

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

*(di tinjau dari jumlah sel limfosit)*

## ***Effect of Black Cumin Seed (*Nigella sativa*) Gel to the Gingiva Healing Process***

*(reviewed from the number of lymphocyte cells)*

Denti Elitasari<sup>1</sup>, Ika Andriani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter Gigi FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

<sup>2</sup>Dosen Pembimbing Program studi Pendidikan Dokter Gigi FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta  
denti.elitasari@gmail.com

### **Abstrak**

Perluasan merupakan rusaknya jaringan tubuh yang disebabkan oleh adanya trauma benda tajam maupun benda tumpul. Perluasan yang terjadi akan selalu diikuti dengan proses penyembuhan luka sehingga keadaan jaringan dapat pulih kembali seperti semula. Pada fase inflamasi penyembuhan luka melibatkan sel seperti limfosit yang mampu menghasilkan limfokin sehingga meningkatkan kemampuan fagositosis sel inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel biji jintan hitam (*Nigella sativa*) pada proses penyembuhan luka gingiva ditinjau dari jumlah sel limfosit.

Penelitian ini dilakukan pada 36 ekor tikus wistar jantan berumur 3-4 bulan dengan berat 200-250 gram. Gingiva labial tikus diberi perluasan sepanjang 5mm dengan menggunakan scalpel. Tiga puluh enam ekor tikus dibagi dalam 3 kelompok yaitu kelompok kontrol positif (gel aloclair), kelompok perlakuan (gel biji jintan hitam), dan kelompok kontrol negatif (CMC-Na). Tiga ekor tikus dari setiap kelompok didekapitasi pada hari ke-1, 3, 5 dan 8. Sediaan histologis didapatkan dari pengambilan jaringan luka yang diberikan pewarnaan dengan *Hematoksin Eosin*. Jumlah sel limfosit dihitung dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 40x10 dengan 10x lapang pandang. Hasil perhitungan sel dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis.

Hasil penelitian didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif, namun didapatkan hasil yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) berdasarkan pada masing-masing hari yaitu hari ke-1,3,5,dan 8 setelah perluasan dan aplikasi bahan. Penelitian menunjukkan bahwa gel biji jintan hitam (*Nigella*

*sativa*) dapat meningkatkan jumlah sel limfosit dalam proses penyembuhan luka gingiva tikus wistar.

Kata kunci : gel biji jintan hitam, proses penyembuhan luka, sel limfosit

### ***Abstract***

The injury is the destruction of tissue caused by trauma of sharp objects or blunt objects. The injuries that occur will always be followed by the wound healing process then the tissue can be recovered again as before. In the inflammatory phase, wound healing involves cells such as lymphocytes which able to produce lymphokines that increase the ability of inflammatory cell phagocytosis. This research aims to determine the effect of black cumin seed gel (*Nigella sativa*) on the wound healing process of gingival based on the number of lymphocyte cell.

This research was conducted on 36 male wistar rats aged 3-4 months with weighing 200-250 grams. Gingiva labial of the rats were injured for 5 mm using scalpel. The 36 rats were divided into 3 groups which were the positive control group (alclair gel), the treatment group (black cumin seed gel), and the negative control group (CMC-Na). Three rats from each groups were decapitated at day 1, 3, 5, and 8. Histologic preparations were obtained from the wound tissue staining with *Hematoxylin Eosin*. The number of lymphocytes cells was counted using light microscope, 40x10 magnification in 5 fields of view. The cell counted results was analyzed using Kruskal-Wallis test.

The result showed that there were significant differences ( $p < 0,05$ ) between the positive control group, the treatment group and the negative group, but the results were not significant ( $p > 0,05$ ) based on each day, which were day 1, 3, 5, and 8 after the injury and the application of the substances. Research shows that black cumin seed gel (*Nigella sativa*) increased the number of lymphocyte cells in wound healing process of gingival wistar rats.

Keyword : black cumin seed gel, wound healing process, lymphocyte cell

## **PENDAHULUAN**

Luka merupakan rusaknya jaringan tubuh yang disebabkan oleh trauma benda tajam ataupun tumpul yang bisa juga disebabkan oleh zat kimia, perubahan suhu, dan sengatan listrik (Sjamsuhidajat, 2005). Luka di rongga mulut dapat disebabkan oleh agen-agen fisik, misalnya makanan, benda tajam, dan terbakar. Setelah terjadi luka, akan diikuti oleh proses penyembuhan luka. Penyembuhan luka adalah respon alami pengembalian jaringan luka menuju keadaan semula.

Proses penyembuhan luka terdiri dari beberapa fase yaitu, hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan maturasi (Mackay dan Miller, 2003).

Fase inflamasi akan memperlihatkan tanda dan gejala klinis menjadi jelas berupa kemerahan karena kapilernya melebar (rubor), rasa hangat (kalor), nyeri (dolor), dan pembengkakan (tumor) (Sjamsuhidajat, 2005). Tujuan dari inflamasi adalah sebagai perlindungan dan membersihkan atau membuang penyebab cedera (seperti toksin dan mikroba) maupun kerusakan yang ditimbulkan seperti sel atau jaringan yang nekrotik, tanpa adanya inflamasi suatu infeksi yang disebabkan oleh luka akan tetap berlangsung dan tidak akan sembuh. Respon inflamasi pada jaringan ikat akan melibatkan komponen plasma, dan sel darah yang bersirkulasi yaitu neutrofil, monosit, eosinofil, limfosit, basofil dan trombosit (Sabirin dkk, 2013).

Saat fase inflamasi, makrofag berfungsi sebagai fagositosis mikroorganisme patologis dan membersihkan jaringan nekrotik, sehingga pada fase ini jumlah makrofag akan meningkat (Hidayati dkk, 2015). Pergerakan dari makrofag akan dipengaruhi oleh limfokin yang dihasilkan oleh sel limfosit. Sel limfosit memproduksi 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).

Zat aktif yang terdapat pada jintan hitam antara lain adalah *thymoquinone*, saponin, dan flavonoid. *Thymoquinone* merupakan zat aktif utama dari minyak atsiri jintan hitam. *Thymoquinone* dapat berfungsi sebagai anti inflamasi antimikroba dan imunomodulator, dalam mekanismenya sebagai antimikroba, *thymoquinone* akan membentuk kompleks yang irreversible dengan asam amino nukleofilik pada protein bakteri sehingga menyebabkan inaktivasi protein (Putra, 2015). Kandungan saponin yang terdapat pada jintan hitam (*Nigella sativa*) adalah 36% -38%. Saponin memiliki mekanisme antiinflamasi dengan cara menghambat histamin, bradikinin, dan serotonin (Rizki dkk, 2015). flavonoid dapat meningkatkan ekspresi reseptor *Insulin Like Growth Factor* (IGF-1) sebagai mediator proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen (Sabirin dkk, 2013). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh gel biji jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap jumlah sel limfosit pada fase inflamasi penyembuhan luka gingiva.

## **METODE PENELITIAN**

Pembuatan ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa*) dilakukan dengan metode maserasi dengan bahan pelarut etanol 70%. Biji jintan hitam 2 kg dibersihkan dengan cara dicuci, kemudian dikeringkan selanjutnya biji jintan hitam diblender dan disaring untuk diambil serbuknya. Serbuk direndam dalam etanol 70% selama 24 jam dan disaring dua kali hingga didapatkan ekstrak kental

100%. Larutan yang diperoleh dipanaskan pada suhu 80°C hingga menguap dan menyisakan ekstrak kental atau pekat.

Gel biji jintan hitam (*Nigella sativa*) terdiri dari ekstrak biji jintan hitam dan gelling agent. Gelling agent menggunakan bahan *Sodium CMC* 3 gram (5%) dan aquades 60 ml (10%) steril. CMC-Na ditimbang seberat 3 gram, dimasukkan kedalam 3 gelas ukur, masing-masing berisi 1 gram. CMC-Na dilarutkan dengan aquades sebanyak 17 ml untuk gel, kemudian ditambahkan ekstrak biji jintan hitam sebanyak 2 gram untuk mendapatkan gel berkonsentrasi 10%. Ekstrak dimasukkan kedalam gelas beker dan menyatukannya dengan serbuk CMC-Na, kemudian diaduk hingga membentuk massa gel, 20 gram gel ekstrak biji jintan hitam berkonsentrasi 10% yang menjadi padat telah didapatkan, kemudian disimpan didalam lemari es bersuhu 4-6°C.

Tikus diadaptasikan dahulu selama satu minggu sebelum perlakuan. Hewan uji yang berjumlah 36 ekor dibagi dalam 3 kelompok, yaitu 12 ekor kelompok kontrol positif (diaplikasikan Aloclair), 12 ekor kelompok perlakuan (diaplikasikan gel biji jintan hitam konsentrasi 10%), 12 ekor kelompok kontrol negatif (diaplikasikan vaselin). Masing-masing bahan diaplikasikan secara topikal 2 kali sehari, pagi dan sore. Tikus dibius kemudian diberikan perlukaan sepanjang 5 mm dengan menggunakan scalpel pada gingiva 36 ekor tikus, kemudian diaplikasikan bahan sesuai dengan kelompok perlakuan. Tiga ekor tikus dari masing-masing kelompok dikorbankan pada hari pertama, ketiga, kelima, dan kedelapan untuk didekapitasi dan dibuat preparat.

Pembuatan sediaan histopatologi dilakukan dengan mengambil jaringan gingiva pada daerah perlukaan. Jaringan difiksasi menggunakan *buffer* formalin 10% maksimum selama 24 jam. Setelah itu, jaringan yang telah dipotong dimasukkan kedalam *automatic tissue processor*, kemudian dehidrasi dengan alkohol 99%. Setelah itu, prosedur penanaman dengan infiltrasi parafin cair pada suhu 57-59°C kedalam kotak parafin untuk mengisi rongga dalam jaringan yang ditempati oleh air sehingga terbentuk blok parafin. Blok parafin dimasukkan kedalam *freezer* untuk didinginkan agar tidak terlalu lunak, kemudian dari setiap blok parafin dilakukan pengirisan jaringan setebal 3-4  $\mu\text{m}$  menggunakan *mikrotom*.

Irisan jaringan dimasukkan kedalam *water bath* pada suhu sekitar 50°C, setelah itu diinkubasikan pada *hot plate* suhu 40-50°C selama 15 menit untuk menguapkan air pada jaringan. Sisa-sisa alkohol dibersihkan dengan membasuh preparat dibawah air mengalir lalu mengaplikasikan cat HE yang memberi warna biru pada inti sel, membilas dibawah air mengalir untuk menghilangkan sisa cat, kemudian eosin sebagai bahan *counter stain* memberikan warna merah sebagai kontras. Tahap selanjutnya melakukan *clearing xylol* untuk memberikan warna bening pada jaringan dan *mounting* agar preparat awet serta menambah kejernihan. Tahap selanjutnya untuk melihat ada atau tidaknya sel limfosit pada perlukaan gingiva maka dilakukan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE). Prosedur

pewarnaan HE adalah deparafinisasi dengan menggunakan larutan xylol dan alkohol. Selanjutnya, proses pewarnaan dilanjutkan dengan memasukkan kaca benda kedalam eosin serta dibilas menggunakan aquades. Pewarnaan dinilai dibawah mikroskop cahaya. Langkah selanjutnya dimasukkan kedalam larutan xylol dan terakhir *objek glass* ditutup dengan *deck glass* dan dilakukan pengamatan mikroskop cahaya. Interpretasi hasil dilakukan dengan pengamatan proses penyembuhan luka pada gingiva menggunakan pengamatan histologi dengan metode pengukuran *diferensial counting*, yaitu menghitung jumlah sel limfosit pada 10x lapang pandang dengan perbesaran 40x10.

## HASIL PENELITIAN

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 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
	73			74			50	
1	107	123.3333	1	64	71.3333	1	85	58.3333
	190			76			40	
	178			75			77	
3	154	167.000	3	61	75.3333	3	77	67.6667
	170			90			49	
	105			100			65	
5	137	142.3333	5	117	138.000	5	75	73.3333
	185			197			80	
	199			130			70	
8	174	164.000	8	100	138.333	8	80	67.3333
	119			185			53	

Tabel I menunjukkan terdapat perbedaan rerata jumlah sel limfosit antara kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif, dapat disimpulkan bahwa pada hari ke-3 kelompok yang mengalami peningkatan jumlah sel limfosit paling tinggi adalah kelompok kontrol positif. 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. Pada hari ke-8, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan mengalami peningkatan jumlah sel limfosit.

Perhitungan rerata jumlah sel limfosit yang diperoleh kemudian diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro-Wilk*. Analisis data yang digunakan adalah anova jika hasilnya normal, tetapi hasil uji berdasarkan 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 II. 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 III. 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 negatif, kontrol positif dan perlakuan berdasarkan tindakan.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan tabel I menunjukkan bahwa terdapat kelompok yang mengalami peningkatan maupun penurunan jumlah sel limfosit baik dari hari ke-3, hari ke-5 maupun dari hari ke-8. 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. 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. Peningkatan yang terjadi pada sel limfosit ini secara normal berlangsung pada saat proses penyembuhan luka.

Paparan patogen atau substansi asing yang terdapat pada perlukaan menyebabkan 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 akan teraktivasi setelah PMN memfagositosis bakteri, kemudian bermigrasi ke area yang mengalami inflamasi (Veryani, 2016).

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). Selain *Aloe vera*, di dalam aloclair gel juga terdapat sodium hyaluronate, glycyrrhithnic acid, dan polyvinylpyrrolidone (PVP) yang memiliki wound healing effect.

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. 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 tikus tidak merasa nyaman dengan perlakuan 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.

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).

### **KESIMPULAN**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian gel biji jintan hitam (*Nigella Sativa*) 10% meningkatkan jumlah limfosit pada hari ke-1 hingga hari ke-8 dan berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai  $p = 0,000$  dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan jumlah sel Limfosit antara kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif. Hal ini membuktikan bahwa gel jintan hitam (*nigella Satiava*) berpengaruh terhadap peningkatan sel Limfosit pada proses penyembuhan luka gingiva pada tikus putih wistar (*Ratus Norvegicus*).

## **SARAN**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Perlu dilakukan variasi dosis gel jintan hitam untuk mendapatkan angka penyembuhan tahap awal yang lebih bermakna.
2. Perlu dilakukan penelitian dengan variasi sediaan lain agar manfaat dari jintan hitam dapat dimanfaatkan khususnya untuk kesehatan terutama bagi kesehatan gigi dan mulut.
3. Penelitian ini diharapkan menjadi langkah awal untuk penelitian tahap klinik pada manusia.

## **DAFTAR PUSTAKA**

1. Aldi, Y., & Suharti. (2011). Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (*Nigellasativa* Linn.) terhadap titer antibodi dan jumlah sel leukosit pada mencit putih jantan. *Scientia Vol. 1*.
2. Baratawidjaja, K. (2004). *Imunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
3. Veryani, J. R., Fatimatuzzahro, N., & P, R. C. (2016). Efek Paparan *Streptococcus Mutans* Terhadap Jumlah Sel PMN, Limfosit dan Makrofag pada Pulpa Gigi. *Prosding The 3rd Dentistry Scientific Meeting of Jember*.
4. Kulsum , U., Hendari, R., & Chumaeroh, S. (2015). Pengaruh Pemberian Gel Kombinasi Ekstrak Getah Pepaya (*Carica Papaya* L) dan Ekstrak Daging Lidah Buaya (*Aloe vera*) terhadap Proses Penyembuhan Ulkus Traumatikus pada Male Wistar Rats yang Menderita Diabetes Melitus. *Odonto Dental Jurnal* , 41-46.
5. Lesson, R. C. (1998). *Buku Ajar Histologi*. Jakarta: EGC.
6. Mariam, A., & Abu-Al-Basal. (2011). Influence of *Nigella sativa* Oil on some Blood Parameters and Histopathology of skin in Staphylococcal-Infected BALB/c Mice. *Pak J Biol Sci 14 (23)*, 1038-1046.
7. Puspitasari, R., Sunyoto, & Arrosyid, M. (2016). Uji Efektifitas Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Mencit Jantan (*Mus muscullus*) galur Swiis. *CERATA Journal Of Pharmacy Science*, 1-6.

8. Randhawa, M. A., & Alghamdi, M. S. (2002). A Review of the Pharmacotherapeutic effects of *Nigella sativa*. *Pakistan journal of medical research* 41(2), 77-83.
9. Roeslan, B. O. (2002). *Imunologi Oral Kelainan dalam Rongga Mulut*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
10. Zayyan, A. B., Nahzi, M. Y., & O, I. K. (2016). Pengaruh Ekstrak Kulit manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Terhadap Jumlah Sel Limfosit Pada Inflamasi Pulpa. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*, 140-145.