuk meningkatkan dan menjaga keseimbangan sistem imun sangat penting dilakukan, caranya adalah dengan menggunakan senyawa imunomodulator. Imunomodulator adalah senyawa yang dapat membantu meningkatkan sistem imun dan memodifikasi sistem imun. Secara klinis suatu imunomodulator digunakan pada pasien dengan gangguan imunitas, antara lain pada kasus alergi, kanker, HIV/AIDS, dan malnutrisi (Bratawidjaja, 2012).

Minyak Biji Jinten Hitam (MBJH) telah banyak digunakan sebagai imunomodulator dan antioksidan kuat dengan kandungan utamanya yaitu asam lemak tak jenuh, nigelon, dan timokuinon (Akrom, 2012) (Hidayati *et al.*, 2015). Sebuah penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air dari Jinten Hitam (*Nigella sativa*) secara signifikan mampu meningkatkan proliferasi splenosit, mensekresi Th2, menekan mediator proinflamasi pada Th1 (Interleukin-6, TNF, dan NO) yang diseksresikan oleh makrofag, meningkatkan aktifitas sitotoksik NK terhadap sel tumor YAC-1 (Majdalawieh *et al.*, 2010).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi lembar pengumpulan data primer dan sekunder menggunakan formulir laporan kasus, peralatan pengumpulan darah, dan seperangkat alat untuk analisis darah berupa IL-2 (plasma darah). Formulir laporan kasus digunakan untuk

mengumpulkan data demografis dan gaya hidup. Sedangkan pengukuran kadar IL-2 menggunakan *flow cytometer*. Pengukuran tanda-tanda vital, pengisian formulir laporan kasus, dan status gizi serta pengumpulan darah dilakukan di rumah warga. Pengukuran darah lengkap dilakukan di RS Nur Hidayah Bantul Yogyakarta.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *Randomized Controlled Trial (RCT)* dengan *post test with control group* yang terbagi menjadi 4 kelompok. Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol dan kelompok 2, 3, dan 4 merupakan kelompok intervensi. Keempat kelompok penelitian tersebut dilakukan pengukuran terhadap persentase ekspresi IL-2 pada hari ke 31 setelah pemberian perlakuan oleh peneliti. Sebanyak 36 relawan sehat perokok aktif dengan usia >18 tahun dibagi menjadi 4 kelompok, kelompok I diberikan plasebo 3x1 kapsul/hari, kelompok 2 diberikan MBJH dosis 3x1 kapsul/hari, kelompok 3 diberikan MBJH dosis 3x2 kapsul/hari, dan kelompok 4 diberikan MBJH dosis 3x3 kapsul/hari. 1 kapsul MBJH dan 1 kapsul plasebo dengan berat 450 mg tanpa cangkang.

Subjek penelitian dan intervensi

Penelitian dengan nomor *ethical clearance* (166/EP-FKIK-UMY/V/2019). Populasi pada penelitian ini adalah laki-laki dewasa sehat dan merupakan perokok. Populasi terjangkau meliputi relawan sehat, merupakan perokok aktif dan berada di wilayah kerja Puskesmas Jetis 1 Bantul, Yogyakarta. Teknik pengambilan sampel yang digunakan yaitu *purposive sampling*. Badan Pemeriksaan Obat dan Makanan Republik Indonesia telah mengeluarkan panduan tentang jumlah relawan yang digunakan pada uji klinis fase 1 yaitu sebanyak 20-50 sukarelawan.

Kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu laki-laki dewasa sehat, usia >18 tahun, perokok aktif, dan bersedia berpartisipasi

dalam penelitian dengan mengisi dan menandatangani *informed consent*. Subjek uji yang telah dipilih melalui kriteria inklusi akan dikeluarkan dari subjek penelitian jika subjek memiliki riwayat penyakit kronis, mengalami reaksi alergi setelah pemberian MBJH, penyakit mental, subjek uji yang tidak mengikuti penelitian sampai akhir, dan tidak bersedia hadir saat pengambilan darah pada hari ke-31. Subjek yang memenuhi syarat dibagi menjadi empat kelompok dengan pengambilan sampel acak sederhana. Subjek menerima kapsul MBJH atau plasebo dengan tiga peringkat dosis yaitu 3x1 kapsul/hari, 3x2 kapsul/hari, dan 3x3 kapsul/hari yang diberikan selama 30 hari. Evaluasi kondisi kesehatan seperti tanda-tanda vital (denyut nadi, tingkat respirasi tekanan darah, dan suhu) dan efek samping obat dilakukan setiap hari melalui *smartphone*. Setiap tiga hari, kunjungan rumah dilakukan untuk menghitung obat-obatan yang tersisa dan mengukur tanda-tanda vital.

Analisis Data

Uji yang dilakukan terhadap rata-rata persentase interleukin-2 yaitu uji normalitas dan homogenitas. Uji normalitas rata-rata interleukin-2 dilakukan dengan menggunakan *Shapiro Wilk*. Jika hasil analisis data berdistribusi normal maka bisa dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* dan jika data tidak berdistribusi normal, dapat dilakukan transformasi data dengan mengubah data menjadi log 10 (Amri A., 2009).

Jika data tetap tidak berdistribusi normal dapat dilakukan uji *Kruskal Wallis* yaitu merupakan salah satu uji non-parametrik yang tujuan dan kegunaannya hampir sama dengan uji *One Way Anova*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Karakteristik sosio - demografi responden

Karakteristik 36 responden perokok aktif yang digunakan sebagai subjek uji terdapat pada tabel I.

Tabel I. Karakteristik sosio-demografi responden yang mengonsumsi rokok di Puskesmas Jetis 1 Bantul periode September-Oktober 2019

No	Karakteristik Responden	n	Total (%)
1	Jenis Kelamin		
	Laki-laki	36	100
2	Status menikah		
	Menikah	24	66,67
	Belum menikah	12	33,3
3	Pendidikan		
	SD	4	11,1
	SMP	6	16,7
	SMA	21	58,3
	S1/S2/S3	5	13,9
4	Pekerjaan		
	PNS	1	2,8
	Swasta nasional	5	13,9
	Wiraswasta kecil	6	16,7
	Petani	1	2,8
	Buruh	17	47,2
	Lain-lain	6	16,7
5	Usia		
	Titik potong median :		
	<37 tahun	16	44,4
	≥37 tahun	20	55,6

Jenis kelamin laki-laki sebanyak (100%), sebagian besar dari responden sudah menikah (66,7%), tingkat pendidikan paling banyak adalah lulusan sekolah menengah (58,3%), pekerjaan responden didominasi oleh buruh (47,2%), usia rata-rata dari responden adalah 38,69 tahun, dengan jumlah konsumsi rokok yaitu 10,61 batang/hari.

Karakteristik perilaku merokok responden di Puskesmas Jetis 1 Bantul

Karakteristik perilaku merokok responden terdiri dari status merokok, lama merokok dan jumlah konsumsi rokok. Tabel II menggambarkan karakteristik perilaku merokok responden dalam penelitian ini.

Tabel II. Karakteristik perilaku merokok responden di Puskesmas Jetis 1 Bantul periode September-Oktober 2019

No	Perilaku merokok	n	Total (%) Rata-rata ± SD
1	Status merokok		
	Merokok	36	100
2	Lama merokok (tahun)		
	Titik potong median :		
	< 20 tahun	14	38,9
	≥ 20 tahun	22	61,1
	Rata-rata ± SD	36	20,92 ± SD%
3	Jumlah konsumsi rokok (batang/hari)		
	Titik potong median :		
	< 9 batang/hari	17	47,2
	≥ 9 batang/hari	19	52,8
	Rata-rata ± SD	36	10,62 ± SD%

Pengaruh Intervensi Minyak Biji Jinten Hitam Terhadap Persentase Ekspresi IL-2 di Puskesmas Jetis 1 Bantul

Pengaruh intervensi minyak biji jinten hitam terhadap persentase ekspresi IL-2 di Puskesmas Jetis 1 Bantul terdapat pada tabel III.

Tabel III. Hasil analisis Kruskal Wallis rata-rata interleukin-2 responden yang mengonsumsi MJBH di wilayah kerja Puskesmas Jetis 1 Bantul periode September-Oktober 2019

Kelompok	n	Rata-rata IL-2 (%)	SD	Sig (2-tailed)

Kelompok	n	Rata-rata IL-2(%)	SD	Sig (2-tailed)
Plasebo kapsul/hari (kontrol)	3x1 8	1,67	1,20	
MBJH kapsul/hari	3x1 9	3,54	2,92	
MBJH kapsul/hari	3x2 11	3,49	2,47	0,359 ^b
MBJH kapsul/hari	3x3 8	3,72	2,50	
Total	36	3,15	2,43	

1 kapsul MJBH = 450 mg MJBH tanpa cangkang
1 kapsul placebo = 450 mg placebo tanpa cangkang

^bAnalisis data menggunakan Kruskal Wallis

Nilai normal IL-2 yang dihasilkan CD4 yaitu 0,15% (Du *et al.*, 2017)

Pembahasan

Berdasarkan hasil karakteristik sosio-demografi, jenis kelamin laki-laki selain dapat mempengaruhi perilaku merokok juga dapat mempengaruhi sistem imun. Perempuan memperlihatkan harapan hidup secara signifikan lebih tinggi dibandingkan pria. Laki-laki dan perempuan mengekspos dinamika yang berbeda dalam aktivasi dan diferensiasi sel T. Penurunan sistem imun yang berlangsung secara perlahan akibat penuaan (imunosenensi) terjadi lebih cepat pada laki-laki (Kverneland *et al.*, 2016). Sistem imun menurun pada laki-laki tersebut sangat dipengaruhi oleh kondisi merokok. Rokok diketahui mengandung senyawa yang bersifat imunotoksik dan immunosupresif (nikotin, tar dan *Dymethylbenz(α) Anthracene* (DMBA)). Paparan berulang zat tersebut sebagai inhibitor proses aktivasi sel T dan proses eritropoiesis pada sumsum tulang sehingga terjadi penurunan sistem imun yang lebih cepat pada laki-laki (Hidayati *et al.*, 2015) (Arimilli *et al.*, 2019).

Status menikah

Studi yang dilakukan Cheah *dkk.* (2012), berbeda dengan hasil penelitian ini, dimana, mereka yang menikah justru

menurunkan peluang untuk merokok secara bermakna dibandingkan pada mereka yang belum menikah (OR=0,85; $p < 0,01$). Laki-laki yang telah menikah akan mempunyai kemampuan finansial yang baik, dan mendapat dukungan sosial dan psikologis dari pasangan hidupnya sehingga menurunkan tingkat stress sebagai predisposisi perilaku seseorang untuk merokok dibandingkan pada mereka yang belum menikah (Cheah & Naidu, 2012).

Tingkat pendidikan

Laki-laki dengan tingkat pendidikan rendah memiliki peluang yang lebih tinggi untuk berperilaku merokok dibandingkan laki-laki dengan tingkat pendidikan yang tinggi. Perilaku merokok sangat dipengaruhi oleh tingkat pendidikan. Tingkat pendidikan tinggi yang dimiliki akan membantu responden dalam memahami informasi kesehatan terkait penyakit akibat perilaku merokok sehingga pengetahuannya menjadi baik atau tinggi mengenai bahaya rokok.

Responden pada penelitian ini didominasi oleh relawan sehat dengan pendidikan terakhir SMA yaitu sebanyak 21 orang. Proporsi ini mungkin berbeda dengan beberapa penelitian yang memang berfokus pada analisis hubungan antara tingkat pendidikan dengan perilaku merokok, karena pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan secara acak di wilayah kerja Puskesmas Jetis I Bantul tanpa melihat kriteria pendidikan sebagai dasar pengambilan sampel. Faktor-faktor lain yang menyebabkan seseorang merokok yaitu status ekonomi, status pernikahan, pergaulan, lingkungan dan lain-lain.

Pekerjaan

Distribusi responden yang paling banyak dengan perilaku merokok adalah responden dengan pekerjaan buruh yaitu sebanyak 47,2% (17 orang dari 36 total responden). Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian Astuti (2018), mengungkapkan responden perokok aktif

menghisap kurang dari 10 batang setiap harinya dimana sebagian besar mereka adalah petani dan buruh (72,2%) (208 responden), mereka merokok untuk melepas lelah pada saat istirahat dari kesibukannya sehari-hari (Astuti, 2019).

Usia

Usia pada penelitian ini dikelompokkan menjadi 2 berdasarkan *cut off point median* yaitu 18 tahun merupakan kelompok umur produktif, dimana masyarakat yang berada dalam kelompok tersebut akan memiliki tingkat mobilitas yang tinggi sehingga meningkatkan paparan lingkungan sosial maupun tempat kerja yang mempengaruhi dalam pengambilan keputusan untuk berperilaku merokok. Upaya pencegahan perilaku merokok sejak dini terutama pada remaja melalui promosi kesehatan yang bersifat kontinyu untuk mencegah munculnya perokok pemula. Penyebabnya adalah karena semakin tua, maka risiko untuk terpapar perilaku merokok akan semakin tinggi serta semakin sulit untuk berhenti merokok (Hutasoit *et al.*, 2022).

Analisis deskriptif karakteristik perilaku merokok responden di Puskesmas Jetis 1 Bantul

Merokok berarti menghisap rokok dan asap rokok secara langsung. Seseorang yang merokok berarti dengan sengaja memberikan kesempatan senyawa berbahaya masuk ke dalam tubuh. Senyawa berbahaya tersebut memiliki berbagai macam sifat di antaranya yaitu *carcinogenic*, *hematotoxic*, *immunotoxic*, dan *immunosuppressive*. Nikotin dan tar terbukti *immunosuppressive* dengan mempengaruhi respon imun bawaan dari inang. Asap rokok yang dihembuskan oleh perokok aktif dan terhisap oleh perokok pasif, lima kali lebih banyak mengandung karbon monoksida, empat kali lebih banyak mengandung tar dan nikotin (Bustan, 2000).

Karakteristik perilaku merokok responden terdiri dari status merokok, lama merokok dan jumlah konsumsi rokok.

Status merokok

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui gambaran dari jumlah limfosit dan ekspresi IL-2 pada perokok aktif, sehingga semua responden yang digunakan pada penelitian ini yaitu perokok aktif. Merokok dapat mempengaruhi sistem imun adaptif maupun bawaan. Sel-sel imun adaptif yang dipengaruhi oleh merokok terutama sel T-helper (Th1/Th2/Th17) termasuk peningkatan IL-2, CD4+, CD25+, sel T regulator, sel T CD8+, sel B dan sel memori limfosit T/B, sementara sel imun bawaan yang dipengaruhi oleh rokok sebagian besar adalah *Dendritic Cell*. Jalur molekuler yang dipengaruhi oleh rokok melibatkan jalur NFκB, MAP, modifikasi kinase dan histon (Qiu *et al.*, 2017).

Lama merokok

Lama merokok pada penelitian ini dikelompokkan menjadi 2 berdasarkan *cut off point median* yaitu <20 tahun dan >20 tahun. Rata-rata lama merokok pada penelitian ini yaitu 20,92 tahun. Rata-rata tersebut merupakan angka yang cukup lama terpapar asap rokok. Lama merokok dihitung mulai dari seseorang merokok secara rutin setiap hari sampai pengambilan data penelitian. Semakin lama seseorang merokok maka semakin banyak pula paparan dari senyawa asap rokok yang bersifat *immunosuppressive* dan menyebabkan penurunan sistem imun.

Jumlah konsumsi rokok

Jumlah konsumsi rokok pada penelitian ini dikelompokkan menjadi 2 berdasarkan *cut off point median* yaitu <9 batang/hari dan ≥9 batang/hari. Rata-rata jumlah konsumsi rokok responden yaitu 10,61 atau 11 batang/hari. Menurut WHO (2017), seseorang dengan konsumsi rokok 11-20 batang/hari tergolong dalam kategori perokok sedang. Jumlah konsumsi rokok

pada umumnya berkaitan dengan paparan berulang zat berbahaya dari rokok, semakin banyak jumlah konsumsi rokok, maka semakin banyak pula paparan dari nikotin dan tar (World Health Organization, 2017).

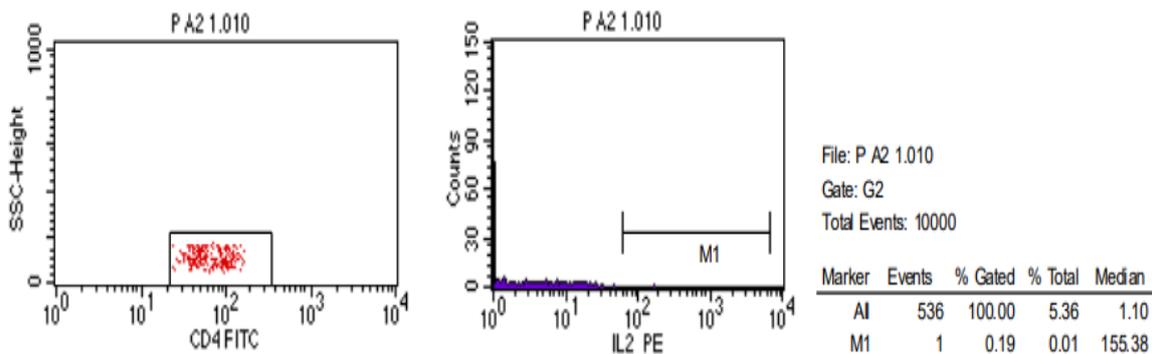
Pengaruh Intervensi Minyak Biji Jinten Hitam Terhadap Persentase Ekspresi IL-2 di Puskesmas Jetis 1 Bantul

Uji yang dilakukan terhadap rata-rata persentase interleukin-2 yaitu uji normalitas dan homogenitas. Uji normalitas rata-rata interleukin-2 dilakukan dengan menggunakan *Shapiro Wilk* menunjukkan nilai p pada kelompok placebo yaitu 0,566, nilai p pada kelompok MBJH 3x1 yaitu 0,029, nilai p pada kelompok MBJH 3x2 yaitu 0,351, dan nilai p pada kelompok MBJH 3x3 yaitu 0,702. Berdasarkan hasil uji normalitas tersebut data yang dimiliki dapat dikatakan tidak berdistribusi normal karena nilai $p < 0,05$ pada kelompok MBJH 3x1. Uji homogenitas menunjukkan nilai p sebesar 0,012, artinya variansi data yang dimiliki adalah tidak sama.

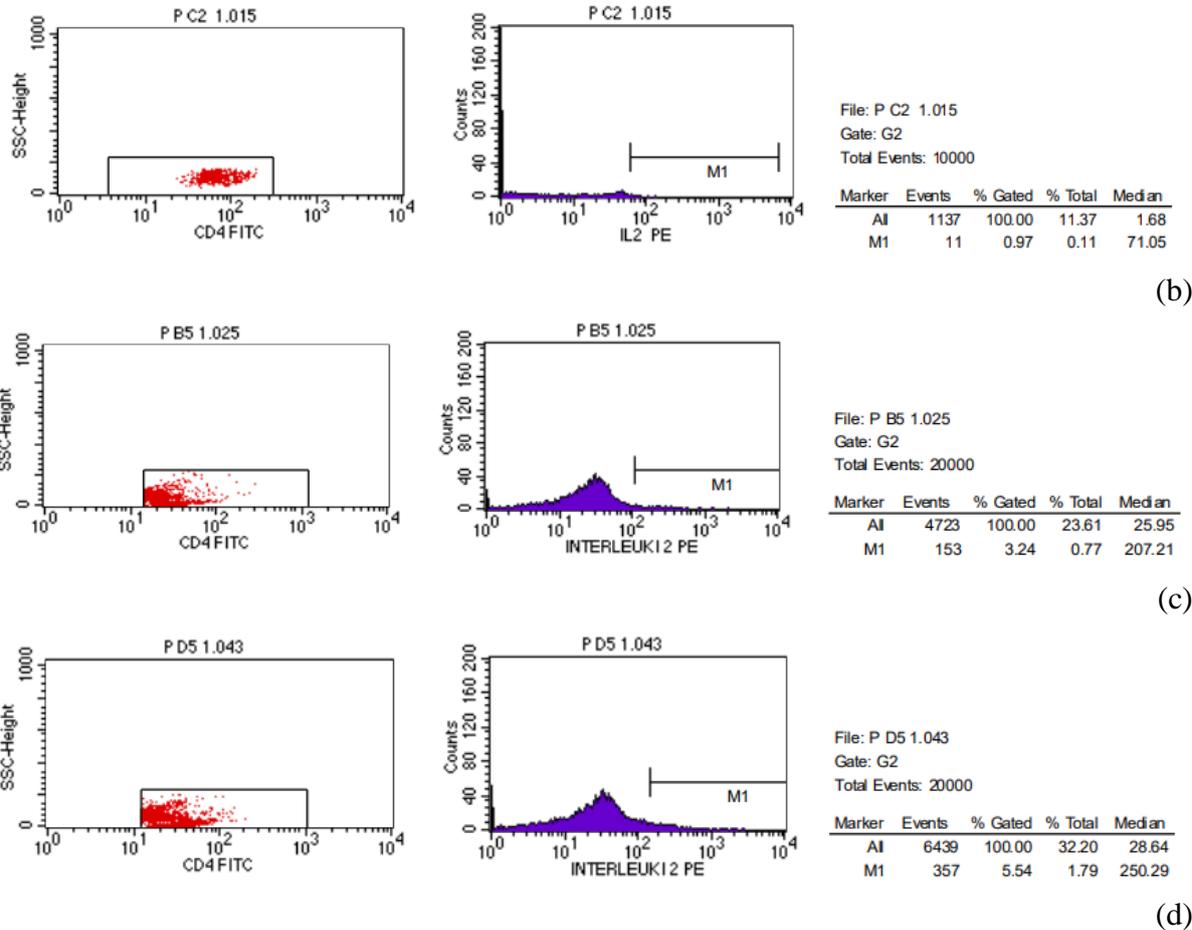
Data IL-2 yang dimiliki dapat dikatakan tidak berdistribusi normal dan tidak homogen. Ada beberapa hal yang dapat dilakukan terhadap data tersebut di antaranya yaitu transformasi data. Tujuan

dari transformasi data adalah mengubah skala pengukuran data menjadi bentuk lain agar memenuhi asumsi analisis (Amri A., 2009). Pada uji ini dilakukan transformasi ke dalam bentuk log 10, tetapi data menunjukkan hasil yang hampir normal, nilai p pada kelompok placebo yaitu 0,499, nilai p pada kelompok MBJH 3x1 yaitu 0,048, nilai p pada kelompok MBJH 3x2 yaitu 0,228, dan nilai p pada kelompok MBJH 3x3 yaitu 0,377. Uji homogenitas dari transformasi data menunjukkan nilai p sebesar 0,540, artinya variansi data yang dimiliki adalah sama.

Uji normalitas dari transformasi data masih menunjukkan data yang tidak berdistribusi normal, sehingga dapat dikatakan uji tersebut belum memenuhi asumsi. Uji yang digunakan yaitu uji Kruskal Wallis merupakan salah satu uji non-parametrik yang tujuan dan kegunaannya hampir sama dengan uji One Way Anova. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan nilai p sebesar 0,359 dimana angka tersebut lebih besar dari 0,05, artinya antara kelompok 1, 2, 3 dan 4 tidak terdapat perbedaan bermakna secara statistik. Pemberian MBJH dosis bertingkat tidak mempengaruhi persentase interleukin-2 pada perokok secara signifikan.



(a)



Gambar 1. Gambaran persentase ekspresi IL-2 pada perokok aktif yang dianalisa dengan flow cytometer

Keterangan : (a) ekspresi IL-2 pada kelompok kontrol yang diberikan plasebo 3x1 kapsul/hari
 (b) ekspresi IL-2 pada kelompok perlakuan yang diberikan MBJH 3x1 kapsul/hari
 (c) ekspresi IL-2 pada kelompok perlakuan yang diberikan MBJH 3x2 kapsul/hari
 (d) ekspresi IL-2 pada kelompok perlakuan yang diberikan MBJH 3x3 kapsul/hari

Metode analisis ekspresi IL-2 limfosit yang digunakan yaitu *flow cytometry*. *Flow cytometry* merupakan suatu teknik yang digunakan untuk menganalisis jenis-jenis sel yang terdapat pada suatu populasi sel. Sel dilabel fluoresen, dilewatkan celah sempit, dan ditembak sinar (Fitriasari, 2009). Sampel darah yang digunakan yaitu darah+EDTA kemudian dilakukan preparasi sampel. Dalam sampel darah tersebut terdapat sel darah merah dan sel darah putih, sehingga diperlukan reagen CD4+ untuk melisiskan sel darah putih dan memfiksasi sel darah putih yang

akan dianalisis. Tujuan dari analisis ini yaitu untuk mengetahui jumlah IL-2 yang diekspresikan atau dihasilkan oleh sel CD4+.

Gambar 1 menggambarkan hasil pembacaan dari populasi sel yang menghasilkan IL-2 yang dianalisis dengan *flow cytometer*. Gambar 1 (a) menunjukkan peak dan konsentrasi dari IL-2 yang diekspresikan oleh CD4+ pada kelompok yang diberikan placebo; gambar 1 (b, c dan d) menunjukkan peak dan konsentrasi dari IL-2 yang diekspresikan oleh CD4+ pada kelompok yang diberikan MBJH 3x1

kapsul/hari; 3x2 kapsul/hari; 3x3 kapsul/hari. Berdasarkan peak tersebut dapat dilihat pada kelompok kontrol memiliki peak yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok intervensi. Peak meningkat seiring dengan meningkatnya dosis MBJH yang diberikan begitu juga dengan konsentrasi dari IL-2 yang dihasilkan CD4+. Pembacaan IL-2 yang diekspresikan yaitu dengan melihat % gated_M1 pada setiap pemeriksaan. % gated_M1 pada kelompok 1, 2, 3, dan 4 secara berturut-turut yaitu 0,19%; 0,97%; 3,24% dan 5,54%, sehingga dapat dikatakan MBJH mampu meningkatkan ekspresi IL-2.

Kandungan asap rokok seperti nikotin dan tar sangat bersifat *immunotoxic* dan *immunosuppressive* yang dapat menyebabkan perubahan imunologi secara signifikan. MBJH mampu menekan ekspresi IL-2 pada *Pheripheral Blood Mononuclear Cell* (PBMC) dengan mekanisme mengurangi pensinyalan dalam aktivasi sel T yang dimediasi oleh antigen. MBJH juga dapat menekan proses fagositosis neutrofil, mempengaruhi aktivitas kemotaksis, kinesis, dan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Arimilli et al., 2019). Peningkatan IL-2 banyak dikaitkan dengan aktivasi-aktivasi sel lainnya. IL-2 juga membantu T helper dalam mengekspresikan CD4+ yang kemudian akan berdiferensiasi menjadi Th0, Th1, Th2, dan Th17, selain itu IL-2 juga membantu sel T sitotoksik dalam mengekspresikan CD8+ yang akan berdiferensiasi menjadi sel T memori dan sel T efektor (Suega, 2006).

SIMPULAN

Pengaruh pemberian Minyak Biji Jintan Hitam (MBJH) terhadap persentase ekspresi IL-2 tidak berbeda bermakna secara statistik tetapi pada rata-rata ekspresi IL-2 menunjukkan adanya peningkatan pada kelompok kontrol yang diberikan placebo.

DAFTAR PUSTAKA

- Akrom. (2012). *Mekanisme kemopreventif ekstrak heksan biji jintan hitam (Nigella sativa Lor) Pada Tikus Sprague Dawley Diinduksi 7,12 Dimethylbenz(A)Antracene: kajian antioksidan dan imunomodulator*. Universitas Gadjah Mada.
- Amri A., J. Y. (2009). *Metodologi Penelitian Ekonomi dan Penerapannya*. IPB Press.
- Arimilli, S., Makena, P., Liu, G., & Prasad, G. L. (2019). Distinct gene expression changes in human peripheral blood mononuclear cells treated with different tobacco product preparations. *Toxicology in Vitro*, 57, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2019.02.012>
- Astuti, N. H. (2019). Perilaku Merokok Remaja Laki-laki Siswa SMP Swasta di Depok. *ARKESMAS (Arsip Kesehatan Masyarakat)*, 3(2), 83–94. <https://doi.org/10.22236/arkesmas.v3i2.2956>
- Bratawidjaja, K. G. , I. R. (2012). *Imunologi Dasar*. Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Bustan, M. N. (2000). *Epidemiologi Penyakit Tidak Menular*. PT Rineka Cipta.
- Cheah, Y. K., & Naidu, B. M. (2012). Exploring Factors Influencing Smoking Behaviour in Malaysia. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(4), 1125–1130. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2012.13.4.1125>
- Fitriasari, A. (2009). *Prosedur tetap preparasi sampel untuk flow cytometry*. UGM.
- Hidayati, T., Habib, I., & Akrom, A. (2015). Antiimmunotoxic of Black Cumin Seed Oil (*Nigella sativa*

- Oil) in DMBA (Dimethylbenzanthracene)-Induced Mice. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*.
<https://doi.org/10.18178/ijpmbs.4.3.171-174>
- Hutasoit, D. N., Sinaga, J. N. P., Natalois, M., Manurung, E. I., & Surbakti, J. F. (2022). Hubungan Tingkat Pengetahuan Dengan Perilaku Pada Perokok Aktif Di Desa Bonan Dolok Kabupaten Humbang Hasundutan [The Relationship Between Knowledge Level And Smoking Behavior Among Active Smokers In Bonan Dolok Village, Humbang Hasundutan District]. *Nursing Current: Jurnal Keperawatan*, 10(2).
<https://doi.org/10.19166/nc.v10i2.6008>
- Kverneland, A. H., Streit, M., Geissler, E., Hutchinson, J., Vogt, K., Boës, D., Niemann, N., Pedersen, A. E., Schlickeiser, S., & Sawitzki, B. (2016). Age and gender leucocytes variances and references values generated using the standardized ONE-Study protocol. *Cytometry Part A*, 89(6), 543–564.
<https://doi.org/10.1002/cyto.a.22855>
- Majdalawieh, A. F., Hmaidan, R., & Carr, R. I. (2010). Nigella sativa modulates splenocyte proliferation, Th1/Th2 cytokine profile, macrophage function and NK anti-tumor activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 131(2), 268–275.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.06.030>
- Qiu, F., Liang, C.-L., Liu, H., Zeng, Y.-Q., Hou, S., Huang, S., Lai, X., & Dai, Z. (2017). Impacts of cigarette smoking on immune responsiveness: Up and down or upside down? *Oncotarget*, 8(1), 268–284.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.13613>
- Suega, K. (2006). Hubungan besi dan produksi sitokin. *Jurnal Penyakit Dalam*, 8(2), 152–156.
- Vu, A. T., Taylor, K. M., Holman, M. R., Ding, Y. S., Hearn, B., & Watson, C. H. (2015). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Mainstream Smoke of Popular U.S. Cigarettes. *Chemical Research in Toxicology*, 28(8), 1616–1626.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.5b00190>
- World Health Organization. (2017, November 22). *Tobacco factsheets: leading cause of death, illness and impoverishment*. [Http://Www.Who.Int/Mediacentre/Factsheets/Fs339/En/](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs339/en/)