

**Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis
(*Citrus aurantifolia*) terhadap Perbaikan Sel Epitel Gingiva
Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang
Diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans***

TUGAS AKHIR

Untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar sarjana kedokteran
gigi



Oleh :

Dewi Sulistiyo Cahyani

NIM : 0910743027

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis
(*Citrus aurantifolia*) Terhadap Perbaikan Sel Epitel Gingiva
Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi
*Actinobacillus actinomycetemcomitans***

Oleh :

Dewi Sulistiyo Cahyani

NIM : 0910743027

Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 6 Maret 2013

Dan dinyatakan lulus oleh :

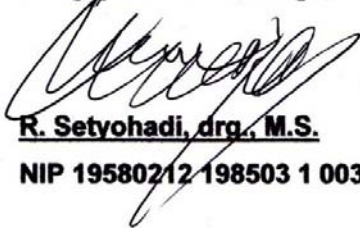
Penguji I,



Diah, drg., Sp.Perio

NIP 720329 07 1 2 0069

Penguji II/Pembimbing I,



R. Setyohadi, drg., M.S.

NIP 19580212 198503 1 003

Penguji III/Pembimbing II,



Miftakhul Cahyati, drg., Sp.PM

NIP 19770803 201012 2 001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Kedokteran Gigi



Dr. drg. Chair Effendy, SU, Sp.KGA

NIP 19530618 197912 1 005

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas ridho dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan tepat waktu. Tanpa rahmat-Nya tidak mungkin penulis dapat melewati berbagai rintangan dan tantangan dalam penulisan Tugas Akhir ini.

Pada kesempatan ini izinkanlah penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
2. Dr. Drg. M. Chair Effendi, SU, Sp.KGA selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Gigi
3. drg. R. Setyohadi, M.S. sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingannya selama mengerjakan proposal hingga Tugas Akhir, sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. drg. Miftakhul Cahyati, Sp.PM sebagai pembimbing kedua yang telah membimbing dan mempermudah dalam pengerjaan Tugas Akhir, sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
5. drg. Diah, Sp.Perio selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan dan saran yang sangat berguna untuk penyempurnaan Tugas Akhir ini.
6. dr. Ratih Paramita Suprpto yang telah bersedia berbagi ilmu tentang penelitian yang penulis lakukan sehingga membantu penulis dalam penyusunan Tugas Akhir ini.
7. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, khususnya bagian Program Studi Pendidikan Dokter Gigi.
8. Segenap petugas Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Patologi Anatomi RS dr. Soetomo Surabaya yang telah membantu saya dalam menyelesaikan penelitian ini.
9. Kepada Pak Wibi yang senantiasa memberikan solusi pada saat penulis dilanda kebuntuan dan hambatan pada saat penelitian berlangsung.

10. Papa dan Mama yang tercinta sebagai perwujudan niat untuk selalu menjadi anak yang berbakti bagi kedua orang tua. Terima kasih Papa dan Mama atas dukungan serta do'a yang mengalir tiada henti.
11. Kepada teman-teman kelompok penelitian jeruk nipis, Demitra S.A.N., Dwi Oktavia B.P.S., Ainun Nurika S., Noviana F.S. dan Rissa Septi R.
12. Teman – teman tercinta Widya Ayu P.S., Ghaida Ramadhania R., Gayuh Anggita W., Mas Sofiatul L., Cempaka Mirantyas S., Kamelia Mellisa T. serta kepada teman – teman Fakultas Kedokteran terutama jurusan Pendidikan Dokter Gigi yang telah menyemangati dalam mengerjakan Tugas Akhir.
13. Teman-teman kos 21 Malang serta sahabat-sahabat Undernet IRC.
14. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Akhir kata, semoga Tugas Akhir ini dapat berguna bagi ilmu pengetahuan terutama dalam bidang obat antiinflamasi berbasis tradisional dengan memanfaatkan Kulit Jeruk Nipis. Bagaimanapun tersusunnya Tugas Akhir ini, tetap jauh dari sempurna, masukan yang bersifat membangun sangat penulis harapkan guna penyempurnaan Tugas Akhir ini.

Malang, 6 Maret 2013

Dewi Sulistiyo Cahyani

ABSTRAK

Cahyani, Dewi Sulistiyo. 2013. **Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Perbaikan Sel Epitel Gingiva Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans***. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) drg. R. Setyohadi, MS., (2) drg. Miftakhul Cahyati, Sp.PM.

Gingivitis merupakan penyakit rongga mulut berupa inflamasi gingiva yang sering dialami oleh masyarakat di seluruh belahan dunia. Saat keadaan inflamasi, banyak kerusakan yang ditimbulkan pada jaringan epitel sekitar gingiva. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) selama ini diketahui memiliki khasiat seperti meredakan inflamasi akan tetapi mekanismenya sebagai antiinflamasi belum diketahui secara pasti. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol kulit jeruk nipis terhadap perbaikan sel epitel gingiva. Obyek penelitian ini adalah tikus putih galur wistar. Dua puluh lima tikus dibagi dalam lima kelompok, satu kelompok sebagai kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan sama sekali, satu kelompok sebagai kontrol positif yang hanya diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* tanpa diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis dan tiga kelompok lainnya sebagai kelompok perlakuan yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serta diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan tiga dosis yang berbeda, yaitu 1,26 mg/100 grBB, 2,52 mg/100 grBB dan 5,04 mg/100 grBB. Setelah 24 jam, tikus dikorbankan. Sel epitel gingiva diamati dan dihitung. Analisis statistik menggunakan ANOVA menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan antara perlakuan dan dosis terhadap jumlah sel epitel gingiva ($p < 0,05$). Hasil uji *Post Hoc* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna setiap kelompok perlakuan dan dosis dalam mempengaruhi jumlah sel epitel gingiva ($p < 0,05$). Dapat diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk nipis berpengaruh terhadap perbaikan sel epitel gingiva tikus putih galur wistar yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Kata kunci : Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*), Sel Epitel Gingiva, Inflamasi, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

ABSTRACT

Cahyani, Dewi Sulistiyo. 2013. **The Influence of Lime Peel (*Citrus aurantifolia*) Ethanol Extract on Gingival Epithelial Cells Repairment of Wistar Strain White Rats (*Rattus norvegicus*) Induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans***. Final Assignment, Faculty of Medicine Brawijaya University. Supervisors : (1) drg. R. Setyohadi, MS.,(2) drg. Miftakhul Cahyati, Sp.PM.

Gingivitis is an oral disease that marked by gingival inflammation which happens to many people in the world. When there is an inflammation, there will be much destructions occurs to epithelial around gingiva. Lime (*Citrus aurantifolia*) is widely used to treat inflammation, but the mechanism has not being known yet. The aim of this study was to know the influence of lime peel ethanol extract on gingival epithelial cells repairment. The object of this research was wistar strain white rats. Twenty five rats divided into five groups, one group as a negative control which didn't got treatment at all, one group as a positive control which only induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* without giving the extract and three other groups induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and extracted by three different doses 1,26 mg/100 grBB, 2,52 mg/100 grBB and 5,04 mg/100 grBB. After 24 hours, rats were sacrificed. Gingival epithelial cells examined and counted. The analysis using ANOVA showed that there was significant differences between treatments and various extract doses to gingival epithelial cells sum ($p < 0,05$). The Post Hoc test showed that there was significant differences of every treatments and doses in giving the influence to gingival epithelial cells sum ($p < 0,05$). The conclusion of this study is lime peel ethanol extract influences gingival epithelial cells repairment on wistar strain white rats induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Keywords : Lime Peel (*Citrus aurantifolia*), Gingival Epithelial Cell, Inflammation, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

2.2.2	Gingivitis	12
2.2.2.1	Definisi Gingivitis	12
2.2.2.2	Etiologi Gingivitis	12
2.2.2.3	Klasifikasi Gingivitis	13
2.2.2.4	Gambaran Klinis dan Histologis Gingivitis	14
2.2.2.5	Keterkaitan Gingivitis dengan Periodontitis	15
2.2.3	Regenerasi Epitel Gingiva	16
2.3	Inflamasi	17
2.3.1	Definisi Inflamasi	17
2.3.2	Komponen Inflamasi	17
2.3.3	Proses Inflamasi	19
2.3.4	Respon Perbaikan Inflamasi	20
2.4	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	21
BAB III	KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	23
3.1	Kerangka Konsep	23
3.2	Hipotesis Penelitian	24
BAB IV	METODE PENELITIAN	25
4.1	Desain Penelitian	25
4.2	Obyek Penelitian	25
4.2.1	Inklusi	25
4.2.2	Eksklusi	25
4.3	Jumlah sampel	25
4.4	Waktu dan Tempat Penelitian	26
4.5	Variabel Penelitian	26
4.6	Definisi Operasional	26
4.7	Alat dan Bahan Penelitian	26
4.7.1	Alat	26
4.7.2	Bahan	27
4.8	Pengelompokan Sampel	28
4.9	Prosedur Penelitian	29
4.9.1	Persiapan	29
4.9.1.1	Pemeliharaan dan Pengondisian Tikus	29
4.9.1.2	Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis	29
4.9.2	Pelaksanaan	30

4.10 Analisis Data	32
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	33
5.1 Hasil Penelitian	33
5.2 Analisis Data	33
5.2.1 Hubungan Perlakuan dan Dosis terhadap Jumlah Sel Epitel Gingiva	38
5.2.2 Hubungan Dosis terhadap Jumlah Sel Epitel Gingiva	38
BAB VI PEMBAHASAN	39
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	42
7.1 Kesimpulan	42
7.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Jeruk Nipis	6
Gambar 2.2 Gambaran klinis gingiva yang mengalami inflamasi disertai akumulasi plak dan kalkulus	15
Gambar 2.3 Patogenesis penyakit periodontal	16
Gambar 2.4 Respon mediator kimia terhadap cedera jaringan	18
Gambar 2.5 Bakteri <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	22
Gambar 5.1 Rata-rata jumlah sel epitel gingiva pada setiap kelompok perlakuan	34
Gambar 5.2 Perbedaan keadaan klinis gingiva tiap perlakuan	35
Gambar 5.3 Perbedaan keadaan histopatologis sel epitel gingiva pada tiap perlakuan	36

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Jumlah Sel Epitel Gingiva	33

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Uji Normalitas	47
Uji Homogenitas	47
Uji <i>one-way ANOVA</i>	47
Uji <i>Post Hoc</i>	48
<i>Mean Plots ANOVA</i>	49
Uji Korelasi	50
Uji Regresi Linear	50
Identifikasi Jeruk Nipis	51
Identifikasi Tikus Wistar	52
Foto Penelitian	53
Surat Kelaikan Etik	58
Surat Pernyataan Keaslian Tulisan	59

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gingivitis merupakan penyakit rongga mulut yang banyak ditemukan di berbagai belahan dunia, seperti di Indonesia. Prevalensi gingivitis sangat tinggi dan menduduki peringkat kedua penyakit rongga mulut terbanyak di Indonesia (Wahyukundari, 2008). Penelitian yang dilakukan Julianti *dkk.* (2008), menunjukkan prevalensi gingivitis sebesar 92,7% dengan distribusi gingivitis ringan 58,1%, gingivitis sedang 32,3% dan gingivitis berat 2,4%, sedangkan anak yang bebas dari gingivitis hanya 7,3%. Berdasarkan jenis kelamin, secara umum persentase gingivitis pada anak laki-laki sedikit lebih tinggi dibandingkan anak perempuan. Sedangkan studi menunjukkan bahwa penduduk usia 10 tahun ke atas, 46% mengalami penyakit gusi, prevalensi semakin tinggi pada umur yang lebih tinggi (Andreas, 2011).

Gingivitis adalah suatu keadaan dimana terjadi pembengkakan pada daerah gusi atau jaringan penyangga gigi. Pembengkakan tersebut disebabkan kapiler yang mengalami dilatasi dan peningkatan kecepatan aliran darah yang berada di sekitar pembengkakan. Keadaan patologis dari gingivitis banyak dikaitkan dengan keberadaan mikroorganisme rongga mulut. Mikroorganisme tersebut mensintesis produk seperti enzim kolagenase, hialuronidase, protease, khondroitin sulfatase atau endotoksin. Mikroorganisme penyebab gingivitis yang paling dominan ditemukan pada plak gigi. Bakteri-bakteri akan membentuk lapisan plak yang terdiri dari bakteri dan deposit makanan, kemudian plak tersebut akan mengeras menjadi kalkulus (karang gigi). Kalkulus jelas memicu terjadinya peradangan pada gingiva. Selain itu, gingivitis juga berhubungan dengan faktor sistemik, seperti perubahan hormon endokrin yang berhubungan dengan pubertas, siklus haid, kehamilan dan diabetes. Keadaan – keadaan tersebut memperparah kondisi inflamasi gingiva (Carranza *dkk.*, 2011).

Pada pemeriksaan mikroskopis telah ditemukan beberapa macam bakteri yang terdapat pada plak gigi (Rateitschak *dkk.*, 1985). Salah satu jenis bakteri penyusun plak adalah *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dapat merusak jaringan dengan cara merangsang inflamasi, menyebabkan destruksi jaringan dan menghambat penyembuhan

jaringan. Virulensi dari bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* terdapat pada kapsulnya yang mengandung lipopolisakarida (Henderson *dkk.*, 2002).

Inflamasi pada umumnya ditandai oleh perubahan yang ada di dalam jaringan meliputi perubahan permeabilitas vaskuler, dilatasi vaskuler serta sering terdapat infiltrasi leukosit dalam jaringan yang terinfeksi. Proses ini menghasilkan *rubor* (kemerahan), *tumor* (bengkak), *dolor* (sakit), *calor* (panas) dan *functio laesa* (kehilangan fungsi). Menurut durasinya, inflamasi terbagi menjadi tiga jenis, yaitu inflamasi akut, subakut dan kronis. Banyak mediator dan sel yang berperan pada proses inflamasi, seperti sel mast, sitokin, leukosit, leukotrien dan sebagainya (Carranza *dkk.*, 2011). Selain itu, proses inflamasi juga memberi dampak terhadap jaringan epitel sekitar gingiva. Inflamasi menyebabkan kerusakan pada sel-sel epitel. Pada proses penyembuhan inflamasi, sel-sel epitel akan melakukan regenerasi dan adaptasi epitel (Syafri, 1996).

Epitel gingiva terdiri dari lapisan epitel skuamus yang memiliki tiga area berdasarkan sudut pandang yang berbeda secara morfologis dan fungsional, yaitu epitel luar atau epitel oral, epitel sulkus dan epitel penghubung. Epitel luar tepi gingiva umumnya keratin atau parakeratin, sedangkan epitel bagian dalam atau permukaan krevikular nampak lebih tipis dan tidak berkeratin (Carranza *dkk.*, 2011). Sel epitel gingiva dapat bereaksi secara metabolik dengan cara mensintesis sejumlah sitokin, molekul adhesin, faktor pertumbuhan dan enzim. Menurut Dale (2002), sel epitel juga bereaksi terhadap bakteri dengan meningkatkan proliferasi, perubahan sinyal sel, perubahan dalam diferensiasi dan kematian sel yang merubah homeostasis jaringan. Mjor dan Fejerskov (1991), juga menyatakan epitel gingiva dapat menebal dengan cara mempercepat pembelahan selnya atau yang umum disebut dengan keratinisasi. Keratin tersebut berfungsi untuk mempertahankan integritas fungsional jaringan gingiva dari infeksi bakteri.

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) selama ini diketahui memiliki beberapa khasiat seperti meredakan inflamasi. Komposisi senyawa yang terdapat di dalam minyak atsiri yang dihasilkan dari kulit buah tanaman genus *Citrus* berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan diantaranya adalah limonen, sitronelal, geraniol, linalol, α -pinen, mirsen, β -pinen, sabinen, geraniol asetat, nonanal, geraniol, β -kariofilendan α -terpineol. Berdasarkan penelitian, kulit buah jeruk nipis kaya akan komponen *flavonoid polymethoxilate* (Astarini *dkk.*, 2009).

Flavonoid merupakan sekelompok besar antioksidan yang bernama polifenol. Flavonoid terdiri atas atosianidin, biplavon, katekin, flavanon, flavon dan flanolol. Senyawa flavonoid banyak ditemukan di alam. Senyawa-senyawa flavonoid bisa ditemukan di semua bagian tumbuhan, seperti daun, batang, buah, bunga, kulit kayu dan akar. Namun seringkali senyawa flavonoid terkonsentrasi pada bagian jaringan tertentu (Waji dan Sugrani, 2009). Flavonoid telah diketahui banyak mempunyai manfaat medis yang meliputi antioksidan, antimikrobal, antiinflamasi dan antikanker (Lee *dkk.*, 2011). Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik berupa buih. Sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama (Hartono, 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Wang *dkk.* (2008) menunjukkan bahwa senyawa saponin merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antiinflamasi pada kaki tikus yang edema karena induksi karagenin. Kulit berbagai jenis jeruk mengandung pektin dalam konsentrasi tinggi (Menegristek, 2001). Pektin merupakan rantai polisakarida yang terdapat pada berbagai macam tumbuhan, yang dapat melindungi dinding usus mamalia dari kerusakan dan menghambat perkembangan dari inflamasi (Markov *dkk.*, 2011).

Berdasarkan manfaat senyawa yang terdapat dalam kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) tersebut, maka kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) berpotensi untuk mengobati inflamasi gingiva tikus putih galur wistar (*Rattus novergicus*) yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap perbaikan sel epitel gingiva tikus yang mengalami inflamasi akibat induksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap perbaikan sel epitel gingiva tikus putih galur wistar (*Rattus novergicus*) yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap perbaikan sel epitel gingiva tikus putih galur wistar (*Rattus novergicus*) yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui jumlah sel epitel yang normal pada gingiva tikus putih galur wistar (*Rattus novergicus*) yang tidak diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan tidak diberi perlakuan.
- b. Mengetahui jumlah sel epitel yang normal pada gingiva tikus putih galur wistar (*Rattus novergicus*) pasca diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.
- c. Mengetahui jumlah sel epitel yang normal pada gingiva tikus putih galur wistar (*Rattus novergicus*) pasca induksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) pada berbagai dosis.
- d. Menganalisa pengaruh dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan jumlah sel epitel yang normal pada gingiva tikus putih galur wistar (*Rattus novergicus*) pasca induksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Menambah wawasan dan memotivasi penulis untuk berpikir kritis dalam memberikan penjelasan secara ilmiah mengenai pengaruh ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap perbaikan sel epitel gingiva tikus putih galur wistar (*Rattus novergicus*) pasca induksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Serta sebagai landasan bagi peneliti lain dalam mengembangkan penelitian lebih lanjut mengenai obat antiinflamasi berbasis obat tradisional.

1.4.2 Manfaat Praktis

Masyarakat dapat mengetahui pengaruh ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap perbaikan sel epitel gingiva tikus putih galur wistar (*Rattus novergicus*) pasca induksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serta dapat mengaplikasikannya sebagai upaya penanganan gingivitis.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jeruk Nipis

Tanaman jeruk nipis termasuk salah satu jenis tumbuhan perdu yang banyak memiliki dahan dan ranting. Tanaman ini memiliki tinggi sekitar 0,5-3,5 meter, batang pohonnya berkayu ulet, berduri dan keras. Sedangkan permukaan kulit luarnya berwarna tua dan kusam. Daunnya majemuk, berbentuk elips dengan pangkal membulat, ujung tumpul dan tepi beringgit. Tulang daunnya menyirip dengan tangkai bersayap, hijau dan lebar 5-25 mm. Bunganya berukuran majemuk atau tunggal yang tumbuh di ketiak daun atau di ujung batang dengan diameter 1,5-2,5 cm. Kelopak bunganya berbentuk seperti mangkok dengan diameter 0,4-0,7 cm berwarna putih. Daun mahkota berjumlah 4-5, berbentuk bulat telur atau lanset dengan panjang 0,7-1,25 cm dan lebar 0,25-0,5 cm berwarna putih. Tanaman jeruk nipis pada umur 2,5 tahun sudah mulai berbuah. Buahnya berbentuk bulat sebesar bola pingpong dengan diameter 3,5-5 cm dengan warna kulit buah hijau atau kekuning-kuningan. Tanaman jeruk nipis mempunyai akar tunggang. Buah jeruk nipis yang sudah tua rasanya asam. Tanaman jeruk umumnya menyukai tempat-tempat yang mendapat sinar matahari langsung (Meiyanto, 2008).



Gambar 2.1 Jeruk Nipis (Adina dkk., 2008)

2.1.1 Klasifikasi

Menurut Meiyanto (2008), jeruk nipis dapat diklasifikasikan menjadi :

kingdom	: Plantae
divisio	: Spermatophyta
subdivisio	: Angiospermae
klas	: Dicotyledonae
bangsa	: Rutales
famili	: Rutaceae
genus	: Citrus
spesies	: <i>Citrus aurantifolia</i>

2.1.2 Kandungan Kulit Jeruk Nipis

Jeruk nipis mengandung unsur-unsur senyawa kimia yang bermanfaat, misalnya asam sitrat, asam amino (triptofan dan lisin), minyak atsiri (sital, limonen, felandren, lemon kamfer, kadinen, gerani-lasetat, linali-lasetat, aktilaldehid dan nonilaldehid), damar, glikosida, asam sitrun, lemak, kalsium, fosfor, besi, belerang, vitamin B1 dan C. Selain itu, jeruk nipis juga mengandung senyawa saponin dan flavonoid yaitu hesperidin (hesperetin 7-rutinosida), tangeretin, naringin, eriositrin dan eriositrosida. Hesperidin bermanfaat untuk antiinflamasi, antioksidan dan menghambat sintesis prostaglandin (Chang and Kinghorn, 2001).

Komposisi senyawa yang terdapat di dalam minyak atsiri yang dihasilkan dari kulit buah tanaman genus *Citrus* berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan diantaranya adalah limonen, sitronelal, geraniol, linalol, α -pinen, mirsen, β -pinen, sabinen, geraniil asetat, nonanal, geraniol, β -kariofilendan α -terpineol. Berdasarkan penelitian, kulit buah jeruk nipis kaya akan komponen *flavonoid polymethoxilate* (Astarini dkk., 2009). Jeruk nipis mengandung minyak limonene dan linalool. Selain itu jeruk nipis juga mengandung flavonoid seperti poncirin, hesperidin, rhoifolin dan naringin (Setiawan, 2000).

Konsumsi jeruk dan jus jeruk dapat melindungi tubuh terhadap serangan kanker, membantu sistem pertahanan serta memerangi infeksi virus. Selain mengandung vitamin C dan flavonoid, jeruk juga mengandung cukup banyak pektin, kalsium dan asam folat. Vitamin C dan flavonoid pada jeruk berperan

sebagai antioksidan untuk meningkatkan kesehatan tubuh dan mencegah proses penuaan (Widyarto, 2009).

Minyak Citrus merupakan campuran dari senyawa-senyawa yang bersifat mudah menguap dan sebagian besar terdiri dari hidrokarbon monoterpen. Total senyawa dalam minyak atsiri *Citrus aurantifolia* yang berhasil diidentifikasi berjumlah 18. Presentase dari senyawa – senyawa tersebut antara lain limonen (33,33%), β -pinen(15,85%), sitral (10,54%), neral (7,94%), γ -terpinen(6,80%), α -farnesen(4,14%), α -bergamoten (3,38%), β -bisabolen (3,05%), α -terpineol (2,98%), linalol (2,45%), sabinen (1,81%), β -elemen (1,74%), nerol (1,52%), α -pinen(1,25%), geranil asetat (1,23%), 4-terpineol (1,17%), nerilasetat (0,56%) dan *trans*- β -osimen (0,26%) (Astarini dkk., 2009).

2.1.2.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau kecuali alga. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Senyawa-senyawa ini dapat ditemukan pada batang, daun, bunga dan buah. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik (Waji dan Sugrani, 2009). Flavonoid telah lama diakui memiliki aktivitas antiinflamasi, antioksidan, antialergi, hepatoprotektif, antitrombotik, antiviral dan antikarsinogenik (Nijveldt dkk., 2001).

Adanya flavonoid berfungsi untuk membatasi pelepasan mediator inflamasi. Flavonoid merupakan golongan senyawa fenol terbesar sebagai kandungan khas tumbuhan hijau. Aktivitas antiinflamasi flavonoid dilakukan melalui penghambatan siklooksigenase dan lipoksigenase sehingga terjadi pembatasan jumlah sel inflamasi yang bermigrasi ke jaringan perukaan. Selanjutnya reaksi inflamasi akan berlangsung lebih singkat dan kemampuan proliferasi dari TGF- β tidak terhambat, sehingga proses proliferasi dapat segera terjadi. Aktivitas flavonoid dalam mempercepat proses penyembuhan luka didukung juga oleh mekanisme antioksidan dalam melakukan penghambatan aktivitas radikal bebas (Nijveldt dkk., 2001).

Flavonoid dapat pula mencegah aktivitas radikal bebas yang memperlambat proses inflamasi dengan berbagai mekanisme antara lain dengan

menstabilkan komponen dari radikal bebas tersebut. Reaktivitas yang tinggi dari komponen hidroksil flavonoid mengakibatkan radikal bebas menjadi tidak aktif sehingga aktivasi terhadap mediator inflamasi oleh radikal bebas dapat dihambat. Kemampuan antioksidan dari golongan flavonoid dapat mengoptimalkan proses penyembuhan luka melalui mekanisme antiinflamasi dan penghambatan aktivitas radikal bebas (Nijveldt *dkk.*, 2001).

2.1.2.2 Saponin

Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin terakumulasi dalam dinding sel dan vakuola. Saponin memiliki karakteristik berupa buih. Sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin diklasifikasikan menjadi saponin steroid dan saponin triterpenoid. Steroid saponin memiliki efek antifungal. Sedangkan saponin triterpenoid mudah dikristalkan lewat asetilasi sehingga dapat dimurnikan (Hartono, 2009).

Saponin adalah glikosid yang bersifat mudah menguap dan merupakan senyawa yang peka terhadap perubahan suhu (Tringali, 2001). Senyawa saponin adalah hasil alam dengan efek biologis dan farmakologi yang sangat kuat. Senyawa ini juga terbukti mempunyai manfaat sebagai antifungal dan antikanker (Zhang *dkk.*, 2006). Selain itu, saponin memiliki fungsi sebagai antiinflamasi, antibakteri dan antikarsinogenik (Andajani dan Maharddika, 2003). Penelitian yang dilakukan oleh Wang *dkk.* (2008) menunjukkan bahwa senyawa saponin merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antiinflamasi pada kaki tikus yang edema karena induksi karagenin.

Aktivitas antiinflamasi saponin dari berbagai tumbuhan sudah banyak dilaporkan namun belum banyak yang diketahui tentang mekanisme antiinflamasi yang dilakukan oleh saponin secara pasti. Saponin terdiri dari steroid atau gugus triterpen (aglikon) yang mempunyai aksi seperti detergen. Mekanisme antiinflamasi yang paling mungkin adalah diduga saponin mampu berinteraksi dengan banyak membran lipid seperti fosfolipid yang merupakan prekursor prostaglandin dan mediator-mediator inflamasi lainnya (Hidayati *dkk.*, 2005).

2.1.2.3 Pektin

Pektin merupakan polimer dari asam D-galakturonat yang dihubungkan oleh ikatan β -1,4 glikosidik. Sebagian gugus karboksil pada polimer pektin mengalami esterifikasi dengan metil (metilasi) menjadi gugus metoksin. Senyawa ini disebut sebagai asam pektinat atau pektin. Kulit berbagai jenis jeruk mengandung pektin dalam konsentrasi tinggi. Kandungan pektin pada kulit jeruk berkisar antara 15-25 % dari berat kering. Pektin tersebut dapat diekstraksi dengan cara sederhana, biaya yang tidak mahal dan dapat diterapkan dalam skala kecil (Menegristek, 2001).

Pektin merupakan rantai polisakarida yang terdapat pada berbagai macam tumbuhan yang dapat melindungi dinding usus mamalia dari kerusakan dan menghambat perkembangan dari inflamasi. Senyawa galakturonan yang diisolasi dari pektin menjadi rantai makromolekul yang menunjukkan efek antiinflamasi. Penurunan jumlah dari neutrofil pada dinding usus yang mengalami inflamasi menunjukkan bahwa efek antiinflamasi pektin berhubungan dengan aktivitas fungsional leukosit (Markov *dkk.*, 2011).

Pektin dapat menurunkan glukosa darah dan level trigliserida pada tikus diabetes. Pektin juga terbukti mampu menurunkan volume edema dan pelepasan dari myeloperoksida (0,1-100 $\mu\text{g/mL}$). Hal tersebut dibuktikan oleh penurunan infiltrasi neutrofil dan sebagian besar penurunan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α). Karena itu, pektin yang merupakan komponen biaktif sangat berpotensi sebagai pengobatan alternatif untuk inflamasi (Silva *dkk.*, 2011). Senyawa pektin juga bermanfaat untuk menurunkan TNF- α dan IL-1 β yang berperan dalam proses inflamasi (Popov *dkk.*, 2007).

2.2 Gingiva

Jaringan gingiva dibentuk oleh jaringan ikat fibrosa yang dilindungi oleh epitel skuamus berlapis. Komposisi jaringan ikat fibrosa (lamina propria) terdiri dari serabut kolagen, substansi dasar interseluler, sel, pembuluh darah, dan saraf. Komposisi lain yang ikut menyusun lamina propria adalah serangkaian sel-sel dominan yang terdiri atas plasma sel, fibroblast, sel mast, dan limfosit (Hoag dan Pawlak, 1990).

2.2.1 Epitel Gingiva

Gingiva adalah jaringan ikat yang dilapisi oleh epitel skuamus. Terdapat tiga area yang berbeda dari lapisan epitel tersebut, yaitu epitel terluar, epitel sulkus dan epitel penghubung. Pada epitel gingiva banyak ditemukan sel keratinosit dan non-keratinosit yang meliputi sel Langerhans, sel Merkel serta melanosit. Epitel terluar melapisi puncak dan permukaan terluar dari marginal gingiva dan permukaan dari *attached gingiva*. Epitel sulkus melapisi sulkus gingiva, sedangkan epitel penghubung terdiri dari bentuk seperti kalung dari lapisan epitel skuamus non-keratin (Carranza *dkk.*, 2011).

2.2.1.1 Gambaran Histologis Epitel Gingiva dalam Keadaan Normal

Fungsi utama dari epitel gingiva adalah melindungi struktur yang lebih dalam dan mengatur pertukaran interselektif dengan lingkungan rongga mulut. Hal itu terjadi karena proliferasi dan diferensiasi dari sel keratinosit yang membentuk keratinisasi. Proses keratinisasi yang lengkap memicu produksi orthokeratinisasi permukaan yang merangsang pembentukan stratum granulosum yang terdiferensiasi dengan baik. Hanya beberapa area dari epitel gingiva terluar yang mengalami orthokeratinisasi, area gingiva lainnya dilapisi oleh epitel parakeratin dan non-keratin. Epitel yang mengalami parakeratinisasi mengandung stratum corneum yang menahan inti tebal serta bintik keratohialin yang tersebar. Sedangkan epitel non-keratin tidak mempunyai stratum corneum maupun granulosum, namun sel pada permukaannya mempunyai inti yang dapat terus hidup (Carranza *dkk.*, 2011).

Lapisan paling atas dari stratum spinosum mengandung beberapa granula padat, seperti keratinosom atau badan Odland yang merupakan modifikasi lisosom. Melanosit merupakan sel dendrit yang terletak di basal dan lapisan spina dari epitel gingiva. Melanosit mensintesis melanin di organel premelanosom atau melanosom. Sel-sel Langerhans adalah sel dendrit yang berlokasi di lapisan suprabasal. Keduanya termasuk dalam sistem fagosit mononuklear dari modifikasi monosit sumsum tulang belakang. Sel-sel Langerhans mempunyai peran penting di dalam reaksi imun terhadap antigen. Selain itu sel Langerhans juga mempunyai bintik g-spesifik yang dapat ditemukan di epitelium terluar dari gingiva normal dan sebagian kecil berada di epitel sulkus. Sel Merkel terletak di lapisan terdalam dari epitel dan berseberangan dengan

saraf tepi. Sel Merkel berfungsi sebagai reseptor taktil. Lapisan epitel terhubung dengan lapisan dibawahnya dengan lamina basal. Lamina basal terbagi menjadi dua lapisan yaitu lamina lucida dan lamina densa (Carranza *dkk.*, 2011).

2.2.2 Gingivitis

2.2.2.1 Definisi Gingivitis

Gingivitis merupakan peradangan yang terjadi di gusi (Dorland, 2011). Peradangan tersebut memiliki hubungan dengan keberadaan mikroorganisme di dalam sulkus gingiva. Organisme tersebut mensintesis produk seperti kolagenase, hialuronidase, protease, khondroitin sulfatase dan endotoksin yang menyebabkan kerusakan epitel dan jaringan ikat. Hasil perluasan dari ruang diantara sel epitel *junctional* selama gingivitis tahap awal memungkinkan zat penginfeksi dari bakteri atau bakteri itu sendiri mendapatkan jalan masuk ke jaringan ikat. Produk dari mikroba akan mengaktifkan monosit dan makrofag untuk memproduksi substansi seperti prostaglandin E2, interferon, TNF atau interleukin-1. Tahap-tahap dari perkembangan gingivitis terbagi menjadi *initial lesion*, *early lesion*, *established lesion* dan *advanced lesion*. Terlihat jelas bahwa tahap awal saling berkaitan dengan tahapan berikutnya (Carranza *dkk.*, 2011).

2.2.2.2 Etiologi Gingivitis

Menurut Carranza *dkk.* (2011), pemeriksaan yang dilakukan secara mikroskopis membuktikan bahwa terdapat banyak mikroorganisme pada lesi-lesi jaringan penyangga gigi. Namun identifikasi bakteri agak sulit dilakukan karena kesulitan dalam mengisolasi berbagai macam bakteri yang ditemukan. Bakteri-bakteri tersebut akan membentuk lapisan plak yang terdiri dari bakteri dan deposit makanan, kemudian plak tersebut akan mengeras menjadi kalkulus (karang gigi). Kalkulus jelas memicu terjadinya peradangan pada gingiva.

Keparahan dari gingivitis ditentukan oleh kualitas dan kuantitas dari mikroorganisme. Gingivitis dapat terjadi karena penumpukan plak yang sangat banyak pada permukaan gigi dan peningkatan kolonisasi dari bakteri. Manifestasi klinis pada gingivitis menunjukkan adanya lapisan plak dengan ketebalan lebih dari 400 μm . Lapisan plak tersebut nampaknya menjadi faktor penting bagi perkembangan gingivitis. Pada pemeriksaan mikroskopis telah ditemukan beberapa macam bakteri yang terdapat pada plak gigi (Rateitschak *dkk.*, 1985).

Beberapa organisme patogen dan beberapa jenis bakteri lain telah berhasil diisolasi dari lapisan plak. Bakteri yang mengawali terbentuknya lapisan plak didominasi oleh bakteri fakultatif gram negatif seperti *Actinomyces viscosus* dan *Streptococcus sanguis*. Kolonisasi dari bakteri plak terus meningkat hingga tahap maturasi plak. Pada sistem ekologi ini, terdapat transisi dari lingkungan bakteri aerob yang ditandai oleh spesies fakultatif gram positif ke lingkungan dimana bakteri gram negatif anaerobik mendominasi. Kolonisasi berikutnya didominasi oleh *Prevotella intermedia*, *Prevotella loescheii*, *Capnocytophaga spp.*, *Fusobacterium nucleatum* dan *Porphyromonas gingivalis*. Bakteri gram positif yang mengawali pembentukan plak menggunakan glukosa sebagai sumber energi dan saliva sebagai sumber karbon. Sedangkan bakteri anaerob tidak memecah glukosa namun menggunakan asam amino dan peptida sebagai sumber energi. Pada pengamatan lebih lanjut, ditemukan bakteri lain seperti *Enterococcus corrodens*, *Actinobacillus actinomycesemcomitans* dan *Campylobacter spp.* (Carranza dkk., 2011). *Actinobacillus actinomycesemcomitans* dapat merusak jaringan dengan cara merangsang inflamasi, menyebabkan destruksi jaringan dan menghambat penyembuhan jaringan. Virulensi dari bakteri *Actinobacillus actinomycesemcomitans* terdapat pada kapsulnya yang mengandung lipopolisakarida (Henderson dkk., 2002).

Selain itu, gingivitis juga dapat disebabkan karena kelainan genetik. Variasi dalam banyak angka maupun kombinasi dari gen yang mengontrol perkembangan dari jaringan periodontal dan imunitas selular serta humoral dapat mempengaruhi faktor resiko dari penyakit jaringan penyangga gigi. Penyebab lain dari inflamasi gingiva adalah trauma, faktor iatrogenik, maloklusi, perawatan orthodonti, ekstraksi, tembakau dan faktor radiasi (Carranza dkk., 2011).

2.2.2.3 Klasifikasi Gingivitis

Gingivitis dapat diklasifikasikan menurut penyebabnya menjadi gingivitis yang diinduksi oleh plak dan gingivitis yang tidak diinduksi oleh plak. Gingivitis karena induksi plak dapat juga dimodifikasi oleh faktor sistemik. Faktor sistemik yang dimaksud adalah yang berkaitan dengan sistem endokrin dan kelainan darah. Selain itu, gingivitis karena induksi plak juga berkaitan dengan konsumsi obat-obatan serta malnutrisi seperti defisiensi vitamin C. Gingivitis yang tidak diinduksi oleh plak dapat terjadi karena infeksi bakteri spesifik, infeksi virus,

infeksi jamur, faktor genetik maupun manifestasi dari kondisi sistemik seperti adanya lesi mukokutaneus (Carranza *dkk.*, 2011).

2.2.2.4 Gambaran Klinis dan Histologis Gingivitis

Secara klinis gingivitis dapat terbagi menjadi gingivitis akut dan kronik. Gingivitis akut ditandai oleh durasi yang pendek dan terjadi secara tiba-tiba. Sedangkan gingivitis kronik ditandai oleh durasi yang lama serta terjadi secara lambat. Ada dua gejala yang mengawali suatu gingivitis, yaitu peningkatan produksi cairan krevikular gingiva dan perdarahan sulkus gingiva pada saat probing. Keadaan histopatologi yang mengikuti saat gingiva mengalami inflamasi adalah dilatasi kapiler dan penipisan atau ulserasi yang terjadi pada epitel sulkus. Karena kapiler yang dekat dengan permukaan serta epitel yang mengalami degenerasi menjadi kurang protektif, maka rangsangan sekecil apapun bisa mengakibatkan kerusakan kapiler dan perdarahan gingival (Carranza *dkk.*, 2011).

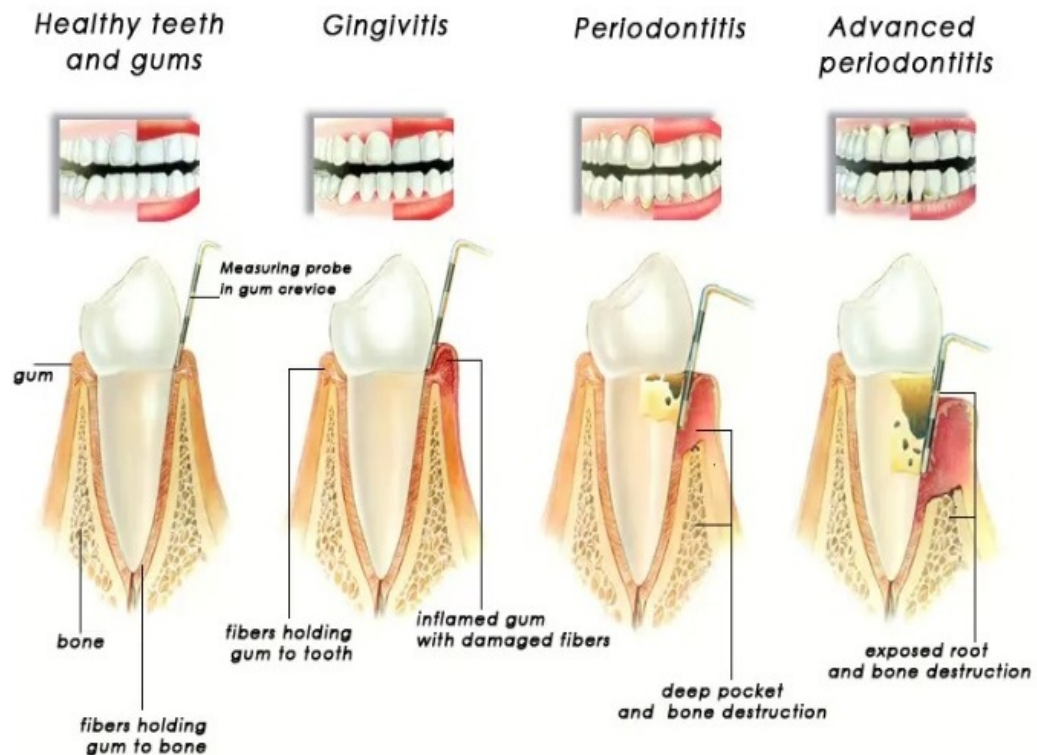
Pada area yang mengalami inflamasi, banyak sekali ditemukan infiltrasi sel-sel limfosit. Dinding pembuluh darah akan berkontraksi, aliran darah akan berkurang, platelet darah menempel pada tepi jaringan, *fibrin clot* terbentuk kemudian akan berkontraksi di sekitar tepi jaringan. Warna dari gingiva akan menjadi lebih merah saat terjadi peningkatan vaskularisasi dan lapisan keratinisasi epitel menjadi berkurang sampai hilang. Perubahan pada tekstur gingiva yang mengalami inflamasi yaitu hilangnya *stippling*. Permukaan gingiva yang menjadi halus juga dikarenakan atrofi epitel serta pengelupasan pada permukaan gingiva (Carranza *dkk.*, 2011). Berikut adalah gambaran klinis dari gingiva yang mengalami inflamasi :



Gambar 2.2 Gambaran klinis gingiva yang mengalami inflamasi disertai akumulasi plak dan kalkulus (Carranza *dkk.*, 2011)

2.2.2.5 Keterkaitan Gingivitis dengan Periodontitis

Gingivitis dan periodontitis merupakan infeksi yang disertai penumpukan plak bakteri yang kemudian mengalami mineralisasi menjadi kalkulus (Harrison, 1991). Gingivitis yang dibiarkan dapat pula berkembang menjadi periodontitis. Periodontitis ditandai dengan inflamasi gusi yang disertai kerusakan pada ligamen periodontal dan tulang alveolar yang menyokong gigi. Penyakit periodontal tersebut disebabkan oleh beberapa anggota mikrobiota normal rongga mulut, terutama bakteri anaerob gram-negatif (Henderson *dkk.*, 2002). Keadaan lain yang dapat menyertai periodontitis seperti bertambahnya kedalaman saku gusi saat dilakukan probing dan perubahan kepadatan tulang alveolar (Carranza *dkk.*, 2011).



Gambar 2.3 Patogenesis penyakit periodontal (Saljugh dan Domanska, 2011)

2.2.3 Regenerasi Epitel Gingiva

Penyembuhan luka diartikan oleh Bhaskar (1981) sebagai suatu proses pergantian jaringan yang rusak atau mati oleh jaringan baru yang sehat oleh tubuh melalui regenerasi. Proses penyembuhan epitel termasuk fase kedua dari proses penyembuhan luka (Harrison, 1994). Regenerasi dari sel – sel epitel gingiva sendiri ditandai oleh beberapa perubahan seperti penebalan sel, pertambahan jumlah sel, ukuran sel dan perubahan bentuk. Ketebalan dari sel epitel gingiva disebabkan oleh keseimbangan antara formasi sel baru di basal dan lapisan spina serta pelepasan sel-sel tua ke permukaan. Aktivitas mitosis ditunjukkan dalam 24 jam dengan rata-rata tertinggi terjadi di pagi hari, sedangkan rata-rata terendah terjadi di malam hari. Angka mitosis tertinggi didapatkan di lapisan non-keratin dan meningkat jika orang tersebut menderita gingivitis tanpa peduli jenis kelamin (Carranza *dkk.*, 2011).

2.3 Inflamasi

2.3.1 Definisi Inflamasi

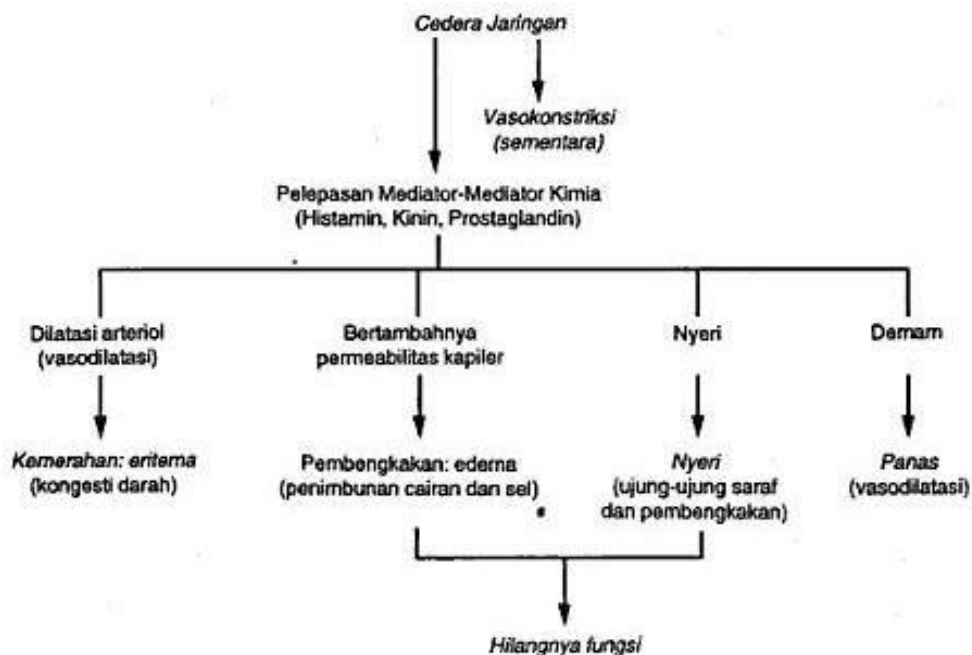
Inflamasi adalah suatu reaksi lokal jaringan terhadap infeksi atau cedera dan melibatkan lebih banyak mediator dibanding respon imun yang didapat. Inflamasi merupakan respon fisiologis terhadap berbagai rangsangan seperti infeksi dan cedera jaringan. Inflamasi dapat lokal, sistemik, akut dan kronis yang menimbulkan kelainan patologis (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009). Menurut Dorland (2011), inflamasi merupakan respon jaringan protektif terhadap cedera atau kerusakan jaringan yang berfungsi menghancurkan, mengurangi atau mengurung baik agen yang menyebabkan cedera maupun jaringan yang cedera tersebut.

Fase awal perlukaan adalah fase inflamasi. Fase ini terjadi sesaat setelah jaringan mengalami perlukaan. Secara simultan proses koagulasi, jalur asam arakidonat, sitokin dan faktor pertumbuhan akan bekerja bersama-sama dalam fase ini. Perlukaan yang terjadi pada jaringan akibat bakteri, trauma, bahan kimiawi, panas dapat menyebabkan pelepasan beberapa substansi yang menimbulkan perubahan sekunder dalam jaringan. Pelepasan beberapa substansi tersebut dapat mengakibatkan perubahan klinis pada fase inflamasi yaitu kemerahan, panas, pembengkakan dan rasa sakit. Perubahan klinis pada fase tersebut dikenal dengan reaksi inflamasi (Torre, 2006). Reaksi inflamasi yang berlangsung lama dapat mengakibatkan proses penyembuhan luka menjadi terhambat sedangkan fase inflamasi yang terlalu lama dapat mengakibatkan perpanjangan waktu penyembuhan luka. Agen antiinflamasi diperlukan untuk menghambat respon tidak baik pada jaringan akibat mekanisme inflamasi yang terlalu lama (Dubay dan Franz, 2003).

2.3.2 Komponen Inflamasi

Inflamasi merupakan reaksi terhadap cedera jaringan akibat dilepaskannya mediator-mediator kimia yang menyebabkan baik respon vaskular dan cairan serta sel-sel untuk bermigrasi ke tempat cedera. Mediator-mediator kimia tersebut adalah histamin, kinin dan prostaglandin. Histamin merupakan mediator pertama dalam proses inflamasi yang menyebabkan dilatasi arterioler dan meningkatkan permeabilitas kapiler, sehingga cairan dapat meninggalkan kapiler dan mengalir ke daerah cedera. Kinin juga meningkatkan permeabilitas kapiler

dan rasa nyeri. Ketika prostaglandin dilepaskan, vasodilatasi akan meningkat begitu juga dengan permeabilitas kapiler, nyeri dan demam (Kee, 1996).



Gambar 2.4 Respon mediator kimia terhadap cedera jaringan (Kee, 1996)

Komponen dari inflamasi sendiri terdiri dari dua bagian, yaitu sel-sel inflamasi dan mediator inflamasi. Sel-sel inflamasi yang banyak berperan yaitu dari kelompok sel-sel sistem imun non-spesifik, seperti neutrofil, sel mast, basofil, eosinofil dan makrofag jaringan. Neutrofil merupakan sel utama pada inflamasi dini, bermigrasi ke jaringan dan puncaknya terjadi pada 6 jam pertama. Sel-sel fagosit diperlukan untuk menyingkirkan bahan-bahan asing dan mati di jaringan yang cedera. Mediator inflamasi yang dilepas fagosit seperti enzim, radikal bebas anion superoksida dan oksida nitrit berperan untuk menghancurkan makromolekul dalam cairan eksudat. Sel endotel yang merupakan pembatas antara rongga ekstravaskular dan darah juga berperan dalam pengaturan tonus vaskular dan perfusi jaringan melalui pelepasan komponen vasodilator (prostasiklin/ PGI_2 , adenosine dan faktor relaksan turunan-endothel/EDRF) serta komponen vasokonstriksi (endotelin). Pengikatan leukosit ke sel endotel sangat meningkat pada saat inflamasi. Pengikatan tersebut diawali oleh ekspresi L-selektin pada permukaan leukosit, P-selektin dan E-selektin ada permukaan sel endotel

dengan reseptornya berupa hidrat arang. Interaksi ini memungkinkan terjadinya marginasi leukosit sepanjang dinding vaskular di tempat inflamasi. Produk sel mast merupakan mediator penting dalam proses inflamasi, beberapa diantaranya menimbulkan vasodilatasi dan edem serta meningkatkan adhesi neutrofil dan monosit ke endotel. Ikatan produk komplemen pada membran sel mast menginduksi degranulasi dengan pelepasan histamin dan mediator inflamasi lainnya. Mediator tersebut menginduksi kontraksi otot polos dan meningkatkan permeabilitas vaskular. Kerusakan sel endotel vaskular kemudian juga meningkatkan faktor pembekuan plasma yang mengaktifkan kaskade fibrin, fibrinolitik dan kinin (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

Segera setelah respon inflamasi timbul, berbagai sitokin dan mediator inflamasi lainnya berikatan dengan endotel kemudian bergerak keluar vaskular. Sitolin diperlukan pada awal reaksi inflamasi dan berfungsi mempertahankan respon inflamasi kronis. Di tempat infeksi, makrofag yang menemukan mikroba melepas sitokin (faktor nekrosis tumor/TNF dan interleukin-1/IL-1) yang mengaktifkan sel endotel sekitar venul untuk memproduksi selektin (ligan integrin dan kemokin). Selektin berperan dalam migrasi neutrofil di endotel, integrin berperan dalam adhesi neutrofil, sedangkan kemokin akan mengaktifkan neutrofil dan merangsang migrasi melalui endotel ke tempat infeksi (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

2.3.3 Proses Inflamasi

Proses inflamasi diperlukan sebagai pertahanan pejamu terhadap mikroorganisme yang masuk ke tubuh dan penyembuhan luka yang membutuhkan komponen selular untuk membersihkan debris di lokasi cedera, serta meningkatkan perbaikan jaringan. Proses inflamasi akan berjalan sampai antigen dapat disingkirkan. Hal tersebut pada umumnya terjadi cepat berupa inflamasi akut yang berlangsung beberapa jam hingga hari. Inflamasi akan pulih setelah mediator-mediator dinonaktifkan. Bila penyebab inflamasi tidak dapat disingkirkan atau terjadi pajanan berulang-ulang dengan antigen, akan terjadi inflamasi kronis yang dapat merusak jaringan dan jaringan kehilangan fungsi sama sekali (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

Lima respon umum pada cedera jaringan yang merupakan tanda-tanda inflamasi adalah *tumor* (bengkak), *rubor* (merah), *calor* (panas), *dolor* (nyeri) dan

functio laesa (kehilangan fungsi) (Kee, 1996). Beberapa komponen yang merangsang vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas vaskular seperti mediator enzim plasma berupa bradikinin dan fibrinopeptida, prostaglandin serta histamin yang juga meningkatkan kontraksi otot polos. Dalam beberapa jam setelah perubahan vaskular, neutrofil menempel pada sel endotel dan bermigrasi keluar pembuluh darah ke rongga jaringan, memakan patogen dan melepas mediator fungsi yang berperan dalam proses inflamasi. Makrofag jaringan yang diaktifkan akan melepas sitokin (IL-1, IL-6 dan TNF). Ketiga sitokin tersebut menginduksi koagulasi dan IL-1 menginduksi ekspresi molekul adhesi pada sel endotel. IL-1 dan TNF- α juga memicu makrofag dan sel endotel memproduksi kemokin yang berperan pada influks neutrofil melalui peningkatan ekspresi molekul adhesi. Pengaktifan makrofag akan meningkatkan fagositosis dan pelepasan enzim ke rongga jaringan. TGF- β akan membatasi respon inflamasi agar kerusakan jaringan tidak terjadi. Fibroblas akan terakumulasi dan berproliferasi, sedangkan endapan matriks ekstraselular yang aktif akan diperlukan untuk perbaikan jaringan (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

2.3.4 Respon Perbaikan Inflamasi

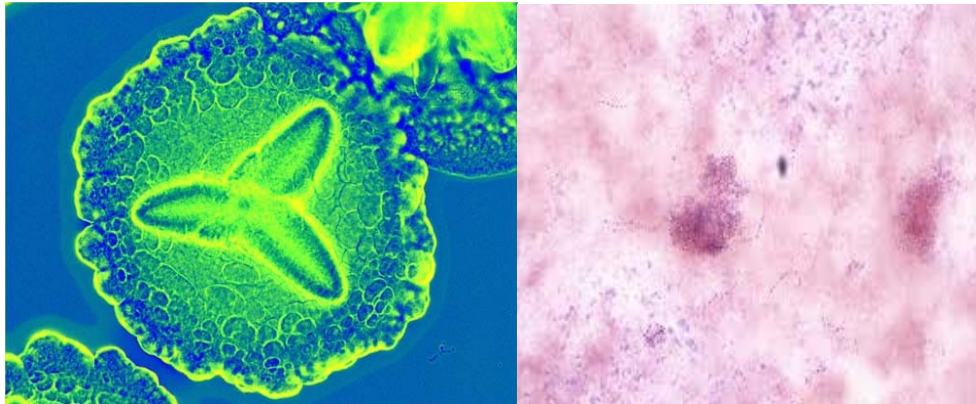
Adanya perlukaan pada jaringan selalu diikuti proses perbaikan atau penyembuhan luka (Percival, 1997). Perlukaan terhadap jaringan umumnya diikuti oleh reaksi lokal yang akut dan sebagian besar mempunyai karakteristik pada rangkaian perubahan vaskular (Singer dan Clark, 1999). Penyembuhan luka dapat ditandai dengan reaksi kemerahan, panas atau rasa sakit sebagai proses yang alami. Apabila luka yang bersifat lokal pada pasien tidak dilakukan upaya penyembuhan, maka luka akan menjadi suatu permasalahan serta dapat menimbulkan rasa yang tidak nyaman. Tahap awal proses penyembuhan dari perlukaan akan melibatkan jaringan yang rusak, selanjutnya jaringan ikat yang sehat akan terlihat dalam setiap tahapan dari proses penyembuhan (Percival, 1997).

Suatu respon inflamasi akan memicu produksi peptida vasoaktif yang berperan dalam peningkatan permeabilitas vaskular dan enzim dari kaskade kinin dan plasmin. Kaskade plasmin akan diperlukan dalam pembentukan kembali matriks ekstraselular pada penyembuhan luka. Bila fase inflamasi sudah dinetralkan oleh molekul antiinflamasi, penyembuhan jaringan diawali dengan

melibatkan berbagai sel seperti fibroblas dan makrofag. Sel-sel tersebut memproduksi kolagen yang diperlukan untuk perbaikan jaringan. Sifat penyembuhan yang disebabkan oleh cedera tergantung dari luas kerusakan jaringan dan jenis jaringan yang cedera. Jaringan dapat ditandai sebagai labil (berubah-ubah terus), stabil (berproliferasi bila dirangsang) dan permanen (sel tidak dapat memperbaiki diri sendiri). Bila sudah tidak ada pemusnahan sel dalam jaringan maka semua jaringan akan kembali ke keadaan normal melalui respon inflamasi. Bila terjadi pemusnahan sel, jaringan permanen hanya dapat sembuh dengan perbaikan melalui penyembuhan dengan pembentukan jaringan parut (*scar*). Jaringan yang labil dan stabil dapat sembuh melalui regenerasi bila kerusakan tidak berat dan jaringan dibawahnya tidak rusak (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

2.4 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

Actinobacillus actinomycetemcomitans merupakan flora normal rongga mulut yang sering ditemukan bercampur dengan plak di krevikular gingiva. Organisme ini merupakan golongan gram-negatif, tidak berspora, non-motil, coccobacillus anaerobik fakultatif yang dapat tumbuh di lingkungan dengan kadar CO₂ 5-10%. Tumbuh dengan optimal pada suhu 37°C, antara pH 7-8,5 dan bisa distimulasi dengan reagen molekuler rendah termasuk beberapa macam hormon steroid. Virulensi dari bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* terdapat pada kapsulnya yang mengandung lipopolisakarida. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* merupakan bakteri patogen oportunistik yang memiliki faktor virulensi potensial. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* juga memerankan peran penting dalam kemunculan penyakit sistemik seperti penyakit jantung koroner. Bakteri ini terlibat dalam proses patologi jaringan, yang meliputi: inflamasi gingiva dan destruksi ligamen periodontal serta tulang alveolar yang dikenal sebagai jembatan antar tulang dengan gigi. Faktor virulensi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dapat dibagi menjadi (i) pembentukan inflamasi, (ii) menginduksi destruksi jaringan, (iii) menghambat regenerasi jaringan (Henderson dkk., 2002).



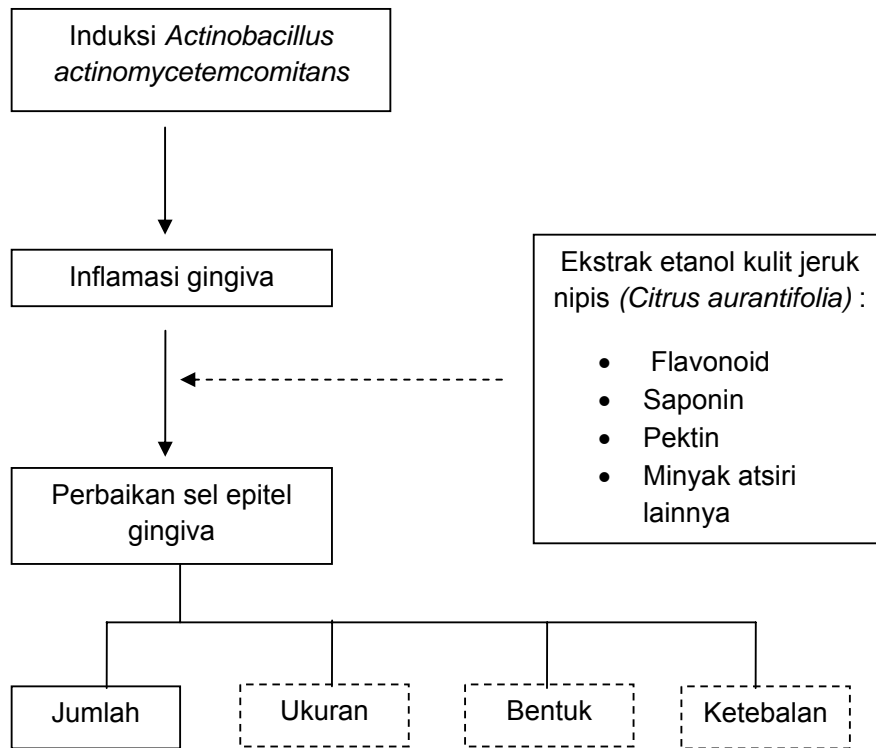
Gambar 2.5 Bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Garlet dkk., 2005)

Lapisan dari bakteri yang menempel pada permukaan gigi yang berhubungan dengan jaringan periodontal merupakan faktor etiologi dari penyakit periodontal. Secara in-vitro, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* menginduksi ekspresi beberapa sitokin dan kemoksin dengan tipe sel lain yang mungkin terlibat dalam memediasi pergerakan leukosit ke jaringan yang dituju (Garlet dkk., 2005).

Studi klinis menunjukkan bahwa *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dapat melakukan penetrasi ke epitel gingival. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan *Campylobacter rectus* juga memproduksi leukotoksin yang dapat membunuh netrofil dan monosit. Dinding bakteri gram negatif mengandung lipopolisakarida yang mana dikeluarkan setelah bakteri mati. Selain sebagai pencetus terjadinya proses inflamasi, lipopolisakarida juga dapat menyebabkan nekrosis jaringan. Bakteri gram negatif subgingiva menggunakan protein sebagai nutrisi mereka dan memiliki enzim proteolitik untuk memecah protein menjadi peptida dan asam amino agar dapat diabsorpsi. Sejumlah patogen periodontal ditunjukkan mampu memproduksi protease yang mampu mendegradasi struktur protein dan jaringan periodontal yang terlibat dalam reaksi imun dan inflamasi pada periodontitis kronis. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* memproduksi enzim kolagenase yang dapat merusak kolagen. Hal ini dapat mendorong terjadinya degradasi kolagen dan gangguan pada jaringan ikat periodontal (Tantin, 2007).

BAB III
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

- = menyebabkan
- - - - - → = menghambat
- = variabel yang diteliti
- (dashed) = variabel yang tidak diteliti

Bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* yang diinduksikan ke gingiva tikus akan menyebabkan respon inflamasi pada gingiva. Inflamasi yang terjadi menyebabkan kerusakan jaringan epitel gingiva. Ekstrak etanol dari kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mengandung senyawa berupa flavonoid, saponin, pektin dan minyak atsiri lainnya yang dapat memperbaiki kerusakan jaringan

epitel pada gingiva yang mengalami inflamasi. Perbaikan sel epitel gingiva yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat diamati melalui jumlah sel epitel gingiva yang masih normal.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) berpengaruh terhadap perbaikan sel epitel gingiva tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian kuantitatif secara *true experimental* laboratoris menggunakan desain *post-test only, control group design* untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap perbaikan sel epitel gingiva tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

4.2 Obyek Penelitian

Obyek dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar yang mempunyai kriteria sebagai berikut :

4.2.1 Inklusi

- a. tikus putih galur wistar berusia 2-3 bulan,
- b. berat badan 150-200 gram,
- c. sehat
- d. tidak cacat

4.2.2 Eksklusi

- a. perubahan berat badan selama adaptasi lebih dari 10%.

4.3 Jumlah Sampel

Pengulangan sampel ditentukan dengan rumus (Indra, 2003) :

$$P (n - 1) \geq 15$$

$$5 (n - 1) \geq 15$$

$$n - 1 \geq 3$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

P : jumlah perlakuan

n : jumlah pengulangan

Pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebanyak lima kali, maka banyaknya sampel yang digunakan adalah 25 sampel.

4.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli 2012 sampai dengan bulan Agustus 2012, di laboratorium Farmakologi, laboratorium Mikrobiologi dan laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.5 Variabel Penelitian

- a. Variabel independen : ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan berbagai dosis
- b. Variabel dependen : sel epitel gingiva

4.6 Definisi Operasional

- a. Ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah ekstrak yang diperoleh dengan cara maserasi dari kulit buah jeruk nipis dan diberikan secara per oral pada hewan coba. Jeruk nipis berwarna hijau, dipilih yang diameternya hampir sama ± 3 cm dan diidentifikasi pada Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Jeruk nipis diperoleh dari Pasar Besar kota Malang dan diekstraksi di Laboratorium Kimia Politeknik Negeri Malang.
- b. Epitel gingiva adalah jaringan epitel normal berbentuk skuamus berlapis yang terdapat pada gingiva tikus putih galur wistar dalam penelitian.
- c. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* adalah bakteri gram negatif golongan anaerob yang digunakan untuk merangsang inflamasi pada tikus dengan cara diusapkan pada gingiva sebelah labial rahang bawah menggunakan sonde mikro.

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. kandang tikus
- b. botol minum
- c. timbangan tikus
- d. wadah pakan
- e. syringe

- f. oven
- g. timbangan
- h. labu Erlenmeyer
- i. corong gelas
- j. kertas saring
- k. labu evaporator
- l. labu penampung etanol
- m. *rotary evaporator*
- n. selang *water pump*
- o. *water pump*
- p. *water bath* dan *vacuum pump*
- q. sonde mikro dan *gastric*
- r. papan bedah dan alat bedah
- s. cawan petri
- t. gelas kimia
- u. timbangan analitik
- v. *object and deck glass*
- w. tabung tertutup
- x. *automatic tissue processor*
- y. pemotong mikrotom
- z. *incubator* dan mikroskop

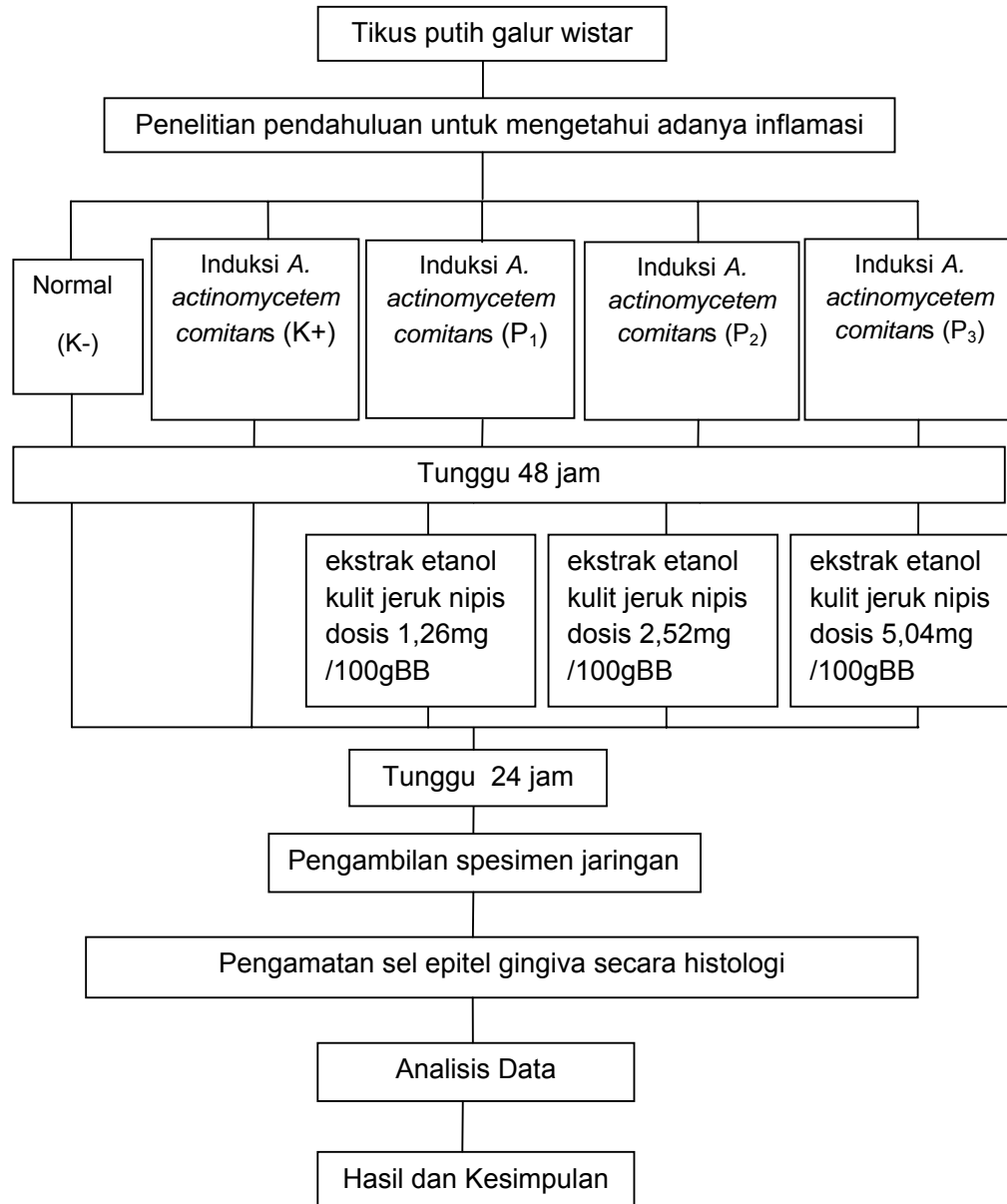
4.7.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. pakan tikus (pati jagung, minyak jagung, kasein, daging tenderloin, isolat protein kedelai, *fruit soy bar*, mineral mix, vitamin mix, CMC dan air)
- b. bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*
- c. kapas
- d. kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)
- e. etanol 70%
- f. aquades
- g. *tissue*
- h. *alluminium foil*
- i. larutan buffer formalin 10%

- j. parafin cair
- k. *xylol*
- l. pewarna hematoksin-eosin

4.8 Pengelompokan Sampel



Keterangan :

K - : lima sampel berupa tikus dengan gingiva yang tidak diberi apapun (normal)

- K⁺ : lima sampel berupa tikus dengan gingiva yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* tanpa diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)
- P₁ : lima sampel berupa tikus dengan gingiva yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan dosis 1,26 mg/100gBB
- P₂ : lima sampel berupa tikus dengan gingiva yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan dosis 2,52 mg/100gBB
- P₃ : lima sampel berupa tikus dengan gingiva yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan dosis 5,04 mg/100gBB
- Dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis yang diberikan didasarkan pada penelitian Widowati *dkk.* (2011).

4.9 Prosedur Penelitian

4.9.1 Persiapan

4.9.1.1 Pemeliharaan dan Pengondisian Tikus

Dua puluh lima tikus ditempatkan dalam lima kandang terpisah secara acak. Setiap hari tikus diberi makan dan dibersihkan kandangnya. Tikus diadaptasikan di kandang selama satu minggu. Kemudian dua puluh lima tikus dibagi dalam lima kelompok, satu kelompok sebagai kontrol positif, satu kelompok sebagai kontrol negatif dan tiga kelompok sebagai kelompok perlakuan. Sebelum diberi perlakuan, tikus dipuasakan selama 18 jam dan hanya diberi air minum.

4.9.1.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis

Kulit jeruk nipis (sampel basah) dicuci bersih lalu dikeringkan, kemudian dipotong kecil-kecil. Potongan kulit jeruk dioven dengan suhu 60°C atau dipanaskan dibawah sinar matahari sampai kering (bebas kandungan air). Setelah kering, kulit jeruk nipis dihaluskan lalu diblender sampai hancur. Ditimbang sebanyak 100 gram (sampel kering). Sampel kering sebanyak 100 gram dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer ukuran 1 liter. Kemudian direndam

dengan etanol sampai volume 900 ml dan diaduk sampai benar - benar tercampur (\pm 30 menit). Campuran didiamkan 1 malam sampai mengendap.

Lapisan teratas campuran etanol dengan zat aktif diambil dan dimasukkan ke dalam labu evaporasi 1 liter. Labu evaporasi dipasang pada evaporator. *Water bath* diisi dengan air sampai penuh. Semua rangkaian alat, dipasang, termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (diatur sampai suhu 90°C) dan disambungkan dengan aliran listrik. Larutan etanol dibiarkan memisah dengan zat aktif yang ada di dalam labu, kemudian ditunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung (\pm 1,5 sampai 2 jam untuk 1 labu). Hasil yang diperoleh kira - kira $\frac{1}{3}$ dari bahan alam kering. Hasil ekstraksi kemudian dimasukkan dalam botol ekstraksi dan disimpan dalam *freezer* laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya Malang.

4.9.2 Pelaksanaan

Actinobacillus actinomycetemcomitans diinduksikan pada gingiva tikus kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan dengan cara diulaskan pada gingiva tikus sebelah labial rahang bawah. Bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* didapatkan dari laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Airlangga dan dikultur di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pengulasan bakteri dilakukan selama 48 jam dan diulaskan dua kali dalam 24 jam. Waktu pengulasan didasarkan pada kemunculan tanda-tanda inflamasi saat penelitian pendahuluan. Setelah di dapatkan inflamasi dengan tanda *rubor, calor, dolor, tumor dan functio laesa*, ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) diberikan 2 kali selama 24 jam dengan dosis yang berbeda pada setiap kelompok perlakuan. Perlakuan pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut :

- a. Kelompok kontrol negatif adalah kelompok tikus yang tidak diusap *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan tidak diberi ekstrak
- b. Kelompok kontrol positif adalah kelompok tikus yang diusap *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, namun tidak diberi ekstrak
- c. Kelompok perlakuan 1 (P_1) adalah kelompok tikus yang diusap *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan diberi ekstrak dengan dosis 1,26 mg/100gBB

- d. Kelompok perlakuan 2 (P₂) adalah kelompok tikus yang diusap *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan diberi ekstrak dengan dosis 2,52 mg/100gBB
- e. Kelompok perlakuan 3 (P₃) adalah kelompok tikus yang diusap *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan diberi ekstrak dengan dosis 5,04 mg/100gBB

Dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis yang diberikan didasarkan pada dosis pada penelitian sebelumnya (Widowati *dkk.*, 2011). Pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan menggunakan spuit yang ujungnya dipasang sonde *gastric* sehingga dapat masuk dalam mulut tikus hingga ke lambung. Setelah perlakuan selesai, pemberian ekstrak dengan tujuan ekstrak telah diabsorpsi dan didistribusikan ke seluruh tubuh termasuk jaringan terinflamasi ditunggu hingga 24 jam. Lama pemberian ekstrak didasarkan pada mulai hilangnya tanda-tanda inflamasi seperti *rubor* dan *tumor* di gingiva tikus. Tikus dikorbankan dengan cara memasukkan tikus ke dalam tabung berisi gas eter dengan dosis letal, selanjutnya dilakukan dekaputasi gingiva. Spesimen jaringan yang telah diambil kemudian dimasukkan dalam tabung tertutup yang berisi larutan *buffer* formalin 10% untuk difiksasi selama 24 jam. Setelah difiksasi, sampel jaringan didekalsifikasi menggunakan EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid). Jaringan yang awalnya lembek, akan menjadi keras sehingga akan lebih mudah dipotong menggunakan mikrotom. Lapisan ini kemudian diletakkan di atas kaca objek.

Prosedur pengecatan dimulai dengan deparafinisasi dengan *xylol* untuk menghilangkan parafin, diikuti dengan rehidrasi dengan alkohol secara bertingkat untuk menghilangkan *xylol*. Sisa alkohol dihilangkan dengan membasuh preparat di bawah air mengalir. Setelah itu dilakukan prosedur pengecatan HE (hematoksilin-eosin) yang kemudian dilanjutkan dengan *clearing xylol* untuk memberikan warna bening pada jaringan. Prosedur *mounting* dilakukan agar preparat awet dan semakin jernih. Preparat kemudian ditutup *deck glass* dan diberi label. Penurunan kerusakan sel epitel gingiva ditentukan dengan cara menghitung sisa sel epitel gingiva yang intinya masih normal. Pembesaran yang digunakan adalah pembesaran 400 kali. Pengukuran dilakukan pada 4 lapang pandang dengan menggunakan penggaris millimeter yang tersedia pada visopan, kemudian diambil rata-ratanya.

4.10 Analisis Data

Sel epitel yang berasal dari 25 sampel tikus putih galur wistar dalam penelitian ini dikumpulkan lalu diamati. Pengamatan secara histologi menunjukkan sel epitel gingiva saat normal (tidak diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ataupun tidak diberi ekstrak kulit jeruk nipis), saat diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* saja dan saat diberi tiga dosis ekstrak kulit jeruk nipis. Analisis data untuk mengetahui sisa sel epitel gingiva yang masih normal menggunakan uji *one-way Anova*. Adapun syarat yang harus dipenuhi dalam menggunakan uji *one-way Anova* adalah sebagai berikut (Munir, 2008) :

- a. Analisis hubungan antara data kategorik dan numerik
- b. Kelompok yang diuji adalah tiga atau lebih sampel bebas
- c. Memiliki distribusi data normal
- d. Variabel kategoriknya berisi lebih dari 2 kategorik
- e. Hanya memperhitungkan satu faktor saja yang menyebabkan variasi

Hipotesis ditentukan berdasarkan nilai signifikansi yang diperoleh. Jika nilai signifikansi $p < 0,05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak, tetapi bila nilai signifikansi $p > 0,05$, berarti H_0 ditolak dan H_1 diterima. Jika H_1 diterima, maka langkah selanjutnya adalah dengan melakukan uji perbandingan berganda atau *Post Hoc Test*, yaitu untuk mengetahui pasangan kelompok perlakuan yang saling berbeda maknanya. Seluruh teknis pengolahan data dianalisis secara komputerisasi dengan menggunakan *software statistical product and service solution 15 PS (SPSS 15PS)* (Munir, 2008).

BAB V
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

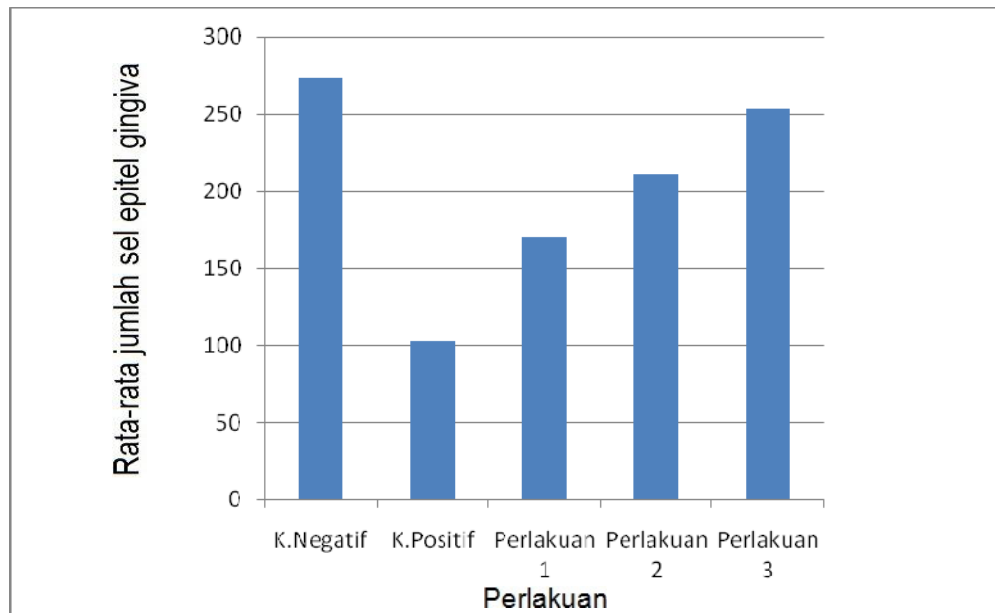
5.1 Hasil Penelitian

Dari penelitian diperoleh hasil bahwa jumlah sel epitel gingiva tikus galur wistar senantiasa mengalami peningkatan pada pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan tiga dosis. Pada kelompok kontrol negatif (K-) diperoleh rata-rata jumlah sel epitel gingiva sebanyak 273,52. Pada kelompok kontrol positif (K+) diperoleh rata-rata jumlah sel epitel gingiva sebanyak 102,76. Pada kelompok perlakuan (P₁) dengan pemberian dosis 1,26mg /100gBB, diperoleh rata-rata jumlah sel epitel gingiva sebanyak 169,62. Sedangkan pada kelompok perlakuan (P₂) dengan pemberian dosis 2,52mg /100gBB, diperoleh rata-rata jumlah sel epitel gingiva sebanyak 211. Pada kelompok perlakuan (P₃) dengan pemberian dosis tertinggi yaitu 5,04mg /100gBB, diperoleh rata-rata jumlah sel epitel gingiva sebanyak 252,82.

Perlakuan	Jumlah Sel Epitel	Rata-rata
Kontrol negatif (K-)	274,00	273,52
	272,50	
	275,80	
	274,50	
	270,80	
Kontrol positif (K+)	95,50	102,76
	108,00	
	105,30	
	89,00	
	106,00	
Perlakuan 1 (P ₁)	163,80	169,62
	175,00	
	169,00	
	176,50	
	163,80	
Perlakuan 2 (P ₂)	218,50	211
	201,00	
	208,50	
	215,50	
	211,50	

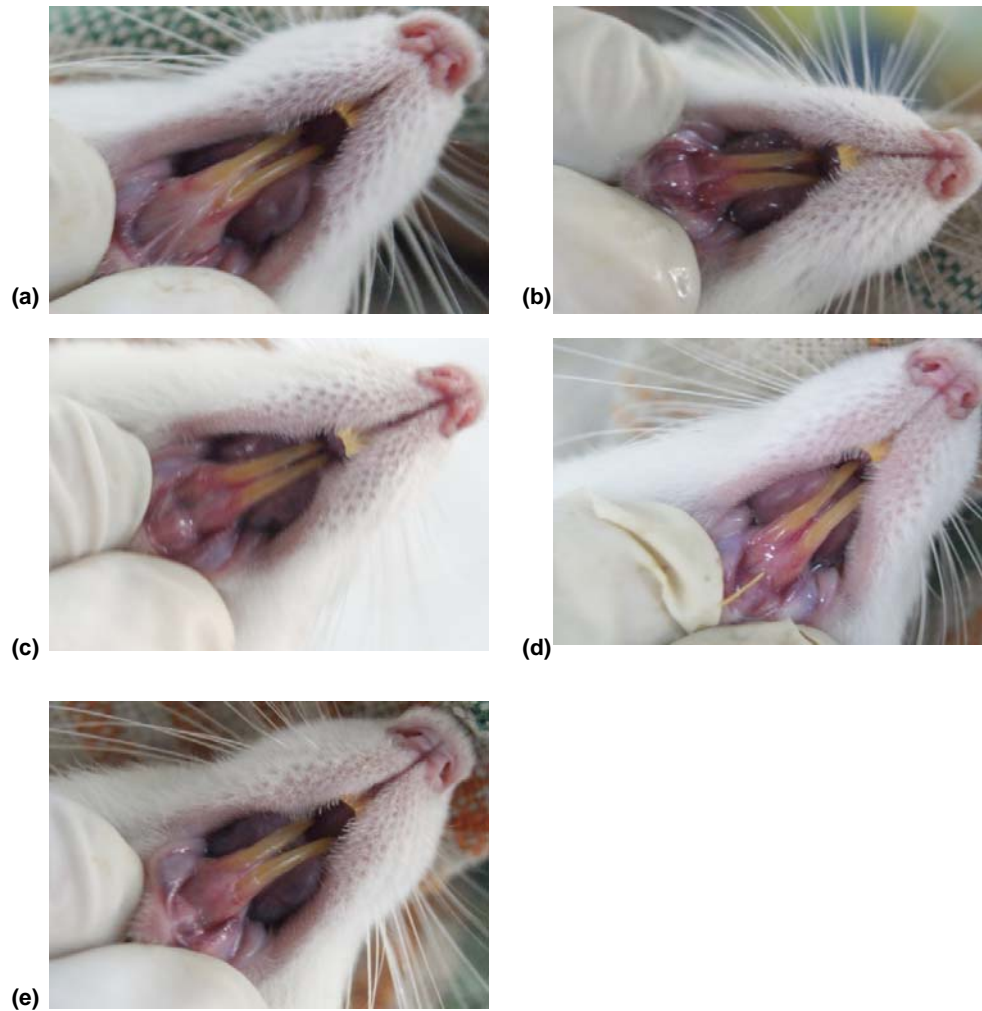
Perlakuan 3 (P ₃)	246,50	252,82
	254,80	
	247,50	
	258,50	
	256,80	

Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Jumlah Sel Epitel Gingiva



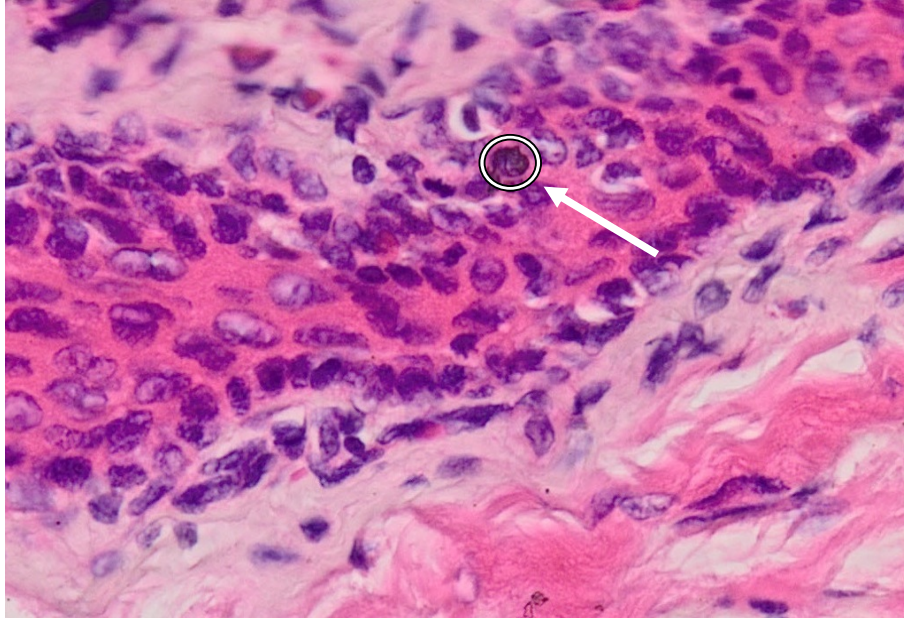
Gambar 5.1 Rata-rata Jumlah Sel Epitel Gingiva pada Setiap Kelompok Perlakuan

Berikut ini adalah gambaran klinis gingiva tikus galur wistar setiap perlakuan.

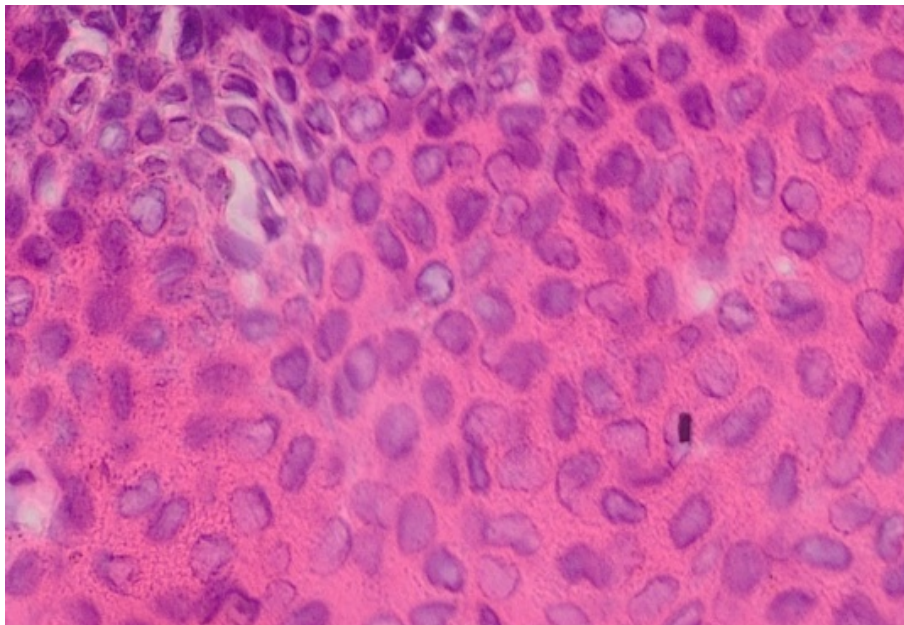


Gambar 5.2 Perbedaan keadaan klinis gingiva sebelum induksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (a) dan setelah induksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (b). Perbedaan terlihat jelas dari tanda-tanda klinis peradangan yang diperoleh setelah induksi bakteri pada gingiva anterior bawah, yaitu gingiva lebih memerah, membesar dan tikus merasa kesakitan saat gingiva tersebut diberi tekanan. Gambaran klinis gingiva yang telah diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* kemudian diberi ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan dosis 1,26mg /100gBB (c), dosis 2,52mg /100gBB (d) dan dosis 5,04mg /100gBB (e).

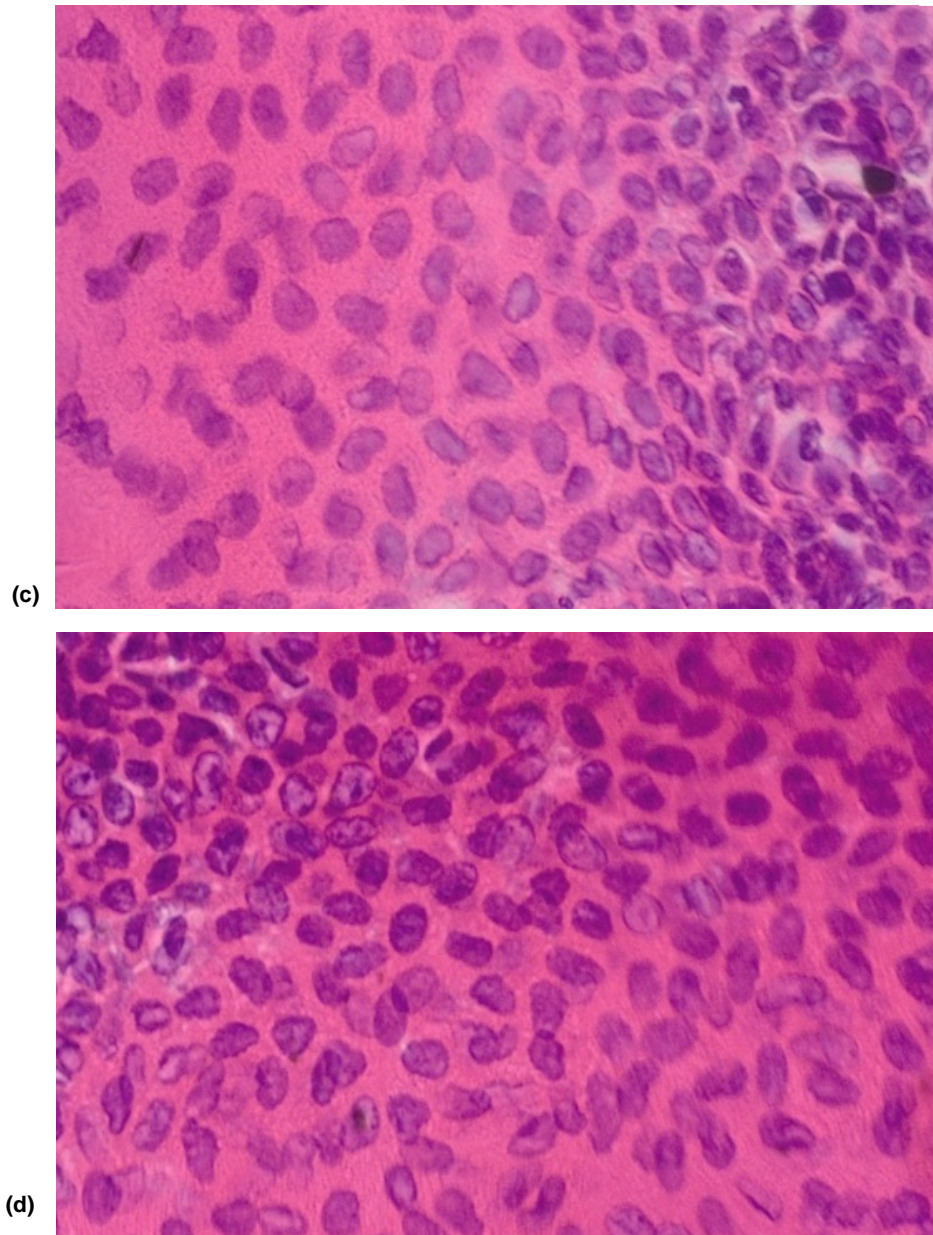
Berikut ini adalah gambar preparat sel epitel gingiva tikus setiap perlakuan.



(a)



(b)



Gambar 5.3 Perbedaan keadaan histopatologis sel epitel gingiva pada tiap perlakuan. Gambar (a) merupakan sel epitel yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* namun tidak diberi ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Tanda panah menunjukkan salah satu sel yang rusak akibat induksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Gambaran histopatologis gingiva yang telah diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* kemudian diberi ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan dosis 1,26mg /100gBB (b), dosis 2,52mg /100gBB (c) dan dosis 5,04mg /100gBB (d).

5.2 Analisis Data

Dari data yang diperoleh, sebelum dilakukan uji hipotesis dengan *one way ANOVA*, dilakukan uji normalitas terlebih dahulu dengan uji Kolmogorov-Smirnov. Nilai signifikansi yang diperoleh sebesar 0,532 , yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Kemudian dilakukan uji keragaman data (*homogeneity of variance*) dengan uji Levene sehingga diperoleh nilai 1,077 dengan signifikansi (p) = 0,078 (lampiran 1). Dari hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa $p > 0,05$ yang berarti data bersifat homogen.

5.2.1 Hubungan Perlakuan dan Dosis terhadap Jumlah Sel Epitel Gingiva

Dari hasil uji normalitas dan uji keragaman data diperoleh kesimpulan bahwa data terdistribusi normal dan homogen sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan uji *one way ANOVA*. Dari hasil uji hipotesis *one way ANOVA*, diperoleh nilai signifikansi (p) = 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat pengaruh yang signifikan antara perlakuan dan dosis terhadap jumlah sel epitel gingiva.

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna antara perlakuan dan dosis satu dengan lainnya dalam mempengaruhi jumlah sel epitel gingiva, maka dilakukan analisis dengan *Post Hoc Test*. Dari hasil uji, diperoleh nilai bahwa terdapat perbedaan bermakna setiap kelompok perlakuan dan dosis dalam mempengaruhi jumlah sel epitel gingiva dengan nilai signifikansi (p) $< 0,05$.

5.2.2 Hubungan Dosis terhadap Jumlah Sel Epitel Gingiva

Persentase dosis yang berpengaruh terhadap jumlah sel epitel gingiva dianalisis dengan menggunakan uji regresi. Pada uji korelasi, hasil menunjukkan positif yang berarti peningkatan dosis seiring dengan peningkatan jumlah epitel. Hasil uji regresi menunjukkan bahwa persentase dosis yang berpengaruh pada peningkatan jumlah epitel adalah sebanyak 92,1%. Sedangkan 1% kenaikan dosis dalam penelitian ini akan menambah jumlah epitel rata-rata sebanyak 29,270.

BAB VI PEMBAHASAN

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap perbaikan sel epitel gingiva tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Hipotesis dari penelitian ini adalah ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) berpengaruh terhadap perbaikan sel epitel gingiva tikus galur putih wistar yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Pada penelitian ini, dilakukan perhitungan jumlah sel epitel gingiva pada masing-masing tikus yang telah diberi perlakuan.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan menggunakan tikus galur wistar yang berusia 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gram yang dibagi menjadi lima kelompok dan terdiri atas kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1 (P_1), kelompok perlakuan 2 (P_2) serta kelompok perlakuan 3 (P_3). Semua tikus diambil gingivanya kemudian dibuat sediaan preparat dengan metode pengecatan HE (Hematoksilin-Eosin). Sel epitel diamati dan dihitung jumlahnya kemudian dirata-rata.

Secara statistik diperoleh hasil bahwa terdapat pengaruh yang signifikan antara perlakuan dan dosis terhadap jumlah sel epitel gingiva, dibuktikan dengan nilai signifikansi (p) sebesar $= 0,000$ ($p < 0,05$). Sedangkan dari hasil uji *Post Hoc*, diperoleh nilai bahwa terdapat perbedaan bermakna setiap kelompok perlakuan dan dosis dalam mempengaruhi jumlah sel epitel gingiva dengan nilai signifikansi (p) $< 0,05$. Hasil uji regresi menunjukkan bahwa ekstrak etanol jeruk nipis mempunyai pengaruh sebesar 92,1% terhadap kenaikan jumlah sel epitel gingiva dan setiap 1% penambahan dosis, akan meningkatkan jumlah epitel rata-rata sebanyak 29,270.

Pada kelompok kontrol negatif rata-rata jumlah sel epitel sebanyak 273,500. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif didapatkan rata-rata jumlah sel epitel sebanyak 102,750. Pada kelompok perlakuan 1 (P_1) diperoleh kenaikan rata-rata jumlah sel epitel menjadi 169,600. Sedangkan kelompok perlakuan 2 (P_2) terdapat kenaikan rata-rata jumlah sel epitel menjadi 211,000. Pada

kelompok perlakuan 3 (P_3) diperoleh kenaikan rata-rata jumlah sel epitel sebanyak 252,800.

Sebelum tikus diberi perlakuan, tikus dipuasakan selama 18 jam terlebih dahulu. Penelitian yang dilakukan Rustam *dkk.* (2007) tentang efek antiinflamasi ekstrak etanol kunyit pada tikus putih galur wistar didahului dengan pemuasaan tikus selama 18 jam (tetap diberi air minum) sebelum perlakuan pada saat aklimatisasi. Demikian juga pada penelitian yang dilakukan Kawatu *dkk.* (2013) yang melakukan pemuasaan selama 18 jam (tetap diberi air minum) pada tikus putih galur wistar sebagai hewan coba sebelum diberi perlakuan. Penelitian Hafid dan Rugayah (2009) menunjukkan pemuasaan yang dilakukan pada hewan coba bertujuan agar hewan tidak mengalami stress dan tetap tenang saat dikorbankan. Maksud lain dari pemuasaan sendiri adalah untuk memperoleh bobot tubuh kosong yaitu bobot tubuh setelah dikurangi isi saluran pencernaan, isi kandung kemih dan isi saluran kencing. Pemuasaan juga dapat meminimalkan pengaruh pakan hewan terhadap hasil penelitian yang diperoleh, karena dalam periode 18 jam, glikogen yang dipecah oleh hati akan habis digunakan untuk memenuhi asupan nutrisi dalam tubuh hewan coba.

Berdasarkan studi oleh Carranza *dkk.* (2011), gingiva adalah jaringan ikat yang dilapisi oleh epitel skuamus. Fungsi utama dari epitel gingiva adalah melindungi struktur yang lebih dalam dan mengatur pertukaran interselektif dengan lingkungan rongga mulut. Keadaan histopatologi yang mengikuti saat gingiva mengalami inflamasi adalah dilatasi kapiler dan penipisan atau ulserasi yang terjadi pada epitel sulkus. Warna dari gingiva akan menjadi lebih merah saat terjadi peningkatan vaskularisasi dan lapisan keratinisasi epitel menjadi berkurang sampai hilang.

Telah diketahui bahwa kulit buah jeruk nipis kaya akan komponen *flavonoid polymethoxilate* (Astarini *dkk.*, 2009). Penelitian yang dilakukan Chang dan Kinghorn (2011) juga menunjukkan bahwa jeruk nipis juga memiliki kandungan saponin dan flavonoid yaitu hesperidin (hesperetin 7-rutinosida) yang bermanfaat untuk antiinflamasi, antioksidan dan menghambat sintesis prostaglandin. Hal tersebut juga didukung oleh penelitian Waji dan Sugrani (2009) yang menyatakan bahwa flavonoid memiliki manfaat untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Widowati *dkk.* (2011), ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memberikan efek antipiretik terhadap tikus putih yang telah diinduksi demam menggunakan vaksin DPT. Efek antipiretik yang ditimbulkan setara dengan efek antipiretik asetaminofen. Dosis yang digunakan pada penelitian tersebut adalah 1,26 mg/100grBB, 2,52 mg/100grBB dan 5,04 mg/100grBB.

Secara umum, terlihat hasil yang sesuai dengan hipotesis bahwa pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memberikan pengaruh perbaikan terhadap sel epitel gingiva berupa kenaikan jumlah sel pada ketiga kelompok dosis. Keadaan epitel saat terjadi peradangan sangat jelas terlihat pada preparat kontrol positif yang mempunyai jumlah rata-rata sel epitel paling sedikit diantara kelompok perlakuan lainnya. Pada kelompok tikus yang diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis, terlihat bahwa terjadi peningkatan jumlah sel epitel gingiva yang menunjukkan adanya perbaikan sel setelah mengalami peradangan. Pengamatan juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara perlakuan dan dosis satu dengan lainnya dalam mempengaruhi jumlah sel epitel gingiva. Dosis ketiga yaitu 5,04 mg/100grBB merupakan dosis yang paling efektif dalam meningkatkan jumlah sel epitel gingiva. Perbaikan sel epitel yang ditandai oleh peningkatan jumlah sel sebagian besar dipengaruhi oleh kandungan ekstrak etanol jeruk nipis, seperti flavonoid, saponin, vitamin C serta minyak atsiri lainnya. Hal tersebut ditunjukkan oleh persentase dosis sebesar 92,1% yang mempengaruhi peningkatan jumlah epitel .

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

- a. Ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) berpengaruh terhadap perbaikan sel epitel gingiva tikus putih galur wistar yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*
- b. Semakin tinggi dosis ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang diberikan maka semakin banyak pula jumlah sel epitel gingiva yang normal

7.2 Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai obat antiinflamasi lain berbasis obat tradisional
- b. Perlu dilakukan pengkajian lebih lanjut mengenai manfaat ekstrak etanol kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai obat antiinflamasi berbasis obat tradisional dalam upaya menangani gingivitis di kalangan masyarakat
- c. Perlu dilakukan pengkajian lebih lanjut mengenai sediaan ekstrak etanol kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam bentuk topikal maupun tablet sistemik sebagai obat antiinflamasi berbasis obat tradisional

DAFTAR PUSTAKA

- Adina, A.B., Handoko, F.F., Setyarini, I.I., Sulistiyorini, E. 2008. *Jeruk Nipis*. (Online) (<http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>, diakses tanggal 18 Mei 2012)
- Andajani, T.W., Maharddika, D. 2003. *Perbandingan Efek Aplikasi Adas Manis Segar Tumbuk dan Adas Manis Segar Destilasi Pada Mukosa Mulut Tikus Wistar Strain LMR yang Mengalami Peradangan (Penelitian Laboratorik)*. JKGUI. 2003;10 (Edisi Khusus): 478-80
- Andreas. 2011. *Gigiku Terawat Hidupku Sehat*. (Online) (<http://kalbenutritionals.com>, diakses tanggal 29 Januari 2012)
- Astarini, N.P.F., Burhan, R.Y.P., Zetra, Yulfi. 2009. *Minyak Atsiri dari Kulit Buah Citrus grandis, Citrus aurantium (L.) dan Citrus aurantifolia (Rutaceae) sebagai Senyawa Antibakteri dan Insektisida (Skripsi)*. Surabaya : Fakultas MIPA Institut Teknologi Sepuluh November
- Baratawidjaja, A.G., Rengganis, I. 2009. *Imunologi Dasar edisi 8*. Jakarta : Balai Penerbit FKUI
- Bhaskar SN. 1981. *Synopsis of Oral Pathology*. Saint Louis: The C.V. Mosby Company
- Carranza, F.A., Newman, M.G., Takei, H.H. 2011. *Carranza's Clinical Periodontology 11th edition*. California : W.B. Saunders Company
- Chang, L.C. and Kinghorn, A.D. 2001. *Flavonoid as Cancer Chemopreventive Agents*. New York : Taylor and Francis
- Dale, B.A. 2002. *Periodontal Epithelium : A Newly Recognized Role in Health and Disease*. (Online) (<http://onlinelibrary.wiley.com>, diakses tanggal 30 Januari 2012)
- Dubay, D.A., Franz, M. 2003. *Acute Wound Healing: The Biology of Acute Wound Failure*. Surgical Clinics of North America. 2003;83(3):1-17
- Dorland, W.A.N. 2011. *Kamus Ilustrasi Kedokteran Dorland edisi 32*. Jakarta: EGC
- Fidary,H., Lessang,R. 2008. *Periodontitis Agresif; Karakteristik dan Perawatannya*. Majalah Kedokteran Gigi; Desember 2008; 15(2): 187-190
- Hafid, H., Rugayah, N. 2009. *Persentase Karkas Sapi Bali pada Berbagai Berat Badan dan Lama Pemuaasaan Sebelum Pemotongan*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2009

- Hanafiah, Kemas Ali. 1993. *Rancangan Percobaan, Teori dan Aplikasi*. Jakarta : Rajawali
- Harrison, J.W. 1991. *Healing of Surgical Wound in Oral Mucoperiosteal Tissue*. J.Endod. 1991; 17(8):401-8
- Harrison. 1994. *Principles of Internal Medicine*. Singapore : McGraw-Hill Inc.
- Hartono, Teguh. 2009. *Saponin*. (Online) (<http://farmasi.asia> , diakses tgl 5 maret 2013)
- Hidayati, N.A., Listyawati, S., Setyawan, A.D. 2005. *Kandungan Kimia dan Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol Lantana camara L. pada Tikus Putih (Rattus norvegicus L.) Jantan*. Bioteknologi 5 (1): 10-17, Mei 2008, ISSN: 0216-6887
- Henderson, B., Wilson, M., Sharp, L., Ward, J. M. 2002. *Review Article : Actinobacillus actinomycetemcomitans*. J. Med. Microbiol. — Vol. 51, 1013–1020
- Hoag, P.M., Pawlak, E.A. 1990. *Essentials of Periodontics*, 4th ed., Philadelphia: C.V Mosby Company. 1990;5-12
- Julianti, R., Dharma, M.S., Erdaliza, Anggia,D., Fahmi,F., Aidi,L., Alfian,M. 2008. *Tutorial : Gigi dan Mulut*. Riau : Fakultas Kedokteran Universitas Riau
- Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. 2001. *Pektin Jeruk*. (Online) (<http://ristek.go.id> , diakses tanggal 18 Maret 2013)
- Kawatu, C., Bodhi, W., Mongi, J. 2013. *UJI EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN KUCING-KUCINGAN (Acalypha Indica L.) TERHADAP KADAR GULA DARAH TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (Rattus novergicus)*. Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT Vol. 2 No. 01
- Kee, Joyce L. 1996. *Farmakologi : Pendekatan Proses Keperawatan*. Jakarta : EGC
- Lee YL, Hsiue TR, Lee YC, Lin YC, Guo YL. 2005. *The Association Between Glutathione S Transferase P1, M1 Polymorphisms and Asthma in Taiwanese Schoolchildren*. J. Chest. 128: 1156-62
- Markov, P.A., Popov, S.V., Nikitina, I.R., Ovodova, R.G., Ovodov, Yu S. 2011. *Anti-inflammatory activity of pectins and their galacturonan backbone*. Russian Journal of Bioorganic Chemistry, December 2011, Volume 37, Issue 7, pp 817-821
- Meiyanto, Adi. 2008. *Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia)*. (Online) (<http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id>, diakses tanggal 30 Januari 2012)

- Mjor I.A. , Fejerskov O. 1991. *Embriologi dan Histologi Rongga Mulut*. Jakarta : Widya Medika
- Munir, Sahibul. 2008. *Modul 13 : Uji Hipotesis Analisis of Variance*. Fakultas Ekonomi Universitas Mercu Buana
- Naharsari, Nur Dyah. 2011. *Bercocok Tanam Jeruk*. Jakarta : Ganeca Exact
- Nijveldt, R.J., Van Nood, E., Van Hoorn, E., Boelens, P.G., Van Norren, K., Van Leeuwen. 2001. *Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential application*. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001;74: 418-25
- Percival, M. 1997. *Nutritional Support for Connective Tissue Repair and Wound Healing*. *J. Clin. Nut.* 1997;26: 1-4
- Popov, S.V., Popova, G.Y., Paderin, N.M., Koval, O.A., Ovodova, R.G., Ovodov, Y.S. 2007. *Preventative antiinflammatory effect of potamogetonan, a pectin from the common pondweed Potamogeton natans L.* *J. Phytother Res.* 2007 Jul;21(7):609-14
- Rateitschak, Edith M., Klaus, H., Wolf, Herbert F., Hassell, Thomas M. 1985. *Color Atlas of Periodontology*. New York : Thieme Inc.
- Rustam, E., Atmasari, I., Yanwirasti. 2007. *Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Kunyit (Curcuma domestica Val.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, Vol.2, No.2, 2007, halaman 112-115
- Saljughi, H., Domanska, Y. 2011. *Hygienist*. (Online) (<http://st-augustines-dentalcare.com>), diakses tanggal 18 Maret 2013
- Silva, D.C., Freitas, A.L., Pessoa, C.D., Paula, R.C., Mesquita, J.X., Leal, L.K., Brito, G.A., Gonçalves, D.O., Viana, G.S. 2011. *Pectin from Passiflora edulis shows anti-inflammatory action as well as hypoglycemic and hypotriglyceridemic properties in diabetic rats*. *J Med Food.* 2011 Oct;14(10):1118-26
- Singer, A.J., Clark, R.A.F. 1999. *Cutaneous Wound Healing*. *J. NEJM.* 1999;341(10):738-46
- Setiawan, Dalimartha. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia jilid 2*. Jakarta : Trubus Agriwidya
- Syafril, Yuniarti.1996. *Regenerasi Jaringan Periodontium Setelah Perawatan Periodontal*. *Cermin Dunia Kedokteran No.113*. (Online) (<http://kalbe.co.id>, diakses tanggal 30 Januari 2012)

- Tantin, Ermawati. 2007. *Pengaruh Chlorine Dioxide Gel atau Rinse terhadap Jumlah Actinobacillus actinomycetemcomitans pada sulkus gingival tikus*. Tesis : SEKOLAH PASCASARJANA UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA
- Tringali, Corrado. 2001. *Bioactive Compounds from Natural Sources : Isolation, characterisation and biological properties*. Canada : Taylor and Francis Inc.
- Torre, J. 2006. *Wound Healing, Chronic Wounds*. (Online) (<http://www.emedicine.com>, diakses tanggal 4 Maret 2013)
- Velde, Fred. De Ruiter, Gerhard A. 2006. *Carragennan*. Netherlands : NIZO Food Research
- Wahyukundari, Melok Aris. 2008. *Perbedaan Kadar Matrix Metalloproteinase-8 setelah Scalling dan Pemberian Tetrasiklin pada Penderita Periodontitis Kronis (Skripsi)*. Surabaya : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
- Waji, R. A., Sugrani, A. 2009. *Flavonoid (Quercetin)*. Makassar : Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin
- Wang, J.R., Zhou,H., Jiang, Z.H., Liu, L. 2008. *Two new triterpene saponins from the anti-inflammatory saponin fraction of Ilex pubescens root*. J. PubMed. Jul ; 5(7): 1369-76.
- Widowati, AK dan Hikmayani, MH dan Poncorini, EP. 2011. *Efek Antipiretik Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolium L) Pada Tikus Putih (Rattus novergicus)*. Jurnal Penelitian disajikan dalam Seminar Nasional PERHIPBA dan Konas IV Obat Tradisional Indonesia, Hotel Sahid Jaya, Solo, 9-10
- Widyarto, Andrian Nur. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Keprok (Citrus nobilis Lour.) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli (Skripsi)*. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Zhang, Y., Li, H. Z., Zhang, Y. J., Jacob, R. M., Khan S. I., Li, X.C., and Yang, C. R. 2006. *Atropurosides A-G, new steroidal saponins from Smilacina atropurpurea*. J. Steroids 71 : 712-719

LAMPIRAN

Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Epitel
N		25
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	201.930
	Std. Deviation	62.6781
Most Extreme Differences	Absolute	.161
	Positive	.119
	Negative	-.161
Kolmogorov-Smirnov Z		.807
Asymp. Sig. (2-tailed)		.532

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Epitel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.077	4	20	.078

Uji oneway ANOVA

Descriptives

Epitel

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K Neg	5	273.500	1.9284	.8624	271.106	275.894	270.8	275.8
K Pos	5	102.750	10.6184	4.7487	89.566	115.934	89.0	116.0
P 1	5	169.600	6.0327	2.6979	162.109	177.091	163.8	176.5
P 2	5	211.000	6.7639	3.0249	202.602	219.398	201.0	218.5
P 3	5	252.800	5.4698	2.4462	246.008	259.592	246.5	258.5
Total	25	201.930	62.6781	12.5356	176.058	227.802	89.0	275.8

ANOVA

Epitel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	93370.940	4	23342.735	510.712	.000
Within Groups	914.125	20	45.706		
Total	94285.065	24			

Uji Post Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Epitel

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K Neg	K Pos	170.7500*	4.2758	.000	157.955	183.545
	P 1	103.9000*	4.2758	.000	91.105	116.695
	P 2	62.5000*	4.2758	.000	49.705	75.295
	P 3	20.7000*	4.2758	.001	7.905	33.495
K Pos	K Neg	-170.7500*	4.2758	.000	-183.545	-157.955
	P 1	-66.8500*	4.2758	.000	-79.645	-54.055
	P 2	-108.2500*	4.2758	.000	-121.045	-95.455
	P 3	-150.0500*	4.2758	.000	-162.845	-137.255
P 1	K Neg	-103.9000*	4.2758	.000	-116.695	-91.105
	K Pos	66.8500*	4.2758	.000	54.055	79.645
	P 2	-41.4000*	4.2758	.000	-54.195	-28.605
	P 3	-83.2000*	4.2758	.000	-95.995	-70.405
P 2	K Neg	-62.5000*	4.2758	.000	-75.295	-49.705
	K Pos	108.2500*	4.2758	.000	95.455	121.045
	P 1	41.4000*	4.2758	.000	28.605	54.195
	P 3	-41.8000*	4.2758	.000	-54.595	-29.005
P 3	K Neg	-20.7000*	4.2758	.001	-33.495	-7.905
	K Pos	150.0500*	4.2758	.000	137.255	162.845
	P 1	83.2000*	4.2758	.000	70.405	95.995
	P 2	41.8000*	4.2758	.000	29.005	54.595

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

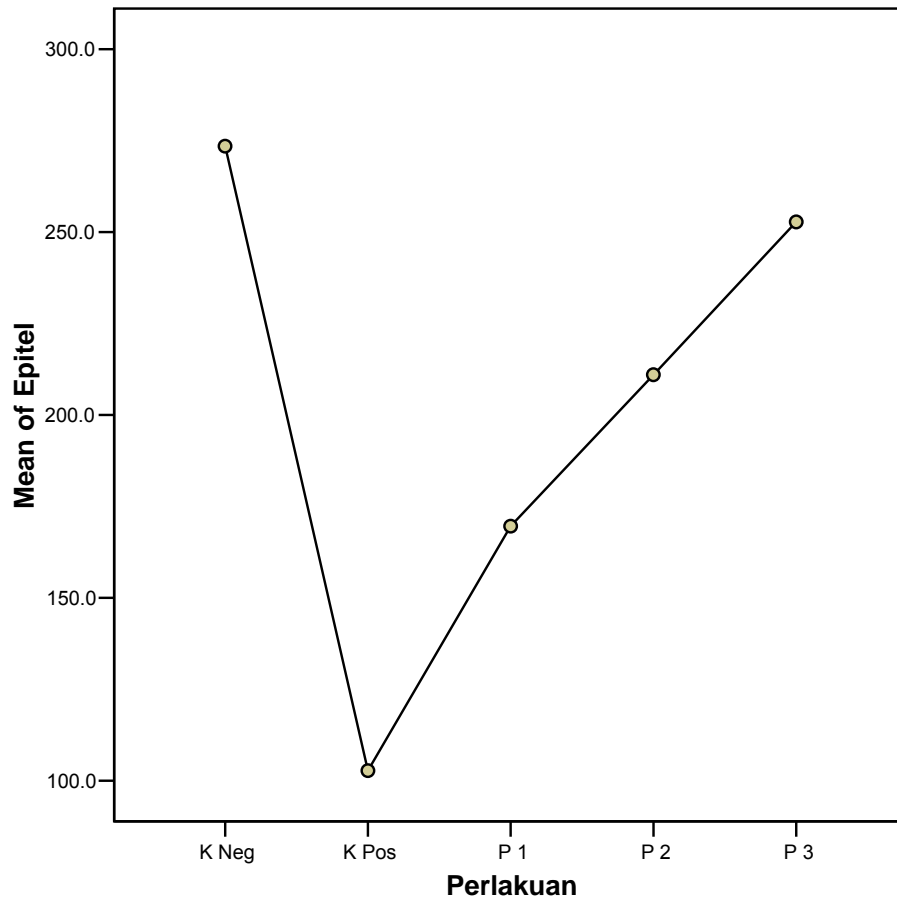
Epitel

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
K Pos	5	102.750				
P 1	5		169.600			
P 2	5			211.000		
P 3	5				252.800	
K Neg	5					273.500
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Means Plots ANOVA

Uji Korelasi

Correlations

		Dosis	Epitel
Dosis	Pearson Correlation	1	.960**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	20	20
Epitel	Pearson Correlation	.960**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	20	25

** . Correlation is significant at the 0.01 level

Uji Regresi Linear

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.960 ^a	.921	.917	16.4799

a. Predictors: (Constant), Dosis

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	57367.467	1	57367.467	211.230	.000 ^a
	Residual	4888.567	18	271.587		
	Total	62256.034	19			

a. Predictors: (Constant), Dosis

b. Dependent Variable: Epitel

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	117.302	5.888		19.923	.000
	Dosis	29.270	2.014	.960	14.534	.000

a. Dependent Variable: Epitel



LABORATORIUM TAKSONOMI, STRUKTUR DAN
PERKEMBANGAN TUMBUHAN
JURUSAN BIOLOGI, FAKULTAS MIPA
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
JALAN VETERAN, MALANG 65145
Telepon/faks: 0341-575841

KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0064/Takso.Identifikasi/03/2012

Kepala Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, menerangkan bahwa spesimen yang dibawa oleh:

Nama : Dwi Oktavia Bhara Putri Santoso (NIM. 0910743030)
Instansi : Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya

Berdasarkan deskripsi karakter dan kunci identifikasi pada Flora of Java (Backer dan Van den Brink, 1968), volume II, halaman 109, diidentifikasi sebagai:

Familia : Rutaceae
Genus : *Citrus*
Species : *Citrus aurantifolia* (Christm. & Panz.) Swingle

Demikian surat keterangan identifikasi ini dibuat untuk digunakan seperlunya.

Malang, 29 November 2012

Kepala Laboratorium
Taksonomi, Struktur dan
Perkembangan Tumbuhan,



LABORATORIUM
TAKSONOMI DAN PERKEMBANGAN TUMBUHAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Dwi Oktavia Bhara Putri Santoso, M.Si.
NIP. 19630909 198802 2 001



PEMERINTAH KOTA MALANG
DINAS PERTANIAN

Jl. Jendral Ahmad Yani Utara No. 202 Telp. (0341)491914/Facs. (0341)408273 MALANG
MALANG Kode Pos 65126

SURAT KETERANGAN PEMERIKSAAN KESEHATAN HEWAN

Nomor : 524.3/068/35.73.309/2012

Dengan ini menerangkan bahwa hewan dengan signalemen :

Hewan signalemen	
Spesies	Rattus
Ras	Wistai
Jumlah	100 ekor
Umur	+ 8 Minggu
Kelamin	Jantan
Warna Bulu	Putih

Pemilik Hewan

Nama : Feriy Yulianto

Alamat : Jl. Ciliwung II/1-B. RT 012 RW 07

Kel. Purwantoro Kec. Blimbing Kota Malang

Tujuan : Untuk Percobaan Hewan

Terhadap hewan tersebut di atas pada tanggal 20 Juli 2012 telah kami periksa dalam keadaan sehat (tidak menunjukkan adanya gejala penyakit hewan menular).

Malang, 20 Juli 2012
a.n. Kepala Dinas Pertanian Kota Malang
Kepala Bidang Peternakan dan Kesehatan
Hewan
DINAS PERTANIAN
Dan. YUDI BROTO, M.H
pembina
NIP. 19590915 198903 1 018

Foto Penelitian

Pengupasan dan pengeringan kulit jeruk nipis



Ekstrak etanol kulit jeruk nipis



Penimbangan ekstrak etanol kulit jeruk nipis



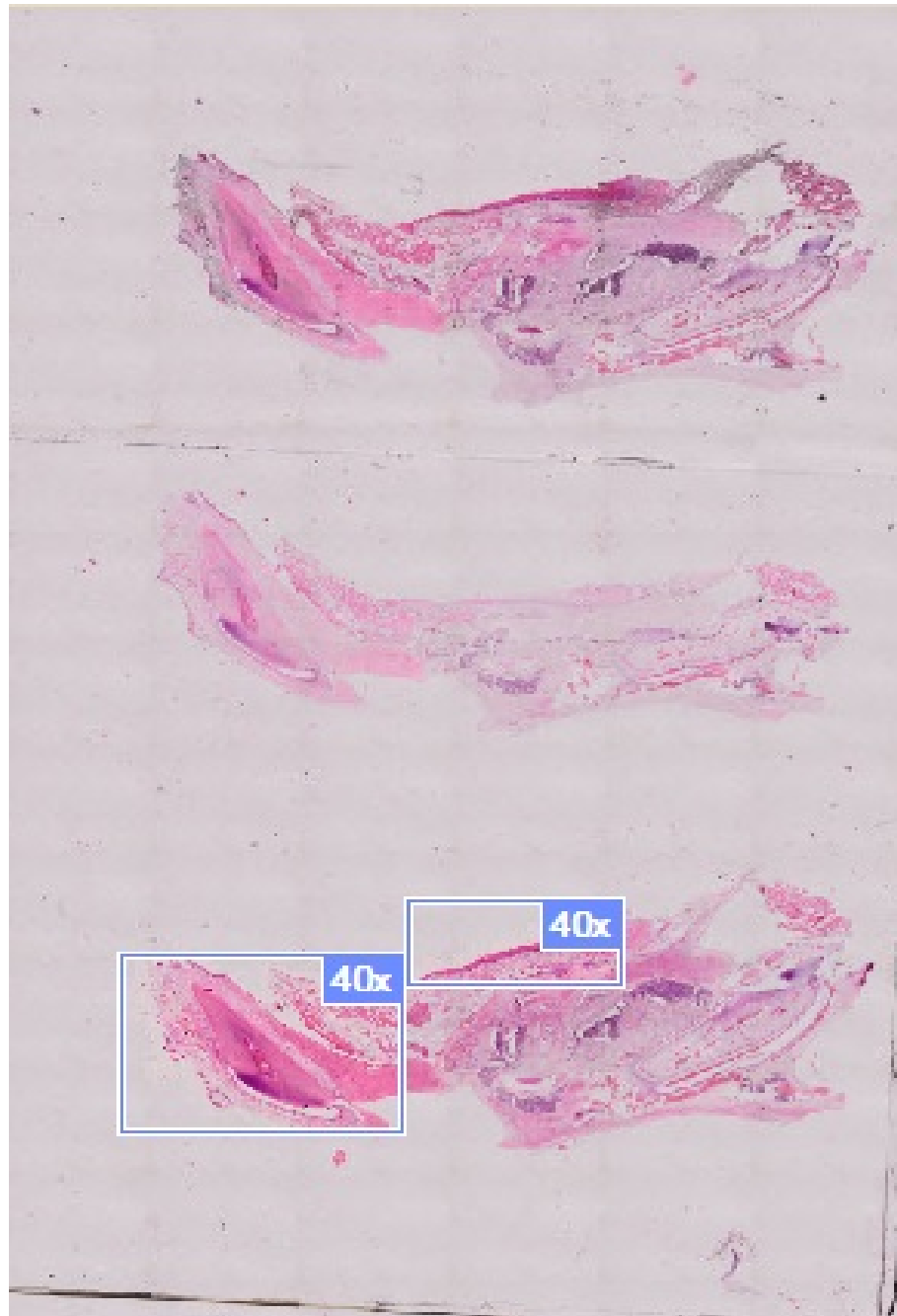
Bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*



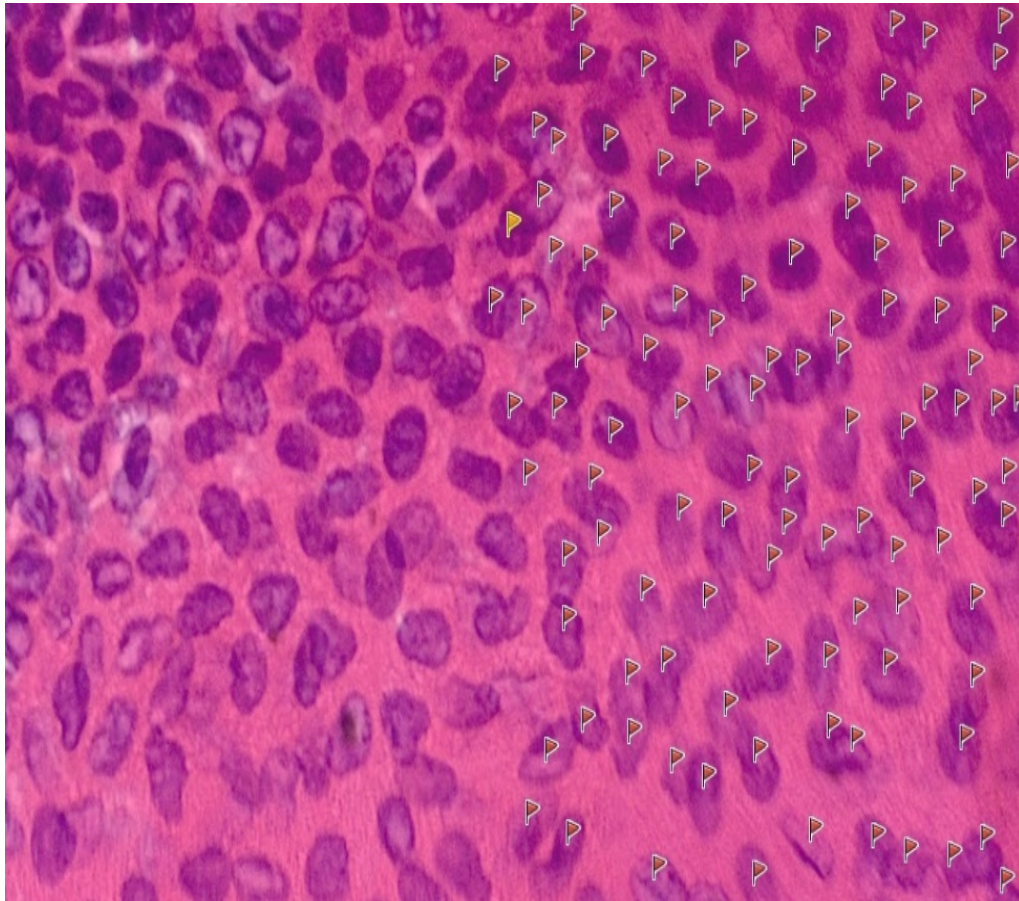
Pemeliharaan dan pengondisian tikus dalam kandang terpisah



Pembedahan , penguburan jasad tikus dan pengambilan spesimen jaringan



Hasil preparat sagital mandibula tikus pada pewarnaan HE dengan pembesaran 400x menggunakan *Olympus viewer*



Proses menghitung jumlah sel epitel gingiva sebanyak empat lapang pandang setiap slide

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dewi Sulistiyo Cahyani

NIM : 0910743027

Program Studi : Program Studi Kedokteran Gigi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 6 Maret 2013

Yang membuat pernyataan,

Dewi Sulistiyo Cahyani

NIM 0910743027