

NASKAH PUBLIKASI

Pengaruh Pemberian Gel Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) pada Proses Penyembuhan Luka Gingiva

(di tinjau dari jumlah sel fibroblast)

**The Effect of Black cumin seeds (*Nigella Sativa*) Gel to The Gingiva Healing Process
*(in review of the number of fibroblast cells)***

Tri Kurnia Wulandari¹, Ika Andriani²

¹Mahasiswa S1 Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

²Dosen Pembimbing Program Studi Pendidikan Dokter Gigi FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
wulanndari1994@gmail.com

Abstrak

Latar belakang: Luka adalah hilangnya integritas dari epitel kulit. Luka merupakan cedera yang sering dialami oleh setiap manusia. Proses penyembuhan luka dibagi menjadi 3 fase yaitu : 1). Hemostasis dan inflamasi, 2). Proliferasi dan 3). Maturasi dan remodeling. Fase proliferasi yang terjadi pada hari ke 5-21 setelah terjadinya luka fibroblast akan meningkat. Jintan hitam (*Nigella Sativa*) mempunyai zat aktif yang dapat meningkatkan jumlah sel fibroblast yaitu *Saponin*, *Flavonoid* dan *Thymoquinone*. Efek dari saponin pada fibroblas adalah mensintesis fibronektin yang dapat mempercepat penyembuhan luka. **Tujuan penelitian:** untuk mengetahui pengaruh pemberian gel biji jintan hitam pada peningkatan jumlah sel fibroblast dalam proses penyembuhan luka. **Desain penelitian:** Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris *in vivo* dengan rancangan *post test only control group* desain. Penelitian ini menggunakan 36 ekor tikus yang dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan yaitu kontrol positif (*aloclair*), kontrol perlakuan (gel jintan hitam), dan kontrol negatif (CMC-Na). Gingiva tikus dilakukan perlakuan dengan menggunakan *scalpel* yang berdiameter 5 mm. setelah itu diambil jaringan dan dibuat preparat. Pengamatan dengan perbesaran 40x10 dengan 10x lapang pandang menggunakan mikroskop cahaya. **Hasil penelitian:** penelitian ini diuji dengan Kruskal-Wallis dengan hasil terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap peningkatan jumlah sel fibroblas antara 3 kelompok perlakuan berdasarkan tindakan. Uji Kruskal-Wallis berdasarkan hari menunjukkan hasil yang tidak signifikan ($p > 0,05$) dari masing-masing kelompok perlakuan. Penelitian menunjukkan bahwa gel biji jintan hitam dapat meningkatkan jumlah sel fibroblast terhadap proses penyembuhan luka pada gingival tikus.

Kata kunci: Fibroblas, Jintan Hitam (*Nigella Sativa*), Luka.

Abstract

Background: Wound is the loss of integrity of the skin epithelium. The wound is an injury that is often experienced by every human being. Wound healing process is divided in 3 phases:

1). Hemostasis and inflammation, 2). Proliferation and 3). Maturation and remodeling. Proliferation phase which happens at the 5th-21st day will increase after Fibroblasts wound happens. Black cumin (*Nigella Sativa*) has an active substance that can increase the number of fibroblast cells namely Saponin, Flavonoid and Thymoquinone. The effect of saponins on fibroblasts is to synthesize fibronectin which can accelerate wound healing. **The research objective:** to determine the effect of black cumin seed gel on increasing the number of fibroblast cells in wound healing process. **Method:** the type of this study was experimental laboratory *in vivo* with post test only control group design. Type of this research was experimental of *in vivo* laboratory with the design of post-test only control group. This research used 36 mice which were divided being 3 treatment groups; those were positive control (alocclair), treatment control (jintanhitam gel), and negative control (CMC-Na). Gingiva mice were injured using a scalpel with a diameter of 5 mm. After that, gingival tissue was taken and made preparation. Observation with 20x40 magnification with 10x viewable field using a light microscope. **Result:** the result of this study were tested by Kruskal-Wallis with the result that there was a significant ($p < 0,05$) difference to the increase of the number of fibroblast cells between 3 treatment groups based on the action. The Kruskal-Wallis test based on *dy* showed no significant ($p > 0,05$) result from each treatment group. This study showed that *Nigella sativa* gel can increase the number of fibroblast cells to the wound healing process in rat gingiva.

Keywords: Fibroblas, Black Cumin (*Nigella Sativa*), Wounds.

PENDAHULUAN

Jinten hitam di Indonesia masih jarang dibudidayakan secara intensif. Hal ini disebabkan kurangnya pengetahuan mengenai manfaat jinten hitam. (Yulianti, 2006:25). Biji *Nigella Sativa* telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk perawatan berbagai macam penyakit. Jinten hitam (*Nigella sativa*) memiliki kandungan kimia seperti *thymoquinone*, *thymohydroquinone*, *nigellienine*, *nigelliene-n-oxide*, minyak atsiri, dan alkaloid. (Marlinda, 2015). Jinten hitam mempunyai ukuran yang kecil dan pendek (panjang antara 1-2 mm). Jinten hitam mempunyai kandungan yang dapat membantu mempercepat penyembuhan luka dari berbagai penelitian yang sudah dilakukan. Kandungan jinten hitam *Thymoquinone* berfungsi sebagai anti-inflamasi, *Saponin* dan *flavonoid* dapat membantu proses penyembuhan luka,

Proses penyembuhan luka adalah suatu kualitas dari kehidupan jaringan hal ini juga berhubungan dengan regenerasi jaringan (Kozier et.al, 1995). Proses penyembuhan luka dibagi menjadi beberapa tahap yaitu : fase inflamatory, fase proliferasi, fase remodeling dan maturasi. Fase proliferasi ditandai dengan datangnya sel fibroblast 24jam setelah terjadinya luka. Fibroblas akan berpindah ke jaringan luka dengan membawa benang fibrin dan jaringan granulasi yang lunak serta mudah pecah.

Fibroblast adalah sel yang menghasilkan komponen ekstrasel dari jaringan ikat yang berkembang. Fibroblas dihasilkan oleh sel otot polos dan meseskim. Fibroblas juga penghasil utama serat kolagen dan elastis dalam jaringan ikat (Bloom & Fawcett, 2002). Fungsi utama sel fibroblas adalah menjaga integritas jaringan pendukung dengan cara mengatur perubahan umur matriks ekstraselular secara berkesinambungan (Kurniawati, et.al. 2015). Fibroblast dalam penyembuhan luka dapat ditingkatkan salah satunya dengan zat aktif pada *Nigella Sativa* yaitu *saponin*. Efek dari saponin pada fibroblas adalah mensintesis fibronectin.

Bahan dan Cara

Penelitian ini adalah penelitian yang dilakukan eksperimental laboratoris *in vivo* pada tikus putih wistar (*Ratus Norvegicus*) jantan dengan rancangan *post test only control group design*. Populasi yang digunakan adalah putih wistar (*Ratus Norvegicus*).

Sampel yang diuji adalah dengan rumus Federer yang di dapatkan hasil jumlah tikus menjadi 9 ekor tikus yang dibagi dalam 3 kelompok yaitu 3 tikus kontrol positif, 3 tikus kontrol negatif, dan 3 tikus kelompok perlakuan. Penelitian ini menggunakan 36 ekor tikus sebagai populasi yang dibagi dalam 4 kali pengambilan sampel.

Sebagai criteria inklusi adalah Karakteristik umum dari keadaan tikus yang sehat atau aktif, tikus wistar jantan berumur 2-3bulan, berat badan tikus putih 200-250 gram dan tidak boleh ada perbedaan jauh, agar perbandingan lebih valid. Sebagai variabel pengaruh adalah gel biji jintan hitam, sedangkan variabel terpengaruh yaitu Jumlah sel fibroblas pada perlukaan gingiva tikus wistar. Variabel terkendalinya adalah galur tikus : tikus wistar, umur tikus : 2-3 bulan, jenis kelamin jantan, berat badan tikus 200-250, pellet tipe broiler, diameter luka 2,5 mm, dan volume, waktu serta cara pengaplikasian gel. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Tikus wistar jantan, biji jintan hitam 2 kg, *alocclair* sebagai kontrol positif, Etanol 70% untuk pelarut ekstrak, Kapas steril, natrium CMC (CMC-Na) sebagai gelling agent, Hematoksin Eosin (HE), Eter, mikrotom, *hot plate*, *buffer* formalin 10%. Alat yang digunakan yaitu alat penyaring ekstrak, pembuatan ekstrak jintan hitam, pembuatan gel biji jintan hitam (*Nigella sativa*) konsentrasi 10%, pembuatan sediaan histologis, timbangan, *scalpel*, mikroskop cahaya, objek *glass* dan deck *glass*, pot wadah untuk menyimpan gel, kandang tikus diberi kode nomer, pinset, gunting bedah.

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2016 sampai bulan Januari 2017 di Laboratorium Farmakologi dan Histologi UMY, LPPT Unit 1 UGM. Sampel dikumpulkan dan diadaptasi selama 1 minggu.

Pelaksanaannya diawali dengan pemilihan jintan hitam lalu dilanjutkan pembuatan ekstrak *Nigella Sativa* di Farmakologi UMY dengan langkah kerja sebagai berikut : jintan hitam dihaluskan dengan menggunakan mesin penyerbuk. Lalu serbuk dimaserasi menggunakan Etanol 70% dengan perbandingan 1:5 diwadahi yang terbuat dari kaca. Maserasi dilakukan selama 7hari dan remaserasi selama 3 hari.

Kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas penyaring. Lalu dilakukan pembuatan ekstrak dengan dipanaskan hingga kental dan tidak lengket. Setelah itu dimasukan kedalam pot. Kemudian dibuat gel dengan Menambahkan ekstrak biji jintan hitam sebanyak 2 gram untuk mendapatkan gel berkonsentrasi 10%. Setelah itu pembuatan preparat dengan perlukaan pada tikus berdiameter 2 mm. setelah itu luka tersebut aplikasikan CMC-Na (kontrol negatif), Gel Jintan Hitam (kontrol perlakuan) dan *alocclair* (kontrol positif) sehari 3kali sehari. Setiap hari yaitu pada hari ke 1, ke 3, ke 5 dan ke 8 dilakukan dekapitasi 9 tikus dengan 3 tikus dari masing-masing kelompok. Lalu potong jaringan dan dibuat preparat dengan perwarnan HE untuk dilakukan pengamatan.

Pengumpulan data melalui pengamatan histologi peningkatan sel fibroblast pada 3x lapang pandang dengan perbesaran 40x10.

Analisis data pada penelitian menganalisis perbedaan antara kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan kontrol perlakuan dengan menggunakan uji ANOVA bila data berdistribusi normal, sedangkan bila data tidak berdistribusi normal maka digunakan uji *Kruskal-Wallis*. Untuk menguji data berdistribusi normal atau tidak, digunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50.

Hasil Penelitian

Hasil pengamatan yang dilakukan dengan menghitung jumlah fibroblast pada gambar yang telah diambil sebelumnya. Hasil dari pengamatan tersebut dapat diamati pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata Jumlah Fibroblas

Kontrol Positif			Perlakuan			Kontrol Negatif		
Hari	Fibroblas	Rata-rata	Hari	Fibroblas	Rata-rata	Hari	fibroblas	Rata-rata
	61			71			230	
1	75	70.3	1	75	80	1	190	226.7
	75			94			260	
	73			198			113	
3	58	71.3	3	183	227	3	175	148.3
	83			300			157	
	95			210			195	
5	135	113.6	5	207	206	5	194	196.7
	111			201			201	
	136			246			230	
8	174	148.3	8	206	217.3	8	255	240.7
	135			200			237	

Tabel 2.

Uji Normalitas Berdasarkan Hari

Kelompok	Shapiro-Wilk			
	Statistic	Df	Sig	
Fibroblas	Hari 1	0.763	9	0.008
	Hari 3	0.007	9	0.487
	Hari 5	0.200	9	0.010
	Hari 8	0.002	9	0.265

Tabel 3.
Uji Normalitas Tindakan

Kelompok		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig
Fibroblas	Kelompok Negatif	0.943	12	0.544
	Kelompok Positif	0.906	12	0.188
	Kelompok Perlakuan	0.860	12	0.049

Tabel 4.
Hasil Uji Kruskal Wallis Berdasarkan Hari

Fibroblas	
Chi-square	7.1863
df	
Asymp. Sig.	.066

Tabel 5.
Hasil Uji Kruskal Wallis Berdasarkan Tindakan

Fibroblas	
Chi-square	15.4782
df	
Asymp. Sig.	.000

Tabel 1 menunjukkan terdapat perbedaan jumlah angka fibroblas pada hari ke 1, 3, 5, 8 dari tiap kelompok perlakuan, dimana jumlah fibroblas terbanyak pada hari ke -8 dan paling sedikit pada hari ke-1.

Tabel 2 dan Tabel 3 dari uji normalitas berdasarkan hari dapatkan hasil untuk hari 1, $p = 0,008$ dimana nilai $\text{sig} < 0,05$, maka data tersebut dikatakan berdistribusi tidak normal. Masing-masing dari kelompok hari dan kelompok tindakan memiliki distribusi tidak normal, maka syarat untuk dilakukan uji Two Way ANOVA tidak terpenuhi sehingga pengujian menggunakan Kruskal-Wallis.

Tabel 5 Hasil uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai $p = 0,066$ dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan jumlah sel fibroblas setiap hari.

Tabel 6 Hasil uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai $p = 0,000$ dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan jumlah sel fibroblas antara kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan perlakuan.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat dibahas sebagai berikut. Penelitian ini menggunakan 36 ekor tikus sebagai populasi yang dibagi dalam 4 kali pengambilan sampel. Penelitian dilakukan selama 2 bulan dengan kriteria penelitian dilihat dari peningkatan jumlah sel fibroblast dengan pengamatan proses penyembuhan luka pada gingiva menggunakan pengamatan histologi dengan metode pengukuran *diferensial counting*, yaitu menghitung jumlah sel fibroblas pada 3x lapang pandang dengan perbesaran 40x10.

Jumlah fibroblas mengalami kenaikan dari hari ke-1 sampai hari ke-8 yang dapat dilihat dari tabel 1, dimana kemungkinan masih terjadi proses inflamasi sehingga fibroblas yang bermigrasi ke arah luka belum terlihat banyak. Peningkatan angka fibroblas tetap terlihat pada hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5 dan hari ke-8. Hasil rata-rata hari ke-1 terpaut sangat banyak dengan rata-rata hari ke-3, ke-5 dan ke-8. Dari hasil pengamatan didapatkan bahwa jumlah fibroblas pada hari ke-8 pasca luka adalah yang paling banyak, dimana pada hari ke-8 jumlah fibroblas dengan aplikasi gel jinten hitam (*Nigella Sativa*) memiliki rata-rata yang paling tinggi jika dibandingkan dengan hari sebelumnya, yakni sebanyak 227.0. Hari ke-8 termasuk dalam fase poliseratif. Fibroblas terlihat sangat aktif dan dominan pada fase proliferaatif.

Tabel 2 dan Tabel 3 menunjukkan hasil bahwa tabel tidak menunjukkan distribusi yang normal. Hal ini karena terdapat sebaran data yang tidak normal. Sebaran data yang tidak normal tersebut disebabkan karena adanya hasil yang tidak konsisten, artinya bahwa jumlah fibroblast tidak mengalami peningkatan dengan baik. Hal tersebut bias disebabkan oleh beberapa faktor seperti kesalahan dalam perhitungan maupun dalam proses penelitian.

Tabel 5 menunjukkan uji normalitas berdasarkan hari yaitu uji yang dilakukan berdasarkan hari dari masing-masing kelompok tidak menunjukkan hasil yang signifikan. Ini menunjukkan tidak ada perbedaan jumlah fibroblast perhari pada setiap kelompok. Hasil tersebut menunjukkan adanya kesalahan dalam penelitian yang disebabkan oleh beberapa faktor.

Tabel 6 menunjukkan uji normalitas berdasarkan tindakan merupakan uji normalitas yang membandingkan jumlah fibroblast berdasarkan tindakan. Hasil dari uji normalitas berdasarkan tindakan menunjukkan hasil yang signifikan. Berarti dapat disimpulkan bahwa jumlah fibroblast mengalami peningkatan dari tiap kelompok.

Hal-hal yang dapat menyebabkan sebaran data yang tidak normal dapat disebabkan oleh beberapa hal, yaitu (Prahanarendra, 2015) :

1. Jaringan yang terlipat ini disebabkan oleh karena kesalahan dalam pemotongan jaringan. Pada saat meletakkan jaringan harus hati-hati karena jaringan dapat tergesek oleh alat pewarnaan sehingga jaringan dapat terlipat.
2. Terjadi dehidrasi yang dapat disebabkan karena waktu perpindahan terlalu lama sehingga terjadi pengerutan pada jaringan.

3. *Overstaining* adalah warna yang terlalu pekat pada saat pemangamatan menggunakan mikroskop. Hal ini terjadi karena waktu melakukan perwarnaan pada setiap jaringan berbeda sehingga pada waktu yang terlalu lama warna akan menjadi pekat.
4. Kesalahan operator dalam mengambil gambar jaringan maupun dalam menghitung jaringan.
5. Mutu ekstrak yang kurang memenuhi standar. Faktor-faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak yaitu kualitas bahan baku yang digunakan, jenis pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi, metode ekstraksi yang digunakan, suhu dan pH dalam ekstraksi (Hernani dkk, 2007).

KESIMPULAN

Hasil dari penelitian pengaruh pemberian gel biji jintan hitam (*Nigella Sativa*) pada proses penyembuhan luka gingival *di tinjau dari jumlah sel fibroblas* dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Gel jintan hitam mempunyai zat aktif yang dapat meningkatkan jumlah sel fibroblast.
2. Kontrol positif yaitu aloclair meningkatkan dapat meningkatkan jumlah sel fibroblast setiap harinya secara signifikan.
3. Perhitungan dengan menggunakan metode secara manual dapat mempengaruhi hasil dari perhitungan.

SARAN

1. Perlu diteliti lebih lanjut tentang zat aktif pada jintan hitam agar mengetahui lebih lanjut manfaat dari jintan hitam.
2. Perlu dilakukan perhitungan kembali menggunakan alat perhitungan yang lebih diteliti.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, B., & Hossein Hosseinzadeh. (2016). *Black Cumin (Nigella sativa) and Its Active Constituent, Thymoquinone: An Overview on the Analgesic and Anti-inflammatory Effect*. 8-16.
- Atik, & Januarsih Iwan A. R. (2009). *perbedaan efek pemberian topikal gel lidah buaya dengan solusio povidone iodine terhadap penyembuhan luka sayat pada kulit mencit*.
- Bloom, & Fawcett. (2002). *Buku Ajar Histologi*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Dewi dkk. (2013). Bioaktivitas Ekstrak Daun Tapak Dara Terhadap Periode Epitelisasi dalam Proses Penyembuhan Luka pada Tikus Wistar. 58-75.
- Janquiera, L. C. (2007). *Histologi Dasar*. Jakarta: EGC Penerbit bukuuuku Kedokteran.

Prahanrendra, G. (2015). *Gambaran Histologi Organ Ginjal, Hepar dan Pankreas Tikus Sprague Dawley dengan Perwarnaan HE dengan Fiksasi 3 Minggu*. Studi awal : UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

Sulistiawati. (2011). *Pemberian Ekstrak Lidah Buaya (Aloe Vera) konsentrasi 75% Lebih Menurunkan Jumlah Makrofag Daripada Konsentrasi 50% dan 25% Pada Radang Mukosa Mulut Tikus Putih Jantan*.

Taylor dkk. (2006). *Fundamental of Nurshing, The Art and Science of Nurshing Care*. Philadelphia : Lippincot Williams & Wilkin

