

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian gel biji jintan hitam (*Nigella sativa*) terhadap jumlah sel Neutrofil pada proses penyembuhan luka gingiva. Hasil penelitian dapat diperlihatkan dalam tabel 1. berikut:

Tabel 1. Hasil Perhitungan Angka Neutrofil

Kontrol negatif		Kontrol positif		Perlakuan		
Hari	Neutrofil	Rata-rata	Neutrofil	Rata-rata	Neutrofil	Rata-rata
1	120	150.00	148	147.00	134	113.00
	130		130		103	
	200		163		102	
3	125	100.00	126	103.33	76	70.00
	98		99		70	
	77		85		64	
5	91	82.33	60	57.33	77	56.33
	83		58		45	
	73		54		47	
8	50	43.33	46	42.67	28	26.33
	42		44		36	
	38		38		15	

Berdasarkan hasil perhitungan Neutrofil pada tabel 1., terdapat perbedaan jumlah Neutrofil pada hari ke 1, 3, 5, 8 dari tiap kelompok perlakuan. Ditinjau dari hari penelitian pada seluruh kelompok perlakuan, jumlah neutrofil terbanyak ditemukan pada hari pertama dan berangsur-

angsur menurun hingga jumlah terendah terhitung pada hari terakhir penelitian atau hari ke delapan.

Rata-rata terendah pada hari pertama, ketiga, kelima, dan kedelapan seluruhnya dimiliki oleh kelompok perlakuan gel biji jintan hitam. Sedangkan rata-rata jumlah neutrofil tertinggi pada hari pertama, kelima, dan kedelapan dimiliki oleh kelompok kontrol negatif kecuali pada hari ketiga dimiliki kelompok kontrol positif.

Tabel 2. Selisih Rata-Rata Hasil Perhitungan Jumlah Neutrofil

Hari	Positif - Negatif	Jintan – Negatif
1	-3,00	-37,00
3	3,33	-30,00
5	-25,00	-26,00
8	-0,66	-17,00
Total	-28,66	-110,00

Total selisih rata-rata hasil perhitungan jumlah neutrofil terbesar adalah selisih antara perlakuan gel jintan hitam dengan kontrol negatif dengan jumlah 110, dibandingkan dengan selisih perlakuan gel jintan hitam dengan kontrol negatif dengan jumlah 28,66. Tanda negatif (-) pada perhitungan selisih menandakan bahwa jumlah sel neutrofil pada kelompok perlakuan gel biji jintan hitam dan kontrol positif memiliki angka yang lebih kecil dibanding pengurangnya yaitu kontrol negatif.

Tabel 3. Hasil uji Normalitas Berdasarkan Hari

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig
Neutrofil	Hari 1	0.915	9	0.353
	Hari 3	0.900	9	0.350
	Hari 5	0.941	9	0.597
	Hari 8	0.906	9	0.292

Hasil uji normalitas berdasarkan hari didapatkan keseluruhan hari penelitian mulai hari pertama, ketiga, kelima, dan kedelapan memiliki nilai sig > 0,05, maka data tersebut dikatakan berdistribusi normal.

Tabel 4. Uji Normalitas Berdasarkan Kelompok

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig
Neutrofil	Kelompok Negatif	0.876	12	0.078
	Kelompok Positif	0.959	12	0.775
	Kelompok Perlakuan	0.896	12	0.140

Hasil uji normalitas berdasarkan kelompok didapatkan keseluruhan hari penelitian memiliki nilai sig > 0,05, sehingga data tersebut dikatakan berdistribusi normal.

Tabel 5. Hasil uji variansi Levene

F	df1	df2	Sig.
,777	11	24	,659

Hasil uji variansi *Levene* pada penelitian ini adalah 0,659 atau sig. >0,05 yang berarti bahwa data memiliki variansi yang sama.

Masing-masing dari kelompok hari dan kelompok tindakan memiliki distribusi normal dan hasil uji variansi Levene didapatkan bahwa data memiliki variansi yang sama, maka syarat untuk dilakukan uji ANOVA terpenuhi sehingga pengujian menggunakan two way ANOVA yang meliputi Test of Between-Subjects Effects.

Tabel 6.
Hasil Test of Between-Subjects Effects

Sumber	Sig.
Kelompok	.003
Hari	.000
Interaksi antara kelompok dan hari	.656

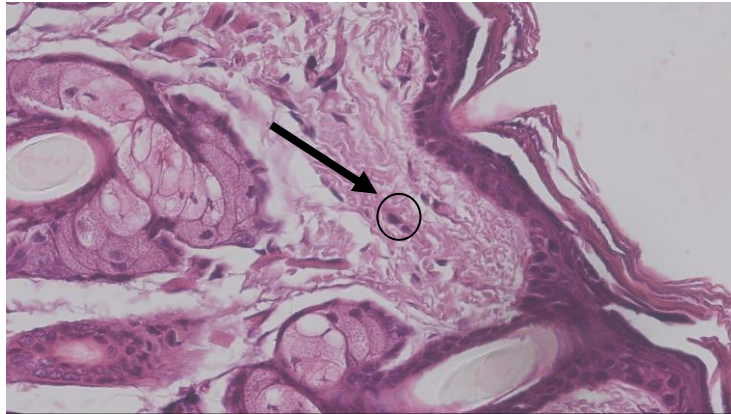
Hasil *test of between-subject effects* pada sumber kelompok diperoleh nilai Sig.=0,003 yang berarti Sig. < 0,05 sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan jumlah sel Neutrofil yang signifikan pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan. Hasil uji pada sumber hari didapatkan Sig.=0,000 yang berarti Sig.<0,05 sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan jumlah sel Neutrofil yang signifikan pada hari pertama, hari ketiga, hari kelima, dan hari kedelapan. Interaksi antara kelompok dan hari didapatkan Sig.=0,656 atau Sig. > 0,05 yang berarti tidak terdapat interaksi antara faktor kelompok dan hari.

Tabel 7.
Hasil Uji *Post Hoc* Multiple Comparison

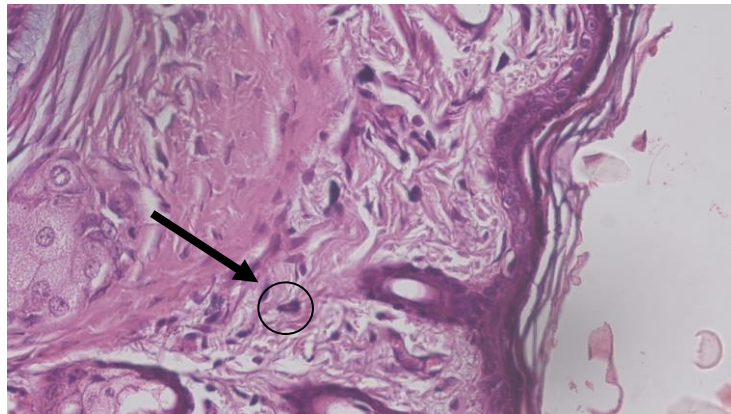
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Perbedaan Mean (I-J)	Std. Error	Sig.
Negatif	Positif	6,3333	7,57585	,685
	Jintan	27,5000*	7,57585	,004
Positif	Negatif	-6,3333	7,57585	,685
	Jintan	21,1667*	7,57585	,026
Jintan	Negatif	-27,5000*	7,57585	,004
	Positif	-21,1667*	7,57585	,026

Hasil uji *Post Hoc* kelompok negatif-positif dan positif-negatif diperoleh nilai Sig. > 0,500 yang berarti tidak terdapat perbedaan *mean* yang signifikan antar variabel tersebut. Sig. < 0,05 ditemukan pada kelompok negatif-jintan, positif-jintan, jintan-positif, dan jintan-negatif yang berarti hubungan antar variabel tersebut memiliki perbedaan *mean* secara nyata. Kesimpulan yang dapat diambil adalah ada pengaruh pemberian gel biji jintan hitam terhadap jumlah neutrofil gingiva hewan uji pada kelompok negatif-jintan, positif-jintan, jintan-positif, dan jintan-negatif.

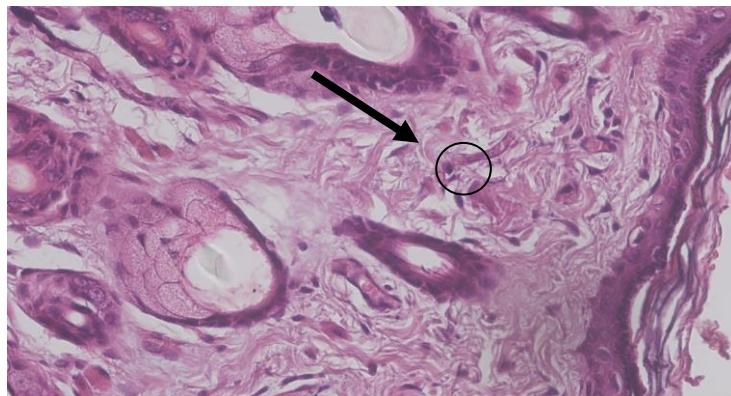
Gambar preparat jaringan gingiva dibawah ini menunjukkan adanya perbedaan jumlah neutrofil pada setiap kelompok perlakuan. Sel neutrofil tergambar berupa bulatan-bulatan kecil dengan inti berwarna lebih gelap.



Gambar 6. Hasil Preparat Kontrol negatif



Gambar 7. Hasil Preparat Kontrol Positif



Gambar 8. Hasil Preparat Perlakuan Gel Biji Jintan Hitam

Gambar 6. yang merupakan preparat gingiva perlukaan yang diaplikasikan CMC-Na sebagai kontrol negatif memperlihatkan bahwa jumlah sel neutrofil banyak dan terlihat bergerombol. Gambar 7. merupakan preparat kontrol positif dengan aplikasi Aloclair gel memperlihatkan bahwa neutrofil tersebar pada jaringan luka. Gambar 8. merupakan preparat kelompok perlakuan dengan pemberian gel biji jantan hitam memperlihatkan sel-sel neutrofil yang menyebar pada jaringan dengan jumlah sedikit.

B. Pembahasan

Penelitian pengaruh pemberian gel biji jantan hitam terhadap jumlah sel neutrofil penyembuhan luka gingiva hewan uji memberikan hasil bahwa terdapat pengaruh antara kelompok perlakuan gel biji jantan hitam dengan kelompok kontrol positif maupun negatif . Sesuai dengan tabel 1., rata-rata jumlah neutrofil pada hari pertama menunjukkan angka tertinggi dibandingkan dengan hari ketiga, kelima, dan kedelapan pada semua kelompok, baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan, hal ini sesuai dengan pernyataan dari Teller (2009) bahwa proses kemotaksis atau tertariknya sel neutrofil ke jaringan perlukaan terjadi setelah proses diapedesis atau keluarnya sel neutrofil dari dalam endotel menuju rongga ekstravaskuler, sehingga jumlah neutrofil dalam jaringan luka meningkat untuk melakukan fungsinya yaitu membersihkan debris jaringan luka dan memfagosit patogen. Proses diapedesis dan kemotaksis terjadi pada fase inflamasi yaitu fase setelah koagulasi dan hemostasis selesai.

Jumlah neutrofil pada hari kedua pengambilan sampel atau hari ketiga setelah perlukaan menunjukkan penurunan pada ketiga kelompok kontrol maupun perlakuan. Penurunan jumlah neutrofil ini sesuai dengan teori bahwa dua hari pasca perlukaan merupakan proses inflamasi tahap akhir dimana sel makrofag bekerja untuk membersihkan debris jaringan yang luka dan mensintesis matriks untuk menggantikan peran neutrofil. Jumlah neutrofil pada fase ini akan berkurang melalui mekanisme apoptosis (Velnar, 2009).

Hari ketiga pengambilan sampel atau hari kelima pasca perlukaan didapatkan penurunan jumlah sel neutrofil pada seluruh kelompok. Lima hari pasca perlukaan, proses penyembuhan luka telah melewati fase akhir inflamasi dan memasuki fase proliferasi. Migrasi neutrofil dan terbentuknya matriks ekstraseluler baru yang terdiri dari fibrin dan fibronektin terjadi pada fase proliferasi sehingga terjadi penurunan jumlah sel neutrofil dan digantikan dengan melimpahnya jumlah jaringan granulasi (Diegelmann, 2004).

Rata-rata jumlah neutrofil pada hari keempat pengambilan sampel atau delapan hari pasca perlukaan menunjukkan nilai terendah diantara hari-hari sebelumnya pada ketiga kelompok. Penurunan jumlah neutrofil terjadi karena fase proliferasi pada proses penyembuhan luka terus berjalan, sehingga jumlah sel neutrofil yang bermigrasi keluar dari jaringan semakin meningkat. Menurut Diegelmann (2004) fase proliferasi akan berlangsung selama sekitar dua minggu pasca perlukaan.

Rata-rata tertinggi jumlah neutrofil pada hari pertama, ketiga, dan keempat pengambilan sampel dimiliki oleh kelompok kontrol negatif, sedangkan pada hari kedua pengambilan sampel rata-rata tertinggi dimiliki oleh kelompok kontrol positif. Perbedaan jumlah rata-rata tersebut kemungkinan dapat diakibatkan karena adanya kontaminasi bakteri pada saat dilakukannya penelitian sehingga menyebabkan meningkatnya jumlah neutrofil pada kelompok kontrol positif. Pernyataan ini sesuai dengan pernyataan dari Kitchen, 2007 bahwa sel neutrofil produksinya akan meningkat apabila terdapat serangan dari patogen. Peningkatan jumlah neutrofil pada kontrol positif hari ketiga kemudian diikuti dengan penurunan kembali pada hari keempat, hal ini disebabkan oleh bekerjanya mekanisme penyembuhan luka oleh bahan aktif yang terkandung dalam Aloclair gel. Pemilihan Aloclair gel sebagai bahan aplikasi pada kelompok kontrol positif karena Aloclair gel telah terbukti dapat mempercepat proses penyembuhan luka, sebagai antiinflamasi, antiseptik, dan analgesik pada jaringan rongga mulut seperti *stomatitis* dan lesi traumatik. Komposisi dari Aloclair gel adalah *aloe vera*, *sodium hyaluronate* untuk mempercepat pembentukan jaringan baru, *glycyrrhettinic acid* sebagai pengurang rasa sakit, dan *polyvinylpyrrolidone* (PVP) sebagai antiseptik (Kalbemed, 2015).

Rata-rata terendah jumlah sel neutrofil ditemukan pada kelompok perlakuan gel biji jintan hitam pada seluruh hari penelitian, hal ini menunjukkan bahwa gel biji jintan hitam efektif menurunkan jumlah sel

neutrofil dibandingkan dengan dua kelompok lainnya. Kandungan flavonoid, timokuinon, dan saponin merupakan zat aktif didalam biji jintan hitam yang berperan dalam percepatan proses penyembuhan luka. Berdasarkan pada penelitian Sabirin (2013) saponin pada biji jintan hitam dikenal memiliki manfaat sebagai antibakteri dan antiinflamasi yang dapat mempercepat penyembuhan luka oleh kontaminasi bakteri, sedangkan timokuinon dan flavonoid memiliki manfaat sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Percepatan proses penyembuhan luka oleh zat-zat tersebut memiliki beberapa mekanisme:

1. Penghambatan aktivitas enzim COX dan/atau lipooksigenase.

Timokuinon melemahkan tromboksan B₂ sehingga menghambat jalur siklooksigenase dan 5-lipooksigenase yang merupakan jalur metabolisme asam arakidonat secara berurutan (Amin & Hosseinzadeh 2015).

2. Menghambat akumulasi leukosit di daerah inflamasi.

Efek antiinflamasi flavonoid dapat disebabkan oleh aksinya dalam menghambat akumulasi leukosit di daerah inflamasi. Nijveldt et al. (2001) menyebutkan bahwa pemberian flavonoid dapat menurunkan jumlah leukosit immobil dan mengurangi aktivasi komplemen sehingga menurunkan adhesi leukosit ke endotel dan mengakibatkan penurunan respon inflamasi tubuh.

3. Penghambatan pelepasan histamin.

Histamin adalah salah satu mediator inflamasi yang pelepasannya distimulasi oleh pemompaan kalsium ke dalam sel (Nijveldt *et al.*, 2001) melaporkan bahwa flavonoid dapat menghambat pelepasan histamin dari sel mast.

4. Interaksi saponin dengan membran lipid.

Saponin mampu berinteraksi dengan banyak membran lipid (Nijveldt *et al.*, 2001) seperti fosfolipid yang merupakan prekursor Prostaglandin dan mediator-mediator inflamasi lainnya.

Tabel 3. dan 4. menunjukkan bahwa semua data pada penelitian ini berdistribusi normal. Tabel 5 menunjukkan hasil uji *Levene* didapatkan seluruh data memiliki variansi yang sama. Seluruh data baik berdasarkan hari ataupun berdasarkan kelompok perlakuan memiliki distribusi normal dan variansi yang sama sehingga dapat dilakukan uji parametrik *Two Way ANOVA*.

Tabel 6. menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara masing-masing data dari variabel hari. Terdapat perbedaan jumlah sel neutrofil antara hari pertama, dari ketiga, hari kelima, dan hari kedelapan pada semua kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan gel biji jantan hitam. Perbedaan tersebut dikarenakan berjalannya proses penyembuhan luka sehingga jumlah neutrofil semakin menurun sesuai dengan fase-fase penyembuhan luka. Perbedaan secara nyata juga terlihat pada masing-masing variabel kelompok yang berarti bahwa terdapat perbedaan antara kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dan kelompok perlakuan gel biji

jintan hitam pada seluruh hari pengambilan sampel. Perbedaan pada masing-masing variabel kelompok dikarenakan perbedaan kemampuan bahan dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Tidak terdapat interaksi antara faktor kelompok dengan faktor hari. Hasil *Test of Between-Subjects Effects* ini juga diperkuat dengan hasil selisih jumlah neutrofil yang disajikan pada tabel selisih rata-rata perhitungan jumlah neutrofil yang menyatakan bahwa selisih terbesar pada kelompok perlakuan jintan hitam – kontrol negatif dibandingkan dengan kontrol positif – kontrol negatif. Hasil interpretasi dari tabel selisih rata-rata perhitungan jumlah neutrofil menunjukkan bahwa gel biji jintan hitam lebih efektif dalam menurunkan jumlah sel neutrofil dibandingkan dengan Aloclair gel sebagai kontrol positif.

Perbedaan secara nyata yang diperoleh dari uji *Post Hoc* pada tabel 7. yang menunjukkan bahwa adanya pengaruh signifikan pemberian gel biji jintan hitam terhadap penurunan jumlah sel neutrofil dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan negatif, sedangkan perbandingan antara kontrol positif dan negatif tidak ditemukan adanya perbedaan secara signifikan. Tidak ditemukannya perbedaan secara signifikan pada kedua kelompok kontrol dapat disebabkan karena beberapa faktor:

1. Kondisi Hewan Uji

Perbedaan nutrisi, stress, dan tingkat imunitas hewan uji mempengaruhi lama penyembuhan luka pada setiap individu hewan uji tersebut. Resistensi terhadap infeksi dapat terjadi karena nutrisi yang

buruk, begitu juga dengan stress dan sistem imunitas karena hormon kortisol yang dilepaskan ketika stress memiliki efek yang sama dengan kortikosteroid yang banyak digunakan untuk menekan sistem imun (Baratawidjaja, 2004).

2. Tingkat Absorpsi Bahan Uji

Pengaplikasian dan penyerapan zat aktif dalam bahan uji mempengaruhi dosis yang berperan dalam proses penyembuhan. Tingkat absorpsi setiap individu hewan uji terhadap bahan uji tidak dapat dikendalikan sehingga memungkinkan adanya perbedaan antara satu hewan uji dengan hewan uji lainnya.