

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

Penelitian mengenai pengaruh pemberian gel biji jintan hitam (*Nigella sativa*) pada proses penyembuhan luka gingiva terhadap jumlah sel limfosit telah dilakukan. Perhitungan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 40x10 dengan 10x lapang pandang pada masing-masing preparat histologis. Hasil perhitungan limfosit berupa rerata jumlah limfosit pada masing-masing kelompok yaitu kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif pada pengamatan hari ke 1, 3, 5, dan 8 disajikan pada Tabel I.

Tabel I. Hasil perhitungan angka limfosit dan rata-rata jumlah limfosit

I. Kontrol positif			II. Perlakuan			II. kontrol negatif		
Hari	Limfosit	Rerata	Hari	Limfosit	Rerata	Hari	Limfosit	Rerata
1	73	123.3333	1	74	71.3333	1	50	58.3333
	107			64			85	
	190			76			40	
3	178	167.000	3	75	75.3333	3	77	67.6667
	154			61			77	
	170			90			49	
5	105	142.3333	5	100	138.000	5	65	73.3333
	137			117			75	
	185			197			80	
8	199	164.000	8	130	138.3333	8	70	67.3333
	174			100			80	
	119			185			53	

Berdasarkan rerata jumlah sel limfosit pada tabel I, dapat dilihat bahwa pada hari ke-1, kelompok kontrol positif memiliki jumlah sel terbanyak dengan rerata 123.3333, kelompok perlakuan sebanyak 71.3333 dan kelompok kontrol negatif sebanyak 58.3333. Hari ke-3 kelompok yang mengalami peningkatan jumlah sel limfosit paling tinggi adalah kelompok kontrol positif dengan rerata 167.000, kemudian kelompok perlakuan memiliki rerata jumlah sel limfosit yang lebih rendah, yaitu 75.3333. kelompok kontrol negatif merupakan kelompok dengan rerata jumlah sel limfosit yang paling rendah dengan rerata 67.6667.

Pada hari ke-5 rerata jumlah sel limfosit kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif mengalami peningkatan jumlah sel, sedangkan pada kelompok kontrol positif mengalami penurunan jumlah sel. Namun, pada kelompok kontrol positif tetap memiliki rerata jumlah sel limfosit yang paling tinggi, yaitu 142.3333. Kelompok perlakuan memiliki rerata jumlah sel limfosit yang lebih rendah dibandingkan kontrol positif, yaitu 138.000. Kelompok kontrol negatif memiliki rerata jumlah sel limfosit paling rendah pada hari ke-5, dengan rerata 73.3333.

Pada hari ke-8, jumlah sel limfosit mengalami peningkatan pada kelompok kontrol positif dengan rerata 164.000 dan kelompok perlakuan dengan rerata 138.3333, sedangkan pada kelompok kontrol negatif mengalami penurunan dengan rerata 67.3333.

Tabel II. Selisih Rata-rata Hasil Perhitungan Jumlah sel Limfosit

Hari	Positif-Negatif	Jintan Hitam-Negatif
1	65	13
3	99,34	7,67
5	69	64,67
8	96,67	71
Total	330,01	156,34

Total selisih rata-rata hasil perhitungan jumlah sel limfosit pada tabel II didapatkan bahwa selisih lebih besar terjadi antara kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif dengan jumlah 330,01, dibandingkan dengan selisih antara kelompok perlakuan jintan hitam dengan kontrol negatif dengan jumlah 156,34.

Perhitungan rerata jumlah sel limfosit yang diperoleh kemudian diuji normalitasnya untuk mengetahui data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Teknik yang digunakan untuk menguji normalitas adalah uji *Shapiro-Wilk*.

Tabel III. Uji Normalitas Berdasarkan Hari

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig
Limfosit	Hari 1	0.796	9	0.018
	Hari 3	0.834	9	0.050
	Hari 5	0.902	9	0.262
	Hari 8	0.936	9	0.542

Dari uji normalitas berdasarkan hari didapatkan hasil untuk hari ke-1,  $p = 0,018$  dimana nilai  $\text{sig} < 0,05$ , maka data tersebut dikatakan berdistribusi tidak normal. Hari ke-3 didapatkan hasil  $p = 0,050$  maka data berdistribusi tidak

normal. Hari ke 5 didapatkan  $p = 0,262$  maka data tersebut dikatakan berdistribusi normal. Hari ke 8 didapatkan  $p = 0,542$  maka data tersebut berdistribusi normal. Keempat kelompok berdasarkan pada hari terdapat 2 kelompok yang memiliki data distribusi normal yaitu hari ke-5 dan hari ke-8, sedangkan hari ke-1 dan hari ke-3 data tidak terdistribusi normal.

Tabel IV. Uji Normalitas Tindakan

Kelompok		Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig
Limfosit	Kelompok Positif	0.926	12	0.336
	Kelompok Perlakuan	0.845	12	0.032
	Kelompok Negatif	0.894	12	0.133

Dari uji normalitas berdasarkan tindakan dapatkan hasil untuk kelompok positif,  $p = 0,336$ , maka data tersebut dikatakan berdistribusi normal. Kelompok perlakuan didapatkan hasil  $p = 0,032$ , maka data berdistribusi tidak normal. Kelompok kontrol negatif didapatkan  $p = 0,133$ , maka data tersebut berdistribusi normal. Ketiga kelompok berdasarkan pada tindakan terdapat 2 kelompok yang memiliki data distribusi normal yaitu kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif, sedangkan data tidak terdistribusi normal pada kelompok perlakuan.

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 V. Hasil Uji Kruskal Wallis Berdasarkan Hari

	Limfosit
Chi-Square	3.447
Df	2
Asymp. Sig	0.178

Hasil uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai  $p = 0,178$  dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan jumlah sel Limfosit setiap hari.

Tabel VI. Hasil Uji Kruskal Wallis Berdasarkan Tindakan

	Limfosit
Chi-Square	16.566
Df	2
Asymp. Sig.	0.000

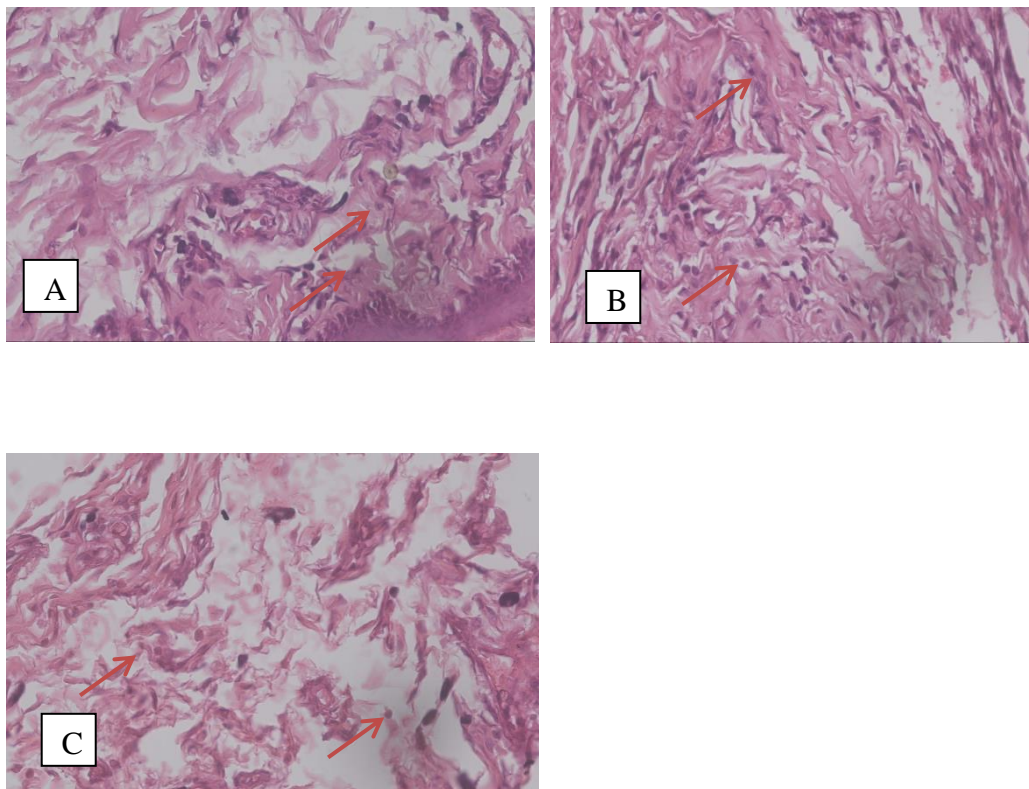
Hasil uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai  $p = 0,000$  dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan jumlah sel Limfosit antara kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dan perlakuan.

Tabel VII. Hasil Uji Post Hoc

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Perbedaan Mean (I-J)	Std. Error	Sig.
Jintan	Negatif	39,0000*	13,39845	,020
	Positif	-43,5000*	13,39845	,009
Negatif	Jintan	-39,0000*	13,39845	,020
	Positif	-82,5000*	13,39845	,000
Positif	Jintan	43,5000*	13,39845	,009
	Negatif	82,5000*	13,39845	,000

Hasil uji *Post Hoc* diperoleh nilai. Sig. < 0,05 ditemukan pada masing-masing kelompok berarti hubungan antar variabel tersebut memiliki perbedaan *mean* secara nyata. Kesimpulan yang dapat diambil adalah ada pengaruh pemberian gel biji jantan hitam terhadap jumlah sel limfosit pada gingiva hewan uji.

Berikut ini gambar dari sel limfosit pada gingiva tikus wistar yang telah diaplikasi bahan, (A) kelompok kontrol positif dengan aloclair gel, (B) kelompok perlakuan dengan gel biji jantan hitam dan (C) kelompok kontrol negatif dengan CMC-Na.



**Gambar 4. Gambaran histologis sel limfosit pada (A) Kelompok kontrol positif, (B) Kelompok perlakuan, (C) Kelompok kontrol negatif**

Keterangan pada tanda panah merupakan merupakan sel limfosit. Saat dilakukan pewarnaan dengan menggunakan HE sel limfosit akan tampak bulat, ungu dan inti hampir memenuhi seluruh sel. Gambar terlihat kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan memiliki jumlah sel limfosit yang lebih banyak jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

## **B. Pembahasan**

Penelitian dilakukan dengan pemberian gel biji jintan hitam (*Nigella Sativa*) konsentrasi 10% pada gingiva labial tikus *Wistar* yang sebelumnya telah dibuat luka dengan scalpel sepanjang 5 mm. Preparat histologis yang dibuat kemudian diamati jumlah sel limfositnya dan dibandingkan dengan jumlah sel limfosit dari kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif.

Tabel I menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan mengalami peningkatan jumlah sel limfosit dengan rerata yang lebih tinggi daripada kelompok kontrol negatif. Hal ini dapat terjadi karena pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan telah diaplikasikan bahan yang berperan dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Kelompok kontrol negatif yang diaplikasikan CMC-Na terdapat peningkatan rerata jumlah sel, hal tersebut terjadi karena secara normal pada saat proses penyembuhan luka, jumlah sel limfosit akan meningkat walaupun tidak diberikan obat. Hal ini terjadi sama seperti penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, menyatakan bahwa limfosit akan bermigrasi ke

daerah yang mengalami inflamasi mencapai puncaknya pada hari ketiga sampai hari ke enam (zayyan, 2016). Namun berdasarkan hasil perhitungan jumlah sel pada tabel I, kelompok positif mengalami penurunan pada hari kelima hal ini dapat disebabkan oleh kesalahan seperti dalam pemeliharaan hewan coba dan pembuatan preparat yang kurang tepat.

Pada hari ke-3 berdasarkan tabel I, rerata jumlah sel limfosit kelompok kontrol positif merupakan rerata yang paling tinggi, diikuti jumlah rerata kelompok perlakuan sedangkan kelompok kontrol negatif memiliki rerata yang paling rendah. Hal ini dapat disimpulkan bahwa migrasi sel limfosit lebih banyak terjadi pada kelompok kontrol positif, dapat disebabkan karena perbedaan kandungan zat yang terdapat pada kedua kelompok. Kelompok kontrol positif lebih efektif mempercepat penyembuhan luka dibandingkan dengan kelompok perlakuan.

Kelompok kontrol positif yang diuji dengan menggunakan gel aloclair mengalami peningkatan yang paling tinggi jika dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hal ini bisa disebabkan karena aloclair merupakan gel dengan bahan dasar lidah buaya (*Aloe vera*) yang mampu meningkatkan pembentukan kolagen dan re-epitelisasi sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Kandungan dari lidah buaya antara lain tanin, saponin, flavonoid, vitamin A, vitamin E dan asam amino yang berperan dalam regenerasi sel-sel sehingga dapat mempengaruhi migrasi sel limfosit ke arah perlukaan (Kulsum, 2015). *Aloe vera* mampu meningkatkan fungsi fibroblas dan mempercepat pembentukan epidermis sehingga penyembuhan luka



dapat berlangsung lebih cepat. Selain *Aloe vera*, di dalam aloclair gel juga terdapat sodium hyaluronate, glycyrrhizic acid, dan polyvinylpyrrolidone (PVP) yang memiliki wound healing effect. Polyvinylpyrrolidone yang terdapat pada aloclair membentuk lapisan di atas ulkus sehingga mampu melindungi ujung saraf kemudian akan mengurangi rasa nyeri pada ulkus. Sodium hyaluronat berfungsi untuk mendukung proses penyembuhan luka secara alami pada jaringan yang mengalami kerusakan (Agusmawanti, 2016).

Kelompok perlakuan yang diberi gel jintan hitam juga mengalami peningkatan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif meskipun peningkatan yang terjadi tidak secepat kelompok kontrol positif. Kelompok perlakuan mengalami peningkatan secara bertahap jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Seperti pada *Aloe vera*, jintan hitam juga mengandung zat alami seperti saponin dan flavonoid yang mampu meregenerasi sel. Zat aktif yang terkandung didalam jintan hitam antara lain saponin, flavonoid dan thymoquinone. Selain meregenerasi sel, saponin memiliki kemampuan untuk membersihkan luka secara efektif, sedangkan flavonoid dapat berfungsi sebagai antiseptik (Puspitasari, 2016). Thymoquinone yang terdapat pada jintan hitam memiliki kemampuan sebagai imunomodulator, yaitu suatu senyawa yang dapat meningkatkan sistem imun manusia.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, telah dibuktikan bahwa jintan hitam mampu meningkatkan jumlah sel limfosit dengan melakukan

pemberian serbuk biji jintan hitam kepada probandus dengan dosis 1 gram 2 kali sehari selama 4 minggu, hasilnya didapatkan serbuk biji jintan hitam tersebut mampu meningkatkan limfosit T-helper dan jumlah serta fungsi T-killer (el Kadi et all 1990). Sel limfosit berperan dalam sistem perlindungan tubuh dengan cara mensintesis dan mensekresi antibodi atau imunoglobulin sebagai respon terhadap keberadaan benda asing. Apabila terjadi peningkatan jumlah sel limfosit maka akan terjadi produksi limfokin yang dapat meningkatkan kemampuan sel lain yang berperan dalam inflamasi, seperti membantu migrasi makrofag ke area luka sehingga pembersihan zat asing di area luka akan berlangsung lebih cepat (Roeslan, 2002).

Pada hari ke-5 berdasarkan tabel I, kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif mengalami peningkatan jumlah limfosit sedangkan kelompok kontrol positif mengalami penurunan meskipun rerata selnya masih lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol negatif. Pada hari ke-8 kelompok kontrol positif mengalami peningkatan jumlah sel dan jumlah sel limfosit pada kelompok perlakuan mencapai puncaknya dengan peningkatan tertinggi. Sedangkan, pada kelompok kontrol negatif mengalami penurunan rerata jumlah sel limfosit.

Penurunan jumlah sel limfosit yang terjadi pada penelitian ini bisa disebabkan oleh beberapa faktor

1. Hewan coba

Peneliti tidak menimbang berat badan akhir pada tikus wistar, karena hal ini dapat dijadikan indikator untuk mengetahui apakah tikus wistar menderita stres. Keadaan stres dapat mengurangi nafsu makan hewan coba, sehingga asupan nutrisi yang diperlukan pada saat penyembuhan luka berkurang. Faktor lain yang dapat mengurangi nafsu makan bisa disebabkan karena tikus tidak merasa nyaman dengan perlukaan pada gingivanya karena perih saat digunakan untuk makan.

## 2. Pembuatan preparat

Kesalahan yang dilakukan pada saat fiksasi tidak dapat diperbaiki lagi pada tahap selanjutnya. Hasil histologi yang baik tergantung pada cara melakukan fiksasi. Selain itu bisa juga disebabkan karena kesalahan dalam pemotongan jaringan. Tebal jaringan sebaiknya 3-5 mm agar cairan fiksasi dapat memfiksasi seluruh jaringan dengan cepat.

Hasil uji kruskal wallis berdasarkan tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antara masing-masing kelompok. Terdapat perbedaan jumlah sel limfosit antara kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan, dan kelompok kontrol negatif. Perbedaan ini disebabkan karena perbedaan pengaruh bahan pada proses penyembuhan luka. Selisih rerata jumlah sel limfosit pada tabel II. didapatkan selisih terbesar pada kelompok kontrol positif–kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok perlakuan jintan hitam–kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan

aloclair gel lebih efektif dalam meningkatkan jumlah sel limfosit dibandingkan dengan gel biji jintan hitam. Uji *Post Hoc* yang diperoleh menunjukkan bahwa ada pengaruh signifikan pemberian aloclair gel dan gel biji jintan hitam terhadap peningkatan jumlah sel limfosit dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Pada gambaran histopatologi, apabila terdapat paparan patogen atau substansi asing seperti pada saat terjadinya perlukaan, maka sel-sel radang akan bermigrasi ke tempat terjadinya luka, sel yang pertama kali bermigrasi adalah neutrofil yang merupakan sel imun non spesifik. Bila keadaan sudah terkontrol, maka sel neutrofil berhenti bermigrasi ke area luka kemudian akan berdegenerasi. Setelah itu, akan terjadi migrasi sel-sel inflamasi seperti makrofag, eosinofil, dan limfosit sebagai respon pertahanan host (Baratawidjaja, 2004). Makrofag memiliki kemampuan fagositosis lebih besar dibandingkan neutrofil, apabila terdapat sel asing yang tidak mampu terfagositosis oleh neutrofil, maka kerja fagositosis akan dilanjutkan oleh makrofag.

Pergerakan dari makrofag akan dipengaruhi oleh limfokin yang dihasilkan limfosit. Peningkatan pada jumlah sel limfosit akan menghasilkan limfokin sehingga mampu meningkatkan aktivitas sel makrofag dalam fagositosis. Limfosit melakukan migrasi secara kontinu antara darah dan jaringan limfe untuk menemukan antigen asing dengan cepat (Jeremy, 2009). Limfosit akan teraktivasi setelah PMN

(polymorphonuclear) memfagositosis bakteri, kemudian bermigrasi ke area yang mengalami inflamasi (Veryani, 2016).

Jenis limfosit yang terlibat dalam inflamasi adalah limfosit T dan limfosit B. Limfosit T dapat mengeluarkan substansi limfokin. Limfokin tersebut memiliki pengaruh yang penting untuk sel-sel yang terlibat dalam fase inflamasi. Limfokin yang dihasilkan dari limfosit T mampu menstimulasi dan mengaktifkan makrofag untuk melakukan fungsi fagositik (Lesson dkk,1998).