 DOI : 10.35311/jmpi.v11i2.944

Potensi Imunomodulator Fraksi Etil Asetat Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap Aktivasi Limfosit T dan Produksi IgG pada Model Tikus

Zam Zam Zainatul Jannah, Deslia Putri Nurhakim, Salsa Billa Ananda, Nina Nurjanah, Felly Olivia Setya Putri*, La Ode Muhammad Anwar, Salma Hilmy Rusydi Hashim, Marselina Marselina, Nuzul Gyanata Adiwisastra

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Medika Suherman

Sitasi: Jannah, Z. Z. Z., Nurhakim, D. P., Ananda, S. B., Nurjanah, N., Putri, F. O. S., Anwar, L. O. M., Hashim, S. H. R., Marselina, M., & Adiwisastra, N. G. (2025). Potensi Imunomodulator Fraksi Etil Asetat Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap Aktivasi Limfosit T dan Produksi IgG pada Model Tikus. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 11(2), 494–505.
<https://doi.org/10.35311/jmpi.v11i2.944>

Submitted: 29 Agustus 2025

Accepted: 16 Desember 2025

Published: 25 Desember 2025

*Penulis Korespondensi:
Felly Olivia Setya Putri
Email: fellyfell112@gmail.com



Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

ABSTRAK

Biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) merupakan tanaman herbal yang dikenal memiliki aktivitas sebagai imunomodulator, khususnya dalam meningkatkan fungsi sel imun dan produksi antibodi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbedaan aktivitas fraksi etil asetat biji jintan hitam pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20% terhadap sel limfosit T (CD4⁺ dan CD8⁺) serta kadar imunoglobulin G (IgG). Metode pada penelitian ini merupakan metode kuantitatif dengan desain eksperimental dilakukan secara *in vivo* menggunakan 18 ekor tikus jantan yang dibagi 6 kelompok dengan 3 kelompok uji dan 3 kelompok kontrol. Analisis senyawa dilakukan dengan GC-MS, nilai sel limfosit T diukur dengan *Flow Cytometry*, sedangkan nilai imunoglobulin G (IgG) diukur menggunakan *ELISA Reader*. Hasil penelitian bahwa fraksi etil asetat biji jintan hitam mengandung 79 senyawa metabolit. Nilai sel limfosit T (CD4⁺ dan CD8⁺) menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan, akan tetapi kelompok 3 fraksi etil asetat konsentrasi 20% memiliki aktivitas tertinggi dengan nilai sebesar 97,06%. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji statistik *One-Way ANOVA*. Hasil penelitian nilai imunoglobulin G (IgG) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan nilai sig. <0.05 dan aktivitas tertinggi serta fraksi yang paling baik terdapat pada kelompok 3 fraksi etil asetat konsentrasi 20% sebesar ±278,740 ng/mL. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat jintan hitam konsentrasi 20% berpotensi sebagai imunomodulator yang aman, serta dapat membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh, khususnya pada kondisi penurunan fungsi imun. Temuan ini menambah pengetahuan tentang potensi jintan hitam sebagai imunomodulator dan dapat menjadi dasar untuk penelitian selanjutnya guna mengetahui senyawa aktif serta cara kerjanya lebih jelas.

Kata Kunci: Jintan Hitam, Limfosit T, Imunoglobulin

ABSTRACT

Black cumin seeds (*Nigella sativa* L.) are herbs known to have immunomodulatory activity, particularly in enhancing immune cell function and antibody production. The objective of this study was to determine the differences in the activity of ethyl acetate fractions of black cumin seeds at concentrations of 10%, 15%, and 20% on T lymphocytes (CD4⁺ and CD8⁺) and immunoglobulin G (IgG) levels. The method used in this study was quantitative with an experimental design conducted *in vivo* using 18 male *Rattus norvegicus* divided into 6 groups with 3 test groups and 3 control groups. Compound analysis was performed using GC-MS, and T lymphocyte values were measured using flow cytometry, while immunoglobulin G (IgG) values were measured using an ELISA reader. The results showed that the ethyl acetate fraction of black cumin seeds contained 79 metabolite compounds. T lymphocyte (CD4⁺ and CD8⁺) cell counts showed no significant difference, with a Sig. value >0.05; however, group 3, which received a 20% ethyl acetate fraction, had the highest activity with a value of 97.06%. The research data were analyzed using the *One-Way ANOVA* statistical test. The results of the immunoglobulin G (IgG) study showed a significant difference with a Sig. < 0.05, and the highest activity and best fraction were found in group 3, the 20% ethyl acetate fraction, at ±278.740 ng/mL. This indicates that the 20% ethyl acetate fraction of black cumin has the potential to be a safe immunomodulator and can help boost the immune system, especially in conditions of decreased immune function. These findings increase knowledge about the potential of black cumin as an immunomodulator and can be a basis for further research to find out the active compound and how it works more clearly.

Keywords: Black Cumin, T Lymphocytes, Immunoglobulin

PENDAHULUAN

Gangguan sistem imun merupakan kondisi ketika respons imun merusak jaringan tubuh sendiri, menimbulkan peradangan, dan mengganggu fungsi organ. (Gunawati et al., 2020). Salah satu penyakit yang disebabkan oleh penurunan sistem imun adalah hepatitis. Hepatitis adalah kondisi peradangan pada hati yang salah satunya dapat disebabkan oleh infeksi virus (hepatitis A, B, C, D, dan E), autoimun, alkohol, obat-obatan, bakteri atau parasit. Di Indonesia penyakit hepatitis, khususnya hepatitis B masih menjadi masalah kesehatan masyarakat yang serius. Menurut WHO (2024) Indonesia memiliki prevalensi Hepatitis B sebesar 7,1%, menempatkannya di antara 10 negara dengan beban tertinggi. Tanpa tindakan efektif, kasus hepatitis diperkirakan akan terus meningkat, memberikan beban tambahan pada sistem kesehatan (Lestari, 2024).

Terdapat dua jenis utama terapi hepatitis yang umum digunakan, yaitu golongan nukleosida/nukleotida dan interferon. Namun, keduanya memiliki keterbatasan berupa tingginya efek samping serta efikasi yang tidak optimal. Selain itu, penggunaan jangka panjang obat analog nukleosida berpotensi menimbulkan resistensi akibat munculnya mutasi virus (Maula & Imam, 2020). Oleh karena itu, diperlukan pengobatan tambahan atau alternatif lain yang lebih aman, efektif, dan rentan terjadinya efek samping (Kesavelu & Jog, 2023).

Pengobatan alternatif lain salah satunya dengan penggunaan agen imunomodulator untuk meningkatkan sistem imun. Imunomodulator dari bahan alami, seperti tanaman herbal dapat digunakan untuk menjaga kesehatan tubuh, mencegah, serta membantu pemulihan dari penyakit (Gunawati et al., 2020). Pengobatan herbal berkembang sebagai obat sejak 2000–3000 SM, salah satunya yaitu tanaman biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang telah lama dikenal memiliki potensi sebagai imunomodulator (Brinzky F.Y., Marsetyawan HNE. S., 2020).

Biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) diketahui mampu meningkatkan respons imun tubuh. Berdasarkan penelitian sebelumnya, peran jintan hitam terhadap respon imun yang menunjukkan adanya efek imunomodulasi, namun penelitian tersebut tidak meneliti peran spesifik sel T, seperti CD4⁺ dan CD8⁺ (Brinzky F.Y., Marsetyawan HNE. S., 2020). Penelitian (Saputra et al., 2023) yang membuktikan kemampuannya meningkatkan sistem imun, tetapi fokusnya terbatas pada pasien kanker dan tidak mengkaji respon sel T secara spesifik. Sementara itu, penelitian (Gunawati et al., 2020)

meneliti efek ekstrak etanol jintan hitam terhadap peningkatan aktivitas makrofag pada tikus putih (*Rattus norvegicus*), yang menunjukkan peran penting jintan hitam dalam merangsang fagositosis, namun belum mengeksplorasi mekanisme yang melibatkan sel T seperti CD4⁺ dan CD8⁺. Perbedaan fokus penelitian tersebut mengindikasikan adanya peluang untuk meneliti lebih lanjut aktivitas fraksi biji jintan hitam terhadap sel T limfosit serta kadar imunoglobulin G (IgG). Hal ini menunjukkan potensi biji jintan hitam tidak hanya dalam meningkatkan aktivitas makrofag, tetapi juga dapat memberikan efek terhadap komponen sistem imun lainnya seperti sel limfosit T (CD4⁺ dan CD8⁺) yang berperan dalam pengenalan antigen, serta imunoglobulin G (IgG) yang bertindak sebagai opsonin dalam imunitas seluler.

Berdasarkan uraian tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk melakukan pengujian fraksi etil asetat biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) sebagai immunomodulator, khususnya terhadap sel limfosit T (CD4⁺ dan CD8⁺) serta imunoglobulin G (IgG) pada konsentrasi 10%, 15% dan 20%, sehingga dapat dikembangkan sebagai pengobatan yang potensial dan aman untuk mendukung pengobatan penyakit yang berkaitan dengan gangguan sistem imun seperti hepatitis.

Keterbaruan pada penelitian ini dibandingkan studi sebelumnya tidak hanya mengevaluasi aktivitas immunomodulator dari ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.), tetapi secara spesifik pengaruh fraksi etil asetat terhadap parameter imun peningkatan sel limfosit T CD4⁺ dan CD8⁺ serta kadar imunoglobulin G (IgG) secara *in vivo* pada model hewan uji. Sedangkan pada penelitian sebelumnya oleh (Brinzky F.Y., Marsetyawan HNE. S., 2020) hanya meneliti potensi jintan hitam sebagai immunomodulator tanpa mengkaji dampaknya terhadap sel limfosit T, dan studi oleh (Saputra et al., 2023) terbatas pada penggunaannya sebagai agen pendamping kemoterapi.

Imunomodulator adalah senyawa yang dapat mempengaruhi sistem imun, baik sebagai immunostimulan maupun immunosupresan. Jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dikenal memiliki aktivitas immunomodulator melalui kandungan bioaktif seperti *thymoquinone* yang mampu meningkatkan kadar IgG dan aktivasi sel limfosit T (CD4⁺ dan CD8⁺). Sel T berperan penting dalam respon imun seluler, sedangkan IgG merupakan antibodi utama dalam serum yang membantu melawan infeksi. Virus hepatitis B menyerang hati dan dapat dicegah melalui vaksinasi. Evaluasi aktivitas imun dapat

dilakukan menggunakan *ELISA Reader* untuk mengukur kadar IgG dan *Flow Cytometry* untuk analisis profil limfosit secara spesifik dan kuantitatif.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan adalah *alcohol swab*, aluminium foil, batang pengaduk, *beaker glass*, *blender*, bunsen, cawan porselin, corong kaca, *ELISA Reader*, *erlenmeyer*, *Flow Cytometry*, GC-MS, gelas ukur, hot plate, kapas, kertas saring, lemari pendingin, micropipet, pinset, pipa kapiler, pipet tetes, rak tabung reaksi, *rotary evaporator*, sendok tanduk, *spread glass*, tabung EDTA, dan toples kaca.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi etanol, etil asetat, ELISA kit IgG (BT LAB), hewan percobaan (tikus), dan jintan hitam (*Nigella sativa* L.), stimulo produksi *DexaMedica* dan vaksin Hepatitis B produksi biofarma.

Determinasi Tanaman Jintan Hitam

Determinasi dilakukan di PT. Palapa Muda Perkasa (PMP) di daerah Depok, Jawa Barat.

Ekstraksi Biji Jintan Hitam

Proses ekstraksi mengacu pada penelitian (Astika & Muflihah, 2023) menggunakan metode maserasi yang telah dimodifikasi. Simplisia biji jintan hitam ditimbang sebanyak 1.300 gram dan dihaluskan dengan *blender* hingga berbentuk serbuk dengan berat sebesar 1.230 gram. Setelah itu, direndam dengan etanol 96% sebanyak 2 liter dan diekstraksi selama 2 hari, lalu disaring menggunakan kertas saring.

% Rendemen =

$$\frac{\text{Bobot Ekstrak Kental (gram)}}{\text{Bobot Simplisia Awal (gram)}} \times 100 \% \text{ (Cahyani et al., 2024).}$$

Fraksinasi

Fraksinasi biji jintan hitam pada penelitian (Armi et al., 2023) yang telah dimodifikasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan tiga pelarut, yaitu n-heksana, etil asetat, dan etanol. Sebanyak 10 gram ekstrak biji jintan hitam dilarutkan dalam 50 ml etanol, selanjutnya ditambahkan 50 ml n-heksana ke dalam corong pisah, lalu campuran dikocok selama ± 5 menit dengan sesekali membuka kran untuk melepaskan tekanan, lalu didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Fase atas (n-heksana) dipisahkan dan disimpan, sedangkan fase bawah (etanol) digunakan kembali. Proses dengan n-heksana diulang tiga kali untuk memperoleh hasil optimal.

Selanjutnya, fase etanol yang tersisa diekstraksi kembali dengan 50 ml etil asetat menggunakan prosedur yang sama. Ketika etil asetat ditambahkan ke larutan etanol yang mengandung

air, sistem berubah menjadi dua fase karena etil asetat memiliki kelarutan yang terbatas dalam air, sehingga etil asetat akan membentuk fase organik, sedangkan air dan sisa etanol membentuk fase akuatik.

Fenomena pemisahan fase ini telah ditunjukkan dalam studi termodinamika modern yang mengevaluasi sistem pelarut yang mengandung etanol-etil asetat-air, di mana pemisahan fase ini terjadi pada rentang komposisi tertentu. Dengan demikian, prosedur ekstraksi kembali fase etanol-air menggunakan etil asetat bersifat valid secara ilmiah karena senyawa semi-polar dan kurang polar seperti fenolik, ester aktif, dan *thymoquinone* akan cenderung masuk ke dalam fase etil asetat, sementara senyawa polar tetap berada dalam fase etanol-air. Fase atas (etil asetat) dan Fase bawah (etanol) ditempatkan pada wadah berbeda lalu dipisahkan fase atas (etil asetat) dan simpan.

Lakukan proses ini sebanyak 3 kali untuk hasil maksimal. Setelah ekstraksi dengan n-heksana dan etil asetat selesai, sisa larutan etanol mengandung senyawa polar. Setiap fraksi (n-heksana, etil asetat, dan etanol) kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu bath yang disesuaikan dengan masing-masing pelarut. Suhu bath pelarut n-heksana 45-50°C dengan tekanan vakum 400-500 mbar, etil asetat suhu bath 50-60°C dengan tekanan vakum 200-300 mbar, dan etanol suhu bath 50-60°C dengan tekanan vakum 200-300 mbar. Lalu diuapkan kembali dengan *hot plate* bersuhu rendah sampai diperoleh ekstrak kental. Rendemen fraksi total = rendemen ekstraksi \times rendemen fraksi

Pengujian Profil Senyawa

Analisis profil senyawa menggunakan GC-MS merek *Shimadzu* dengan tipe QP2020NX with PY-3030D menganalisis fraksi dari biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang mengacu pada penelitian (Brestoff, 2023) yang berperan penting dalam identifikasi komponen tanaman yang belum diketahui. Pada penelitian ini, biji jintan hitam digunakan untuk menganalisis berbagai senyawa dengan tahapan sebagai berikut: sampel fraksi biji jintan hitam disiapkan dalam tiga vial, masing-masing berisi 10 gram.

Sampel diinjeksi ke dalam GC-MS menggunakan kolom kapiler Agilent 19091S-433 HP-5MS 5% *Phenyl Methyl Siloxane* dengan panjang 30 m, diameter 250 μm , dan ketebalan 0,25 μm . Kondisi oven diatur pada suhu 100–220 °C dengan laju kenaikan 15 °C/menit, sementara gas pembawa helium dialirkan dengan kecepatan 1,0 ml/menit pada tekanan 10,5 psi, total *flow* 140 ml/menit, dan

split ratio 1:50. Senyawa yang terelusi dideteksi menggunakan detektor massa, kemudian spektrum yang diperoleh dibandingkan dengan *database* NIST untuk mengidentifikasi senyawa, sehingga informasi mengenai komponen kimia yang relevan dapat diperoleh dari analisis GC-MS.

Pengelompokan Hewan Uji

Penelitian ini melibatkan 18 ekor tikus yang dibagi menjadi 6 kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Jumlah ini merupakan jumlah minimal yang masih sering digunakan pada penelitian pendahuluan (*preliminary study*). Namun demikian, ukuran sampel $n=3$ memang belum memberikan kekuatan statistik (*statistical power*) yang optimal. Oleh karena itu, pada penelitian lanjutan disarankan untuk meningkatkan jumlah hewan uji menjadi minimal $n=5-6$ per kelompok agar variabilitas biologis dapat terwakili dengan baik dan hasil analisis statistik menjadi lebih valid serta reliabel.

Justifikasi ukuran sampel 3 ekor tikus per kelompok dalam penelitian *in vivo* farmakologi didasarkan pada prinsip etika, praktik umum, dan karakteristik hasil yang diukur. Pada prinsip *Reduction* menekankan pentingnya menggunakan jumlah hewan coba sesedikit mungkin namun tetap memadai secara ilmiah untuk mendapatkan hasil yang valid. Di mana masing-masing kelompok yaitu: Kelompok I menggunakan tikus berat badan 130 gram (ekstrak 10% + vaksin hepatitis B), kelompok II menggunakan tikus berat badan 140 gram (ekstrak 15% + vaksin hepatitis B), kelompok III menggunakan tikus berat badan 150 gram (ekstrak 20% + vaksin hepatitis B), kelompok IV menggunakan tikus berat badan 150 gram (Ekstrak 20% + Tanpa Vaksin Hepatitis B), kelompok V menggunakan tikus berat badan 150 gram (Tanpa Ekstrak + Vaksin Hepatitis B) dan kelompok VI menggunakan tikus berat badan 150 gram (obat paten stimuno + vaksin hepatitis B).

Pada kelompok I, II, dan III sebagai kelompok uji. Kelompok IV adalah kelompok plasebo yang menerima perlakuan menggunakan ekstrak 20% saja. Sedangkan kelompok V adalah kelompok kontrol negatif yang tidak menerima perlakuan ekstrak. Dan pada kelompok VI adalah kelompok kontrol positif yang diberikan perlakuan standar berupa obat paten (*stimuno*). Dosis *Stimuno* pada penelitian ini ditentukan melalui konversi dosis anak ke dosis tikus menggunakan faktor koreksi (K_m). Berdasarkan dosis anak 2,08 mg/kgBB dan rasio K_m anak-tikus (24/3), diperoleh dosis tikus 16,64 mg/kgBB.

Pada tikus dengan berat 150 g, dosis tersebut setara dengan 2,496 mg atau 0,4 mL *Stimuno*, sesuai konsentrasi sediaan (25 mg/5 mL). Dosis ini dipilih untuk memastikan kesetaraan farmakologis dan keamanan sehingga efek imunomodulator yang dihasilkan relevan secara ilmiah. Vaksin hepatitis B digunakan sebagai antigen standar untuk memicu respon imun, sehingga efek imunomodulator ekstrak dapat dibandingkan dengan kontrol negatif dan positif secara terukur dan valid.

Pemberian Imunomodulator Fraksi Etil Asetat pada Hewan Uji

Pemberian perlakuan imunomodulator pada hewan uji dilakukan dengan menggunakan fraksi etil asetat pada kelompok konsentrasi 10%, 15%, dan 20%, dengan atau tanpa kombinasi vaksin hepatitis B. Perhitungan dosis. Ekstrak diberikan secara oral selama 2 minggu, kemudian dihentikan sementara selama 2 hari sebelum dilanjutkan dengan pemberian vaksin hepatitis B selama 2 hari sesuai kelompok perlakuan.

Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah telah memperoleh persetujuan lolos kaji etik hewan di Komite Etik Penelitian Kesehatan RSUP Nasional DR. Cipto Mangunkusumo Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dengan nomor protokol 24-06-0966. Seluruh prosedur yang melibatkan hewan coba dilakukan sesuai dengan pedoman Standar Operasional Prosedur (SOP) Laboratorium Hewan di Universitas Medika Suherman.

Selama penelitian berlangsung, hewan dipelihara dalam kondisi lingkungan yang terkontrol, meliputi suhu, kelembapan, pencahayaan, serta diberikan pakan dan air sesuai kebutuhan. Upaya maksimal dilakukan untuk memastikan kesejahteraan hewan dan meminimalkan jumlah hewan yang digunakan sesuai dengan prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*)

Pengambilan sampel dilakukan ke semua kelompok tikus dengan metode *Plexus Retroorbitalis* dan di simpan dalam tabung EDTA untuk pengujian kadar IgG dengan menggunakan metode ELISA Reader dan CD4⁺ dan CD8⁺ menggunakan metode *Flow Cytometry*.

Pengujian Kadar CD4⁺ dan CD8⁺

Dengan menggunakan metode *Flow Cytometry* berikut langkah kerjanya antara lain: Pertama, isolasi PBMC dilakukan dengan menambahkan ficol kedalam *microtube* sebanyak 500 μ L kemudian ditambahkan 500 μ L sampel darah tikus secara perlahan sehingga terdapat 2 lapisan cairan yaitu larutan ficol dan darah. Kedua, sampel

darah di *centrifuge* dengan kecepatan 4000 rpm selama 30 menit dengan suhu 32°C.

Selanjutnya, hasil *centrifuge* menunjukkan 4 lapisan, yaitu plasma, PBMC, larutan ficol dan RBC+granulosit. Ketiga, PBMC diambil menggunakan *micropipet* dan dipindahkan kedalam *microtube* baru, kemudian ditambahkan dengan 500 µL PBS steril. Keempat, sample di *centrifuge* dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit dengan suhu 10°C. Kelima, *supernatan* dibuang kemudian *pellet* diresuspensi dengan 50 µL *Antibody* CD4⁺ dan CD8⁺. Keenam, sampel diinkubasi selama 20 menit di dalam *ice box* dengan kondisi gelap. Setelah inkubasi sampel di *centrifuge* kembali dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit dengan suhu 10°C. Ketujuh, *supernatan* dibuang kemudian *pellet* diresuspensi dengan 500 µL PBS steril kemudian dipindahkan kedalam *FlowTubes* untuk running *Flow Cytometry* dan didapatkan hasil datanya.

Pengujian kadar IgG

Pengujian dengan metode ELISA *Reader* dilakukan melalui beberapa tahap. Pertama, mikrotiter dilapisi antigen murni dengan cara membiarkan larutan antigen menempel pada dinding selama 30–60 menit, lalu dicuci untuk menghilangkan antigen yang tidak menempel. Selanjutnya, serum sampel ditambahkan agar antibodi spesifiknya dapat berikatan dengan antigen, kemudian dicuci kembali untuk membuang antibodi yang tidak terikat.

Setelah itu, ditambahkan Anti-Ig yang terikat pada bagian Fc antibodi dan membawa enzim, lalu dilakukan pencucian lagi untuk membilas kompleks antibodi-enzim yang tidak terikat. Berikutnya, substrat kromogenik dimasukkan sehingga dapat diuraikan oleh enzim dan menghasilkan perubahan warna setelah inkubasi. Terakhir, intensitas warna diukur dengan ELISA *Reader* pada panjang gelombang tertentu. Semakin pekat warna yang terbentuk, semakin tinggi kadar antibodi dalam sampel.

Langkah pertama dalam pengolahan data adalah mendapatkan nilai Densitas Optik (OD) yang terkoreksi. Nilai OD mentah dari setiap sumur dihitung dengan mengurangi rata-rata nilai blanko (kontrol latar belakang) untuk menghilangkan sinyal non-spesifik. Nilai OD yang terkoreksi ini kemudian digunakan untuk menentukan kadar antibodi, biasanya diukur sebagai Titer Antibodi (pengenceran tertinggi yang menghasilkan sinyal positif) atau sebagai Konsentrasi Antibodi spesifik (ng/mL atau IU/ML) dengan interpolasi dari kurva standar yang dibuat menggunakan standar antibodi murni.

Setelah data dihasilkan data harus diuji asumsi dasar, yaitu Normalitas dengan Uji *Shapiro-Wilk* dan Homogenitas Varians dengan Uji Levene. Karena penelitian ini melibatkan enam kelompok independen, jika data terdistribusi normal dan memiliki varians yang homogen, maka digunakan Analisis Varians Satu Arah (*One-Way ANOVA*) untuk menguji apakah ada perbedaan signifikan pada rata-rata kadar antibodi secara keseluruhan antar enam kelompok.

Analisis data dalam penelitian ini dilakukan secara kuantitatif untuk mengevaluasi perbedaan pemberian fraksi biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) terhadap parameter imunologis, yaitu kadar imunoglobulin G (IgG) serta ekspresi sel limfosit T CD4⁺ dan CD8⁺ pada hewan uji. Analisis data meliputi dua pendekatan, yaitu univariat dan bivariat. Analisis univariat bertujuan untuk mendeskripsikan karakteristik setiap variabel secara tunggal, seperti nilai rerata dan standar deviasi dari kadar IgG, serta persentase CD4⁺ dan CD8⁺ pada masing-masing kelompok perlakuan.

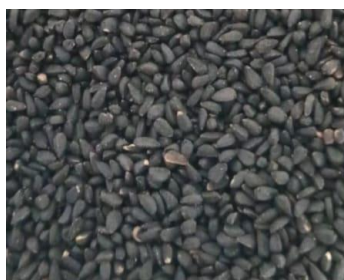
Selanjutnya, dilakukan analisis bivariat untuk menguji perbedaan variabel bebas berupa konsentrasi fraksi biji jintan hitam (10%, 15%, dan 20%) terhadap variabel terikat yaitu kadar IgG dan ekspresi sel T CD4⁺ serta CD8⁺. Sebelum dilakukan uji statistik, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk* untuk menentukan apakah distribusi data bersifat normal. Jika data terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA*, disertai uji lanjutan *post hoc Tukey* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan.

Apabila data tidak berdistribusi normal, maka digunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *post hoc Dunn's test*. Seluruh analisis dilakukan dengan menggunakan software *GraphPad Prism*, dengan tingkat signifikansi ditetapkan pada $p < 0,05$. Analisis ini bertujuan untuk memastikan adanya perbedaan signifikan antar perlakuan dan menentukan fraksi yang paling efektif sebagai imunomodulator.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi Tanaman

Hasil determinasi menunjukkan bahwa biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) berasal dari famili *Ranunculaceae* yang dapat dilihat pada Gambar 1. Determinasi tanaman tersebut dilakukan oleh PT. Palapa Muda Perkasa – *Chemicals Product and Chemical Analysis Service*, yang menyatakan bahwa sampel tumbuhan yang dikirimkan telah teridentifikasi sebagai *Nigella sativa* L.



Gambar 1. Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.)
(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

Hasil Rendemen Ekstrak Biji Jintan Hitam

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Jintan Hitam

Sampel	Bobot Simplisia (gram)	Bobot Ekstrak Kental (gram)	Rendemen (%)
Biji jintan hitam	1.300	200	15,38%

Hasil Rendemen Fraksi Biji Jintan Hitam

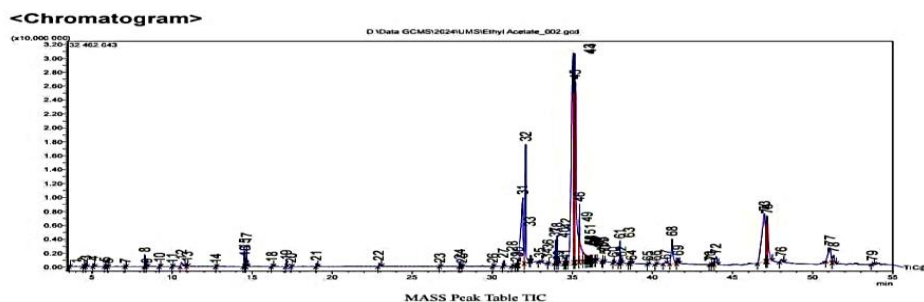
Tabel 2. Hasil Berat Fraksi Biji Jintan Hitam

Sampel	Bobot Ekstrak Kental (gram)	Rendemen Ekstraksi (%)	Berat Fraksi (gram)
Biji jintan hitam	200	15,38	30 gram

Tabel 3. Hasil Rendemen Fraksi Biji Total Jintan Hitam

Sampel	Rendemen Ekstraksi (%)	Rendemen Fraksi (%)	Rendemen Fraksi Total (%)
Biji jintan hitam	15,38	15	2,31%

Hasil Pengukuran Profil Senyawa (GC-MS)



Gambar 2. Profil Senyawa Fraksi Etil Asetat menggunakan GC-MS. Peak ditunjukkan terdapat *Thymoquinone* dan komponen lainnya

Adapun hasil skrining dari profil senyawa pada fraksi etil asetat terdapat beberapa senyawa berperan sebagai imunomodulator diantaranya : *Thymoquinone*; *D-Limonene*; *gamma-Terpinene*; *Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-*; *Phenol, 4-methoxy-2,3,6-trimethyl*; *l-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate*; *Nerolidyl acetate*; *9,12-Octadecadienoic acid*; *Oleic anhydride*; *Glycerol 1,2-diacetate*. Berdasarkan hasil GC-MS (Tabel 4) diperoleh bahwa fraksi etil asetat mempunyai nilai *thymoquinone* yang paling tinggi dengan % area 0.7137 ditambah jumlah senyawa kimia yang paling banyak dibandingkan dengan fraksi lain yang mengandung *thymoquinone*. Menurut

(Santoso et al., 2021) *thymoquinone* merupakan senyawa marker dari tanaman biji jintan hitam.

Thymoquinone (TQ) secara luas diakui sebagai konstituen bioaktif utama dalam minyak dan ekstrak *Nigella sativa*, sehingga menjadikannya kandidat kuat sebagai marker standar untuk tujuan kontrol kualitas. *United States Pharmacopeia–National Formulary* (USP–NF) telah menerbitkan monograf “*Black Cumin Seed Thymoquinone Oil*” yang menetapkan kadar minimum (NLT) 3% TQ sebagai salah satu spesifikasi mutu resmi, menunjukkan bahwa TQ telah diadopsi sebagai parameter kualitas pada tingkat farmakopeial (USPNF, 2023). Selain itu,

berbagai studi ilmiah melaporkan bahwa TQ merupakan komponen mayor dari fraksi volatil dan bertanggung jawab terhadap banyak aktivitas biologis dan farmakologis *N. sativa*, termasuk aktivitas antioksidan, anti-inflamasi, antimikroba, serta efek terapeutik lainnya (Mohamed et al., 2021; Saeed et al., 2021). Penelitian analitik juga menunjukkan bahwa TQ dapat ditentukan secara kuantitatif dengan metode valid (misalnya HPLC dan GC), dan kandungannya memiliki variabilitas

yang signifikan antar wilayah/varietas, sehingga dapat digunakan sebagai penanda kuantitatif untuk menilai kualitas sampel (Işık et al., 2023). Dengan demikian, pemilihan TQ sebagai marker dalam penelitian ini memiliki dasar farmakopeial, fitokimia, dan farmakologis yang kuat serta sejalan dengan praktik standarisasi *Nigella sativa* pada tingkat internasional.

Tabel 4. Hasil Senyawa GC-MS

Peak	Compound Name	Ret. Time	Area	Area %	SI
1	<i>Thymoquinone</i>	14.6608	8297637	0.7137	86
2	<i>D-Limonene</i>	8.4456	245811	0.0211	91
3	<i>gamma.-Terpinene</i>	9.2393	408081	0.0351	96
4	<i>Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)</i>	16.2514	1031432	0.0887	94
5	<i>Phenol, 4-methoxy-2,3,6-trimethyl</i>	22.9280	2604050	0.2240	86
6	<i>l-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate</i>	31.9016	96621006	8.3100	91
7	<i>Nerolidyl acetate</i>	36.4839	449526	0.0387	84
8	<i>9,12-Octadecadienoic acid</i>	36.8740	298245	0.0257	89
9	<i>Oleic anhydride</i>	35.8400	5278675	0.4540	74
10	<i>Glycerol 1,2-diacetate</i>	17.1342	1409189	0.1212	97

Hasil Pengukuran Kadar IgG dengan IgG Kit (ELISA Reader)

Tabel 5. Hasil Pengukuran Kadar Nilai IgG

Kelompok	Mean ± SD (ng/mL)
1	185.660 ± 9.031
2	183.557 ± 8.604
3	275.827 ± 8.944
4	263.560 ± 9.254
5	239.620 ± 9.160
6	220.737 ± 9.061

Tabel 6. Standar Deviasi Kadar IgG

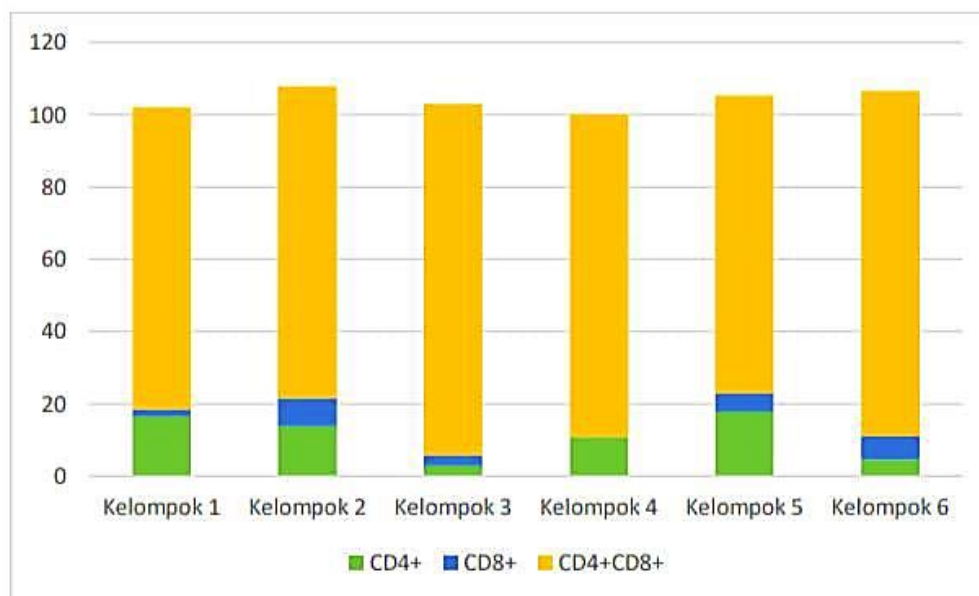
Kode Sampel	Nilai IgG (ng/mL)			Rerata	Standar Deviasi
	Ulang Ke				
	1	2	3		
Kelompok 1	196,690	179,300	180,990	187,995	12,2966
Kelompok 2	193,640	180,210	176,820	186,925	9,4964
Kelompok 3	285,730	271,750	270,000	278,740	9,8854
Kelompok 4	275,030	258,560	257,090	266,795	11,6460
Kelompok 5	250,280	232,160	236,420	241,220	12,8128
Kelompok 6	231,820	214,230	216,160	223,025	12,4380

Keterangan: Kelompok 1 : (Ekstrak 10% + Vaksin Hepatitis B), Kelompok 2 : (Ekstrak 15% + Vaksin Hepatitis B), Kelompok 3 : (Ekstrak 20% + Vaksin Hepatitis B), Kelompok 4 : (Ekstrak + Tanpa Vaksin Hepatitis B), Kelompok 5 : (Tanpa Ekstrak + Vaksin Hepatitis B), Kelompok 6 : (Obat Paten + Vaksin Hepatitis B)

Hasil Pengukuran CD4⁺ Dan CD8⁺

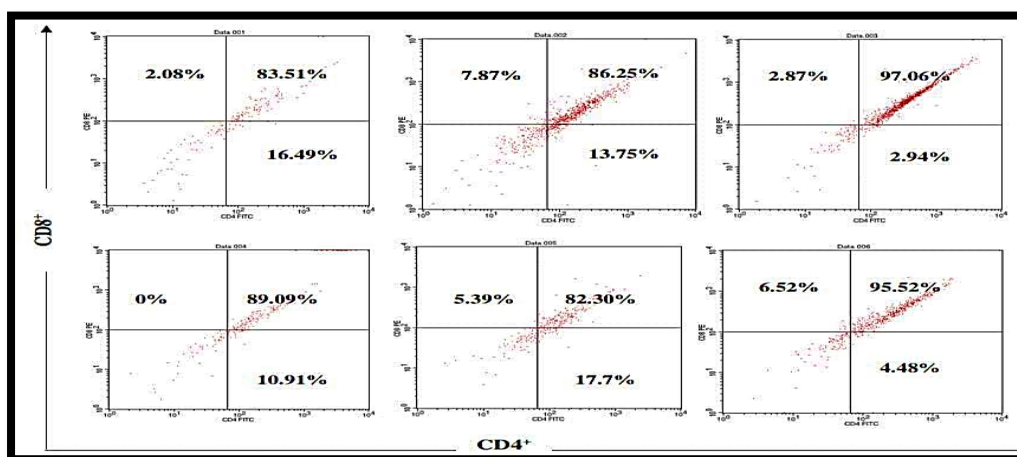
Tabel 7. Hasil Pengukuran CD4⁺ Dan CD8⁺

Perlakuan	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ CD8 ⁺
Kelompok 1	16.49%	2.08%	83.51%
Kelompok 2	13.75%	7.87%	86.25%
Kelompok 3	2.94%	2.87%	97.06%
Kelompok 4	10.91%	0.00%	89.09%
Kelompok 5	17.70%	5.39%	82.30%
Kelompok 6	4.48%	6.52%	95.52%



Gambar 3. Diagram Hasil Pengukuran CD4⁺ Dan CD8⁺

Keterangan: Kelompok 1 : (Ekstrak 10% + Vaksin Hepatitis B), Kelompok 2 : (Ekstrak 15% + Vaksin Hepatitis B), Kelompok 3 : (Ekstrak 20% + Vaksin Hepatitis B), Kelompok 4 : (Ekstrak + Tanpa Vaksin Hepatitis B), Kelompok 5 : (Tanpa Ekstrak + Vaksin Hepatitis B), Kelompok 6 : (Obat Paten + Vaksin Hepatitis B)



Gambar 4. Dot Plot Hasil Flow Cytometry

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* menggunakan tikus sebagai hewan percobaan, yang kemudian dibagi menjadi enam kelompok perlakuan berbeda. Di mana kelompok uji yaitu kelompok I diberikan kombinasi ekstrak biji jantan hitam dosis 10% dengan vaksin hepatitis B, kelompok II

diberikan kombinasi ekstrak biji jantan hitam dosis 15% dengan vaksin hepatitis B, dan kelompok III diberikan kombinasi ekstrak biji jantan hitam dosis 20% dengan vaksin hepatitis B. Pada kelompok plasebo yaitu kelompok IV diberikan ekstrak biji jantan tanpa vaksin hepatitis B. Sedangkan kelompok

kontrol negatif yaitu kelompok V diberikan vaksin hepatitis B tanpa ekstrak biji jintan hitam dan kelompok VI diberikan obat paten bersama dengan vaksin hepatitis B sebagai kelompok kontrol positif. Proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk biji jintan hitam dalam pelarut etanol 96% selama 24 jam

Setelah itu, cairan hasil ekstraksi yang telah disaring dilanjutkan melewati tahap fraksinasi. Proses fraksinasi dilakukan dengan tiga jenis pelarut berbeda, yaitu etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana. Ketiga pelarut tersebut digunakan mulai dari pelarut polar hingga nonpolar untuk memisahkan senyawa aktif dari biji jintan hitam. Sehingga diperoleh fraksi dengan komposisi senyawa yang lebih spesifik

Penggunaan pelarut bertingkat ini, tidak hanya meningkatkan efisiensi isolasi senyawa target, tetapi juga memungkinkan penilaian aktivitas farmakologis dari masing-masing fraksi, sehingga dapat diketahui fraksi mana yang paling berpotensi sebagai imunomodulator berdasarkan kandungan senyawa aktifnya. Ketiga fraksi tersebut, kemudian diuji profil senyawanya menggunakan GC-MS (*Gas Chromatography–Mass Spectrometry*) dan diuji aktivitas imunologisnya melalui parameter biologis berupa IgG, CD4⁺, dan CD8⁺

Berdasarkan hasil profil senyawa menggunakan GC-MS diketahui bahwa fraksi etil asetat terbukti mengandung *thymoquinone* paling tinggi dibandingkan fraksi lainnya, dengan nilai persen area sebesar 0,7137%, sedangkan fraksi etanol hanya mengandung persen area sebesar 0,0390%, dan fraksi n-heksana tidak terdeteksi mengandung *thymoquinone*. Hal ini menunjukkan bahwa *thymoquinone* sebagai senyawa bioaktif utama dalam biji jintan hitam dan mudah larut dalam pelarut semipolar. Oleh karena itu, fraksi etil asetat dinyatakan sebagai fraksi yang paling potensial sebagai imunomodulator dan menunjukkan efek paling signifikan dalam meningkatkan kadar IgG serta sel limfosit T CD4⁺ dan CD8⁺ dalam pengujian *in vivo*.

Profil GC-MS menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung 79 senyawa dengan dominasi *thymoquinone* dan lipid bioaktif seperti 9,12-Octadecatrien-1-ol, 9,12-Octadecadienoic acid ester, dan oleic anhydride. Secara mekanistik, *thymoquinone* berpotensi memodulasi jalur NF- κ B dan MAPK serta meningkatkan ekspresi IL-2 yang penting bagi proliferasi sel T CD4⁺ dan CD8⁺, sementara senyawa lipid tak jenuh mendukung aktivasi imun melalui peningkatan fluiditas membran, pembentukan mediator eikosanoid, dan

aktivasi jalur PI3K/Akt pada sel B yang berkontribusi pada peningkatan IgG

Banyaknya senyawa yang teridentifikasi pada fraksi etil asetat dibandingkan fraksi etanol dan n-heksana dipengaruhi oleh sifat kepolaran pelarut dan kelarutan senyawa dalam biji jintan hitam. Etil asetat adalah pelarut semi-polar yang mampu melarutkan senyawa dengan tingkat kepolaran yang beragam., baik senyawa nonpolar maupun senyawa yang relatif polar, termasuk *thymoquinone*, asam lemak teresterifikasi, dan alkohol tak jenuh. Sebaliknya, n-heksana yang bersifat sangat nonpolar hanya melarutkan senyawa nonpolar seperti lemak murni dan minyak sedangkan etanol yang bersifat polar lebih selektif terhadap senyawa polar seperti flavonoid dan alkaloid. Karena sebagian besar senyawa aktif dalam biji jintan hitam memiliki kepolaran menengah, etil asetat menjadi pelarut yang paling optimal untuk mengekstraksinya. Selain itu, dalam analisis GC-MS, senyawa semi-polar yang larut dalam etil asetat cenderung lebih volatil dan stabil terhadap pemanasan, sehingga lebih mudah terdeteksi dibandingkan senyawa polar di fraksi etanol. Hal inilah yang menyebabkan jumlah dan keragaman senyawa pada fraksi etil asetat lebih tinggi dibandingkan fraksi lainnya (Hariutami et al., 2024)

Berdasarkan hasil uji imunologis menggunakan ELISA Reader, bahwa kelompok 3 sebagai kelompok uji yang mendapatkan perlakuan fraksi etil asetat konsentrasi 20% merupakan konsentrasi terbaik dalam peningkatan IgG dibandingkan dosis rendah karena konsentrasi 20% mengandung lebih banyak imunoglobulin dalam volume yang lebih kecil, sehingga lebih efisien diserap tubuh dan mempertahankan kadar IgG dalam darah lebih lama. Selain itu, konsentrasi tinggi dapat menstimulasi sistem imun lebih optimal dan menjaga stabilitas struktur IgG, sehingga risiko degradasi lebih rendah. Hasil ini sesuai karena didukung oleh uji statistik *One Way ANOVA* dengan nilai signifikansi sebesar <0.0001 sehingga menunjukkan perbedaan signifikan pada peningkatan IgG dengan nilai tertinggi pada konsentrasi 20% (Priani et al., 2020).

Vaksin hepatitis B menunjukkan kadar IgG tertinggi yaitu sebesar 278,740 ng/mL. Hal ini menunjukkan adanya efek sinergis antara senyawa bioaktif dalam fraksi etil asetat dan antigen dari vaksin, yang mampu meningkatkan aktivasi sel B untuk memproduksi antibodi IgG secara signifikan. Menurut (Lum et al., 2020) molekul MHC kelas II berperan penting dalam sistem imun adaptif dan memandu perkembangan serta fungsi limfosit T.

Mekanisme ini sejalan dengan peran *thymoquinone* yang diketahui dapat menginduksi ekspresi MHC kelas II serta meningkatkan interaksi antara sel T helper (CD4⁺) dan sel B (IgG), sehingga memperkuat respon imun humoral

Thymoquinone bekerja dengan menstimulasi proliferasi limfosit B, meningkatkan produksi sitokin pro-inflamasi (seperti IL-2 dan IFN- γ), serta memperkuat aktivasi sel T helper (CD4⁺), yang berperan penting dalam mengaktifasi sel B untuk memproduksi antibodi seperti IgG (Ode et al., 2024). Penelitian (Azam et al., 2023)(Flevaris & Kontoravdi, 2022) mendukung temuan ini dengan menyatakan bahwa *thymoquinone* dapat menstimulasi produksi antibodi termasuk IgG, dan menjaga homeostasis sistem imun melalui peningkatan ekspresi sitokin dan aktivitas sel imun lainnya. Semakin tinggi dosis fraksi yang diberikan, semakin besar stimulasi terhadap sistem imun adaptif yang terjadi, sebagaimana dibuktikan dengan peningkatan kadar IgG pada kelompok 3. Sejalan dengan penelitian oleh (Alkhattabi et al., 2022) mendukung bahwa *thymoquinone* memperkuat antigen dan produksi sitokin pro-inflamasi seperti IFN- γ , yang memperkuat jalur aktivasi T-helper CD4⁺ langkah awal untuk stimulasi sel B

Hasil pengukuran aktivitas limfosit T menggunakan metode *Flow Cytometry*. *Flow cytometry* menggunakan prinsip menyebarkan cahaya, eksitasi cahaya, dan pemancaran molekul fluorokrom untuk menghasilkan data multiparameter yang spesifik dari partikel dan sel yang memiliki rentang ukuran diameter antara 0,5–40 μm . Secara hidrodinamika, sel-sel difokuskan dalam sebuah tabung yang berisi PBS sebelum melewati dan disinari oleh sumber cahaya.

Laser merupakan sumber cahaya yang digunakan pada *Flow cytometry*, dan prinsip kerja yang digunakan memfokuskan hidrodinamika untuk mempresentasikan sel ke sumber cahaya. Sampel dimasukkan hingga pada pusat suatu aliran. Sel akan masuk dalam sebuah tabung yang dikombinasikan dengan aliran. Sel-sel akan mengalir hingga pada pusat aliran. Pada tahap ini sel akan tersinari oleh laser dan dipresentasikan kembali dalam bentuk suatu diagram tertentu.

Kelompok 3 yang mendapat fraksi etil asetat biji jintan hitam dengan konsentrasi 20% menunjukkan total ekspresi CD4⁺ dan CD8⁺ tertinggi, yaitu sebesar 97,06%. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian fraksi etil asetat pada konsentrasi tinggi mampu mengaktifasi hampir seluruh populasi sel T dalam sistem imun. Aktivasi CD4⁺ (T-helper) berperan penting dalam mengoordinasikan

respons imun adaptif, termasuk aktivasi limfosit B dan produksi antibodi, sedangkan CD8⁺ (T-sitotoksik) bertugas mengenali dan menghancurkan sel-sel yang terinfeksi virus atau mengalami perubahan abnormal (Wang et al., 2024).

Hasil ini memperkuat dugaan bahwa fraksi etil asetat dari biji jintan hitam tidak hanya mendukung imunitas humoral melalui peningkatan kadar IgG, tetapi juga berperan signifikan dalam memperkuat imunitas seluler (Mahmoud et al., 2021). Mekanisme aktivasi sel T tersebut melibatkan antigen oleh sel penyaji antigen (APC) kepada reseptor sel T (TCR), dengan bantuan molekul MHC kelas I dan II, yang kemudian memicu proliferasi sel efektor dan produksi berbagai sitokin imunomodulator yang meningkatkan efektivitas respons imun terhadap patogen, termasuk virus hepatitis B (Dalli et al., 2021)

Pada analisis imunologi menggunakan *Flow Cytometry*, nilai CD4⁺ dan CD8⁺ dinyatakan sebagai persentase populasi sel limfosit yang mengekspresikan penanda permukaan CD4⁺ atau CD8⁺. Sel CD4⁺ merupakan subpopulasi sel T helper yang berperan dalam mengatur respon imun adaptif melalui aktivasi sel imun lain, sedangkan sel CD8⁺ adalah sel T sitotoksik yang berfungsi menghancurkan sel terinfeksi atau sel abnormal. Persentase ini mencerminkan proporsi distribusi subpopulasi limfosit dalam sampel, bukan jumlah absolut sel. Dengan demikian, nilai CD4⁺ dan CD8⁺ pada tabel menggambarkan bagaimana perlakuan mempengaruhi komposisi relatif kedua subset sel T tersebut di dalam populasi limfosit total

Secara keseluruhan, penelitian ini membuktikan bahwa fraksi etil asetat dari biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dapat digunakan sebagai agen imunomodulator alami. Kandungan senyawa aktif seperti *thymoquinone*, linoleat ester, oleat anhidrid, dan senyawa fenolik lainnya bekerja secara kolektif untuk meningkatkan aktivitas imun seluler (CD4⁺ dan CD8⁺) serta imunitas humoral (IgG). Temuan ini berpotensi dikembangkan lebih lanjut sebagai dasar formulasi sediaan imunostimulan berbasis bahan alam, serta diarahkan menuju kategori Obat Herbal Terstandar (OHT) atau bahkan Fitofarmaka, melalui uji klinik lanjutan.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, di antaranya jumlah sampel hewan uji yang relatif kecil sehingga dapat mempengaruhi kekuatan statistik hasil. Analisis respon imun juga hanya berfokus pada parameter CD4⁺, CD8⁺, dan IgG tanpa mengevaluasi marker imun lain seperti sitokin (IL-2, IFN- γ , TNF- α) yang dapat memberikan gambaran lebih komprehensif mengenai mekanisme

imunomodulasi. Selain itu, penelitian ini belum mengidentifikasi secara spesifik senyawa bioaktif dominan dari fraksi etil asetat yang berperan dalam peningkatan respon imun.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, fraksi jantan hitam (*Nigella sativa* L.) terbukti terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai sig. >0.0001 pada aktivitas fraksi etil asetat biji jantan hitam (*Nigella sativa* L.) konsentrasi 10%, 15%, dan 20% terhadap Immunoglobulin G (IgG). Adapun kelompok yang menunjukkan aktivitas tertinggi dan fraksi yang paling baik dibanding kelompok lainnya terdapat pada kelompok 3 fraksi etil asetat dengan konsentrasi 20% sebesar 278,740 ng/mL. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat jantan hitam konsentrasi 20% berpotensi sebagai imunomodulator yang aman, serta dapat membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh, khususnya pada kondisi penurunan fungsi imun. Namun, tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada aktivitas fraksi etil asetat biji jantan hitam (*Nigella sativa* L.) konsentrasi 10%, 15%, dan 20% terhadap sel limfosit T (CD4⁺ dan CD8⁺). Penelitian selanjutnya disarankan untuk dilakukan uji toksisitas dan uji klinis guna memastikan efektivitas serta keamanan penggunaan fraksi etil asetat biji jantan hitam sebagai imunomodulator.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga Artikel Ilmiah ini dapat diselesaikan dengan baik. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) Riset Eksakta atas dukungan dana hibah yang telah diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alkhatabi, N. A., Hussein, S. A., Tarbiah, N. I., Alzahri, R. Y., & Khalifa, R. (2022). Thymoquinone Effect on Monocyte-Derived Macrophages, Cell-Surface Molecule Expression, and Phagocytosis. *Nutrients*, 14(24), 1–13.
- Armi, A., Marselina, M., Hashim, S. H. R., Anwar, L. O. M., & Dewi, M. S. (2023). Uji antimikroba salep ekstrak daun pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) untuk luka mencit diabetik yang terinfeksi bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Nursing Practice and Education*, 4(1), 162–168.
- Astika, F., & Muflihah, C. H. (2023). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Jantan Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Bakteri *Shigella Sonnei* Dan *Bacillus Cereus* Serta Bioautografinya. *Usadha Journal of Pharmacy*, 2(1), 45–59.
- Azam, T., Bukhari, S. H., Liaqat, U., & Miran, W. (2023). Emerging Methods in Biosensing of Immunoglobulin G—A Review. *Sensors*, 23(2).
- Brestoff, J. R. (2023). Full spectrum flow cytometry in the clinical laboratory. *International Journal of Laboratory Hematology*, 45(S2), 1–6.
- Brinzky F.Y., Marsetyawan HNE. S., D. S. (2020). Peran Jantan Hitam (*Nigella sativa*) terhadap Respon Imun. *Proceeding 1st SETIABUDI – CIHAMS 2020*, 1–9.
- Cahyani, S., Rusydi Hashim, S. H., & Pramestyani, E. D. (2024). Formulasi Lip balm dan Penetapan SPF (Sun Protection Factor) Ekstrak Daun Mangga. *Majalah Farmasetika*, 9(2), 140.
- Ding, S. et al. (2021) 'Establishment of a novel double-monoclonal antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): tool for human B7-H4 detection in autoimmune diseases', *Clinical and Experimental Immunology*, 205(2), pp. 150–159. Available at: <https://doi.org/10.1111/cei.13610>.
- Flevaris, K., & Kontoravdi, C. (2022). Immunoglobulin G N-glycan Biomarkers for Autoimmune Diseases: Current State and a Glycoinformatics Perspective. *International Journal of Molecular Sciences*, 5(9), 1–23.
- Gunawati, D. T., Mahmudah, F., & Sastyarina, Y. (2020). Aktivitas Imunodulator Tanaman Jantan Hitam (*Nigella sativa* L.). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 211–217.
- Hariutami, D., Darmawati, S., Permana, A., & Zuraida, Z. (2024). The Effect of Different Solvents on the Content of Black Cumin Seed Extract (*Nigella sativa*). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 14(1), 84–97.
- Işık, S., Usman, A., & Abba, S. I. (2023). A chemometrics-based approach for the determination of thymoquinone from *Nigella sativa* L. (Black Cumin) seeds of different geographical regions using the HPLC technique. *Istanbul Journal of Pharmacy*, 53(3), 320–328. <https://doi.org/10.26650/IstanbulJPharm.2023.1181298>
- Kesavelu, D., & Jog, P. (2023). Current understanding of antibiotic associated dysbiosis and approaches for its management. *Journal.Sagepub*, 10, 1–18.
- Lestari, G. D. & A. K. (2024). Kajian Penanganan Hepatitis B Berdasarkan Perilaku Dan Pemeriksaan Molekuler. *Malahayati Health*

- Student Journal*, 4, 1–11.
- Lum, S. H., Neven, B., Slatter, M. A., & Gennery, A. R. (2020). Hematopoietic Cell Transplantation for MHC Class II Deficiency. *Frontiers in Pediatrics*, 7(December), 1–7.
- Mahmoud, H.S. et al. (2021) 'The effect of dietary supplementation with *Nigella sativa* (black seeds) mediates immunological function in male Wistar rats', *Scientific Reports*, 11(1), pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86721-1>.
- Maula, P. M., & Imam, A. W. (2020). Aktivitas Anti Virus Hepatitis B Pada Beberapa Tanaman Dengan Metode Pengujian in Vivo Dan in Vitro : Review Jurnal. *Farmaka*, 18(2), 173–190.
- Mohamed, M., Al-Jawad, N., Abd-Elhady, A., & Al-Kaabi, M. (2021). *Nigella sativa* L. Phytochemistry and pharmacological activities: A review (2019–2021). *Biomolecules*, 12(1), 20. <https://doi.org/10.3390/biom12010020>
- Ode, L., Anwar, M., Anugrah, A. K., Pramestyani, E. D., Pebriyanti, K., Nur, H., Rohmah, F., Widyawati, A. A., & Muhammad, L. O. (2024). Studi Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia (JMPI)*, 10(2), 736–742.
- Priani, S. E., Somantri, S. Y., & Aryani, R. (2020). Formulasi dan Karakterisasi SNEDDS (Self Nanoemulsifying Drug Delivery System) Mengandung Minyak Jintan Hitam dan Minyak Zaitun. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 7(1), 31.
- Saeed, M., Al Nuaimi, A. H., & Mariyam, Z. (2021). *Nigella sativa*: A comprehensive review of its therapeutic potential, pharmacological properties, and clinical applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(24), 13410. <https://doi.org/10.3390/ijms252413410>
- Santoso, K., Herowati, U. K., Rotinsulu, D. A., Murtini, S., Ridwan, M. Y., Hikman, D. W., Zahid, A., Wicaksono, A., Nugraha, A. B., Afiff, U., Wijaya, A., Arif, R., Tarigan, R., & Sukmawinata, E. (2021). Comparison of Colorimetric-Based Rabies Postvaccination Antibody Titer Detection Using Elisa Reader and Mobile Phone Camera. *Jurnal Veteriner*, 22(1), 79–85.
- Saputra, Ni Kadek Ida Rajeswari, & Setyawan, E. I. (2023). Pemanfaatan Teh Herbal Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Sebagai Agen Imunostimulan Pendamping Kemoterapi Doksorubisin Pada Pasien Kanker. *Prosiding Workshop Dan Seminar Nasional Farmasi*, 2, 542–556.
- USPNF. (2023). Black cumin seed thymoquinone oil [Monograph]. United States Pharmacopeia–National Formulary. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86721-1>. (tautan resmi USP via DOI).
- Zulfayanto, I., Vanda, H., Hambal, M., Sari, W. E., & Muttaqien, M. (2025). In vitro analysis of antibacterial activity of black seed oil against *Salmonella typhi*. *Jurnal Medika Veterinaria*, 19(2). <https://doi.org/10.31389/jmv.v19i2.48983>