



**PENGARUH EKSTRAK DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus  
arvensis L.*) TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS PADA  
PENYEMBUHAN SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI  
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI  
UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN  
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

**OLEH:**

**AZKIYA ASRI RAHMANIAR**

**NIM. 155070401111006**

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG**

**2018**

**HALAMAN PENGESAHAN**  
**SKRIPSI**

**PENGARUH EKSTRAK DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus  
arvensis L.*) TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS PADA  
PENYEMBUHAN SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI  
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**Oleh:**

**Azkiya Asri Rahmaniari**

**NIM: 155070401111006**

**Telah diuji di hadapan Majelis Penguji pada hari Rabu, 12  
Desember 2018 dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk  
memperoleh gelar Sarjana dalam Bidang Kedokteran Gigi**

**Menyetujui,  
Pembimbing,**

**drg. Nenny Prasetyaningrum, M.Ked**

**NIK. 2009028129222001**

**Mengetahui,**

**Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya**

**drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp.KG**

**NIP. 198004092008122004**

## PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh SARJANA dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, 25 Desember 2018

Yang menyatakan,

Azkiya Asri Rahmaniar

155070401111006

## ABSTRAK

Azkiya Asri Rahmaniari, 155070401111006. Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang, 29 Desember 2018, “PENGARUH EKSTRAK DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis L.*) TERHADAP JUMLAH OSTEUBLAS PADA PENYEMBUHAN SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)”, Pembimbing: drg. Nenny Prastetyaningrum, M.Ked

Proses penyembuhan soket pasca pencabutan gigi perlu ditingkatkan untuk mengembalikan fungsi tulang alveolar agar adekuat untuk dilakukan tindakan restoratif. Daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) memiliki kandungan flavonoid dan triterpenoid. Senyawa tersebut mampu meningkatkan produksi dan aktivitas enzim ALP yang berperan dalam pembentukan osteoblas dan mineralisasi tulang, sehingga mampu mempercepat proses penyembuhan soket pasca pencabutan gigi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap jumlah osteoblas pada penyembuhan soket pasca pencabutan gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini dilakukan menggunakan pendekatan eksperimental laboratoris secara *in vivo* dengan 4 kelompok, yaitu kelompok K7, K14 (tidak diberi ekstrak daun tempuyung hingga hari ke 7 dan 14) dan P7, P14 (diberi ekstrak daun tempuyung hingga hari ke 7 dan 14). Penghitungan osteoblas dilakukan pada sediaan histologis dengan pewarnaan Hematoxylin - Eosin. Analisis data menggunakan uji T tidak berpasangan menunjukkan perbedaan yang signifikan dari setiap 2 kelompok yang dibandingkan. Uji korelasi *Pearson* menunjukkan adanya hubungan kuat ke arah positif yang berarti semakin lama pemberian ekstrak daun tempuyung, jumlah osteoblas akan semakin meningkat. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun tempuyung (*Sonchus Arvensis L.*) berpengaruh terhadap jumlah osteoblas pada penyembuhan soket tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca pencabutan gigi.

**Kata kunci:** Osteoblas, ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*), soket pencabutan gigi

## ABSTRACT

Azkiya Asri Rahmaniari, 155070401111006, Dentistry Undergraduate Program, Faculty of Dentistry, Brawijaya University Malang. 29 Desember 2018. "EFFECT OF TEMPUYUNG LEAVES (*Sonchus arvensis L.*) EXTRACT ON THE NUMBER OF OSTEOBLAST IN POST-EXTRACTION SOCKET'S HEALING OF WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)", Supervisor: drg. Nenny Prastetyaningrum, M.Ked".

Process of post-extraction socket's healing needs to be improved to restore alveolar bone volume and function to be adequate for restoratives. Osteoblasts are one of the cells that play an important role in this process, because osteoblasts are responsible for forming bones. Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) leaves' contain flavonoids and triterpenoids. These compounds can increase the production and activity of ALP enzymes that play important role in osteoblast formation and bone mineralization, therefore would accelerate the process of post-extraction sockets healing. The purpose of this study was to determine the effect of tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) leaves' extract on the number of osteoblasts in post-extraction sockets healing in white rats (*Rattus norvegicus*). This research was carried out by *in vivo* experimental laboratory approach, using the Randomized Post-Test Only Control Group Design. Experimental animals were divided into 4 groups, the first group were not given tempuyung leaf extract for 7 and 14 days (K7, K14) and the second grup were given tempuyung leaf extract for 7 and 14 days (P7, P14). Number of osteoblasts were counted in histological preparation colored using Hematoxylin-Eosin. Data analysis using unpaired T-test showed significant differences from each of the 2 groups compared. The Pearson correlation test showed a strong positive relationship, which means that the longer the tempuyung leaf's extract is given, the greater the number of osteoblasts. Based on this study, it can be concluded that the extract of tempuyung's leaves (*Sonchus Arvensis L.*) affect the number of osteoblasts on the post-extraction socket healing of white rats (*Rattus norvegicus*).

**Keywords:** Osteoblasts, tempuyung leaf's (*Sonchus arvensis L.*) extract, tooth extraction socket

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat, karunia, dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Daun Tempuyung (*Sonchus Arvensis l.*) terhadap Jumlah Osteoblas pada Penyembuhan Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)” sebagai persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran gigi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak dapat terselesaikan tanpa adanya bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar - besarnya kepada:

1. drg. R. Setyohadi, M.S selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya dan selaku penguji pertama yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberi masukan kepada penulis.
2. drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp. KG, selaku Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi FKG UB.
3. drg. Nenny Prasetyaningrum, M.Ked selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan bimbingan kepada penulis hingga terselesaikannya skripsi ini.
4. drg. Fredy Mardiyantoro, Sp. BM, selaku penguji kedua, yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberi masukan kepada penulis.

5. drg. Dyah Nawang Palupi P., M.Kes, atas masukan - masukannya terhadap skripsi ini.
6. Seluruh Dosen dan Staff Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya
7. Orangtua, dek Adibah, serta kerabat, atas doa dan motivasi yang tidak henti - hentinya kepada penulis.
8. Pihak Laboratorium Materia Medika Batu, Parasitologi Klinik FK UB, dan Patologi Anatomi FK UB.
9. Tombak Hidayatullah yang selalu memberikan dorongan dan semangat bagi penulis.
10. Teman - teman departemen Patologi Anatomi (Tombak, Nila Haniah, Tita, dan Aisyah), yang senantiasa kompak dalam pelaksanaan penelitian.
11. Seluruh teman - teman angkatan 2015 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, atas segala bentuk dukungan moral dan doa yang diberikan kepada penulis.
12. Semua pihak yang telah mendukung penulis, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Semoga Allah SWT senantiasa mencurahkan rahmat-Nya dan membalas seluruh amal kebaikan mereka. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan, karena keterbatasan pengetahuan dan pengalaman penulis. Oleh karena itu, penulis akan menerima dengan tangan terbuka atas segala kritik dan saran yang membangun demi kebaikan penulis kedepannya.

Malang, 29 Desember 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
Judul.....	I
Halaman Pengesahan.....	ii
Pernyataan orisinalitas.....	iii
Abstrak.....	iv
Abstract.....	v
Kata Pengantar.....	vi
Daftar Isi.....	viii
Daftar Gambar.....	xiii
Daftar Tabel.....	xiv
Daftar Singkatan.....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan.....	4
1.3.1 Tujuan umum.....	4
1.3.2 Tujuan khusus.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademik.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
2.1 Tanaman Tempuyung ( <i>Sonchus arvensis L.</i> ) .....	7
2.1.1 Taksonomi.....	8



2.1.2	Morfologi.....	8
2.1.3	Kandungan Fitokimia.....	9
2.1.4	Manfaat Farmakologis.....	10
2.2	Pencabutan Gigi.....	12
2.2.1	Definisi.....	12
2.2.2	Indikasi.....	12
2.2.3	Kontraindikasi.....	13
2.2.4	Komplikasi.....	13
2.3	Penyembuhan pasca pencabutan Gigi.....	14
2.3.1	Secara Histologis.....	14
2.3.2	Secara Molekuler.....	17
2.3.3	Proses <i>Bone Remodeling</i> .....	19
2.4	Osteoblas.....	22
2.4.1	Definisi.....	22
2.4.2	Identifikasi Osteoblas.....	22
2.4.3	Pembentukan.....	23
2.5	Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	24
2.5.1	Taksonomi.....	25
2.5.2	Morfologi.....	25
2.6	Ekstrak.....	27
2.6.1	Definisi.....	27
2.6.2	Teknik.....	28

**BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS..... 33**

3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	33
3.2	Hipotesis Penelitian.....	34



<b>BAB IV METODE PENELITIAN.....</b>	<b>35</b>
4.1 Rancangan Penelitian.....	35
4.2 Sampel Penelitian.....	36
4.3 Variabel Penelitian.....	37
4.3.1 Variabel tergantung.....	37
4.3.2 Variabel bebas.....	37
4.3.3 Variabel kontrol.....	37
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	38
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	38
4.5.1 Perawatan dan Pemeliharaan Hewan Coba.....	38
4.5.2 Pembuatan Ekstrak Daun Tempuyung.....	38
4.5.3 Prosedur Pencabutan Gigi.....	39
4.5.4 Pemberian Ekstrak Daun Tempuyung.....	39
4.5.5 Pembedahan dan Sanitasi Pasca Pembedahan Hewan Coba.....	39
4.5.6 Pembuatan Preparat.....	40
4.5.7 Pengukuran Jumlah Osteoblas.....	40
4.6 Definisi Operasional.....	40
4.6.1 Ekstrak daun Tempuyung.....	40
4.6.2 Osteoblas.....	41
4.6.3 Pencabutan Gigi.....	41
4.7 Prosedur Penelitian.....	41
4.7.1 Alur Penelitian.....	41
4.7.2 Pembuatan Ekstrak Daun Tempuyung.....	42
4.7.3 Perawatan dan Pemeliharaan Hewan Coba.....	44
4.7.4 Prosedur Tindakan Pencabutan Gigi.....	44
4.7.5 Pemberian Ekstrak Daun Tempuyung.....	45



4.7.6	Pembedahan Hewan Coba.....	46
4.7.7	Sanitasi Pasca Pembedahan Hewan Coba.....	47
4.7.8	Pembuatan Preparat dan Pengamatan Histologis.....	47
4.7.9	Penghitungan Jumlah Osteoblas.....	50
4.8	Analisis Data.....	51
4.9	Kerangka Operasional Penelitian.....	53
<b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>55</b>
5.1	Hasil Penelitian.....	55
5.2	Analisa Data.....	57
5.2.1	Uji Normalitas.....	57
5.2.2	Uji Homogenitas.....	57
5.2.3	Uji T tidak Berpasangan.....	58
5.2.4	Uji Korelasi Pearson.....	58
5.2.5	Uji Regresi.....	58
5.3	Pembahasan.....	59
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>65</b>
6.1	Kesimpulan.....	65
6.2	Saran.....	65
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>67</b>
<b>LAMPIRAN</b>		
	Lampiran 1 Sertifikat Kelayakan Etik.....	77
	Lampiran 2 Surat Determinasi Daun Tempuyung.....	78



Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian.....79  
Lampiran 4 Hasil Penghitungan Jumlah Osteoblas..... 82  
Lampiran 5 Hasil Uji Statistik..... 83



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Tanaman Tempuyung..... 7
Gambar 2.2	Struktur Kimia Triterpenoid.....10
Gambar 2.3	Osteoblas pada pengecatan HE, perbesaran 40x.....23
Gambar 2.4	Tikus Putih / <i>Rattus norvegicus</i> ..... 25
Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian..... 33
Gambar 4.1	Rancangan penelitian..... 35
Gambar 4.2	Kerangka Operasional Penelitian..... 53
Gambar 5.1	Osteoblas pada hari ke 7, pewarnaan HE, Perbesaran 40x..... 55
Gambar 5.2	Osteoblas pada hari ke 14, pewarnaan HE, Perbesaran 40x..... 56
Gambar 5.3	Diagram Rata - Rata Jumlah Osteoblas Per Kelompok..... 56



## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1	Kandungan fitokimia daun tempuyung.....	9
-----------	---	---



## DAFTAR SINGKATAN

ALP	<i>Alkaline Phosphatase</i>
AVMA	<i>American Veterinary Medical Association</i>
BGLAP	<i>Bone Gamma-carboxyglutamate Protein</i>
BMP2	<i>Bone morphogenetic protein-2</i>
BMP4	<i>Bone morphogenetic protein-4</i>
BMP7	<i>Bone morphogenetic protein-7</i>
BMPs	<i>Bone morphogenetic proteins</i>
BSP	<i>Bone sialoprotein</i>
BSP I / II	<i>Bone sialoprotein I / II</i>
CCR2	<i>Chemokine receptor type 2</i>
CCR5	<i>Chemokine receptor type 5</i>
COL1a1	<i>Collagen type I alpha 1 chain</i>
COL1a2	<i>Collagen type I alpha 2 chain</i>
COL5a1	<i>Collagen type 5 alpha 2 chain</i>
<i>CollA1</i>	<i>Collagen type A1</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
Dlx-5	<i>Distal less homeobox-5</i>
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
FGF-2	<i>Fibroblast Growth Factor-2</i>
FGF-18	<i>Fibroblast Growth Factor-18</i>
FGF- $\beta$ 1	<i>Fibroblast Growth Factor-<math>\beta</math>1</i>
HE	<i>Haematoxylin Eosin</i>
HIV / AIDS	<i>Human Immunodeficiency Virus / Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
HSD	<i>Honest Significant Difference</i>
IACUC	<i>Institutional Animal Care and Use Committee</i>
ICS UNIDO	<i>International Centre for Science and High Technology, United Nations Industrial Development Organization</i>
IGF-1	<i>Insulin-like Growth Factor-1</i>
IL-1	<i>Interleukin-1</i>
IL-10	<i>Interleukin-10</i>
ITGA-4	<i>Integrin subunit Alpha-4</i>
M-CSF	<i>Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
MMP	<i>Matriks Metaloproteinase</i>

MSC	<i>Mesenchymal stem cells</i>
OCN	<i>Osteocalcin</i>
Osx	<i>Osterix</i>
PDGF	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
PERMENKES	Peraturan Menteri Kesehatan
PGE <sub>2</sub>	<i>Prostaglandin E2</i>
pH	<i>power of Hydrogen</i>
PSA	Perawatan Saluran Akar
RANKL	<i>Receptor Activator of Nuclear factor-KappaB Ligand</i>
Runx2	<i>Runt-related transcription factors - 2</i>
TGF- $\alpha$	<i>Transforming Growth Factor- <math>\alpha</math></i>
TGF- $\beta$	<i>Transforming Growth Factor- <math>\beta</math></i>
TNF- $\alpha$	<i>Tumor Necrosis Factor-<math>\alpha</math></i>
TNF- $\beta$	<i>Tumor Necrosis Factor-<math>\beta</math></i>
TOTI	Tanaman Obat Tradisional Indonesia
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VEGF-A	<i>Vascular Endothelial Growth Factor-A</i>



## ABSTRAK

Azkiya Asri Rahmaniari, 155070401111006. Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang, 29 Desember 2018, “PENGARUH EKSTRAK DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis L.*) TERHADAP JUMLAH OSTEUBLAS PADA PENYEMBUHAN SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)”, Pembimbing: drg. Nenny Prastetyaningrum, M.Ked

Proses penyembuhan soket pasca pencabutan gigi perlu ditingkatkan untuk mengembalikan fungsi tulang alveolar agar adekuat untuk dilakukan tindakan restoratif. Daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) memiliki kandungan flavonoid dan triterpenoid. Senyawa tersebut mampu meningkatkan produksi dan aktivitas enzim ALP yang berperan dalam pembentukan osteoblas dan mineralisasi tulang, sehingga mampu mempercepat proses penyembuhan soket pasca pencabutan gigi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap jumlah osteoblas pada penyembuhan soket pasca pencabutan gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini dilakukan menggunakan pendekatan eksperimental laboratoris secara *in vivo* dengan 4 kelompok, yaitu kelompok K7, K14 (tidak diberi ekstrak daun tempuyung hingga hari ke 7 dan 14) dan P7, P14 (diberi ekstrak daun tempuyung hingga hari ke 7 dan 14). Penghitungan osteoblas dilakukan pada sediaan histologis dengan pewarnaan Hematoxylin - Eosin. Analisis data menggunakan uji T tidak berpasangan menunjukkan perbedaan yang signifikan dari setiap 2 kelompok yang dibandingkan. Uji korelasi *Pearson* menunjukkan adanya hubungan kuat ke arah positif yang berarti semakin lama pemberian ekstrak daun tempuyung, jumlah osteoblas akan semakin meningkat. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun tempuyung (*Sonchus Arvensis L.*) berpengaruh terhadap jumlah osteoblas pada penyembuhan soket tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca pencabutan gigi.

**Kata kunci:** Osteoblas, ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*), soket pencabutan gigi

## ABSTRACT

Azkiya Asri Rahmaniar, 155070401111006, Dentistry Undergraduate Program, Faculty of Dentistry, Brawijaya University Malang. 29 Desember 2018. "EFFECT OF TEMPUYUNG LEAVES (*Sonchus arvensis L.*) EXTRACT ON THE NUMBER OF OSTEOBLAST IN POST-EXTRACTION SOCKET'S HEALING OF WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)", Supervisor: drg. Nenny Prastetyaningrum, M.Ked".

Process of post-extraction socket's healing needs to be improved to restore alveolar bone volume and function to be adequate for restoratives. Osteoblasts are one of the cells that play an important role in this process, because osteoblasts are responsible for forming bones. Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) leaves' contain flavonoids and triterpenoids. These compounds can increase the production and activity of ALP enzymes that play important role in osteoblast formation and bone mineralization, therefore would accelerate the process of post-extraction sockets healing. The purpose of this study was to determine the effect of tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) leaves' extract on the number of osteoblasts in post-extraction sockets healing in white rats (*Rattus norvegicus*). This research was carried out by *in vivo* experimental laboratory approach, using the Randomized Post-Test Only Control Group Design. Experimental animals were divided into 4 groups, the first group were not given tempuyung leaf extract for 7 and 14 days (K7, K14) and the second grup were given tempuyung leaf extract for 7 and 14 days (P7, P14). Number of osteoblasts were counted in histological preparation colored using Hematoxylin-Eosin. Data analysis using unpaired T-test showed significant differences from each of the 2 groups compared. The Pearson correlation test showed a strong positive relationship, which means that the longer the tempuyung leaf's extract is given, the greater the number of osteoblasts. Based on this study, it can be concluded that the extract of tempuyung's leaves (*Sonchus Arvensis L.*) affect the number of osteoblasts on the post-extraction socket healing of white rats (*Rattus norvegicus*).

**Keywords:** Osteoblasts, tempuyung leaf's (*Sonchus arvensis L.*) extract, tooth extraction socket

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Berbagai permasalahan gigi dan mulut yang ada saat ini, berpengaruh juga pada tingginya jumlah tindakan yang perlu dilakukan oleh dokter gigi untuk menanggulangnya, salah satunya adalah tindakan pencabutan gigi. Di Provinsi Jawa Timur, jumlah tindakan pencabutan gigi pada tahun 2014 adalah sebanyak 201.922 kasus (Dinas Kesehatan Jawa Timur, 2014). Sedangkan pada lingkup yang lebih sempit, data tahun 2014 menunjukkan jumlah tindakan pencabutan gigi di seluruh puskesmas Kota Malang mencapai 3.941 kasus (Dinas Kesehatan Kota Malang, 2015). Data - data tersebut merupakan salah satu bukti bahwa tindakan ekstraksi gigi cukup familiar di masyarakat, dan lebih banyak dipilih karena sebagian besar masyarakat masih memiliki persepsi bahwa mencabut gigi yang sakit adalah hal yang paling mudah dan terbaik untuk dilakukan agar terhindar dari rasa sakit (Letluhur, *et al.*, 2015).

Berdasarkan penelitian Cohen *et al.* (2015), proses penyembuhan pasca pencabutan gigi terbagi menjadi 3 fase yang terdiri dari fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi. Pada fase maturasi inilah terjadi proses *remodelling* dan mineralisasi tulang. *Remodelling* tulang ditandai dengan adanya aktivitas osteoblas dan osteoklas mulai hari ke-7 pasca pencabutan, hingga

terlihat peningkatan volume trabekula tulang pada hari ke-14 pasca pencabutan (Vieira *et al.*, 2015).

Dalam proses penyembuhan tulang alveolar, osteoblas memegang peranan yang sangat penting karena osteoblas berfungsi sebagai sel - sel yang mensintesis matriks tulang. Osteoblas mensekresikan matriks - matriks organik seperti protein kolagen, non - kolagen, dan proteoglikan, serta mensekresikan enzim alkalin fosfatase (ALP) yang berfungsi untuk mengendapkan ion - ion kalsium dan fosfat dalam bentuk kristal hidroksiapatit sehingga terjadi proses mineralisasi pada tulang alveolar (Florencio-Silva, *et al.*, 2015). Selain itu, enzim ALP juga berfungsi dalam proses proliferasi sel - sel osteoblas (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Proses penyembuhan tulang alveolar yang diinduksi oleh osteoblas ini menjadi sangat penting, karena tulang alveolar memiliki fungsi sebagai penopang gigi geligi, melindungi nervus, pembuluh darah, dan kelenjar saliva, serta mendukung otot - otot mastikasi (Teixeira *et al.*, 2017). Apabila terdapat gangguan atau keterlambatan penyembuhan tulang, dapat terjadi permasalahan baru seperti pengurangan volume tulang alveolar sehingga tidak adekuat apabila akan dilakukan tindakan restoratif lebih lanjut seperti pemasangan implan gigi, serta tulang alveolar tidak akan dapat menjalankan fungsinya dengan baik (Pagni, *et al.*, 2012).

Untuk mencegah terjadinya gangguan dan keterlambatan pada proses penyembuhan tulang tersebut, diperlukan bahan - bahan yang sederhana, murah, namun efektif, yang dapat digunakan secara luas di masyarakat untuk menginduksi proses penyembuhan tulang, salah satunya adalah penggunaan bahan - bahan herbal.

Indonesia adalah negara yang kaya akan sumber daya alam hayati berupa berbagai macam tanaman, dan sebagiannya sudah dikenal oleh masyarakat sejak dahulu sebagai obat tradisional (Haryoto, *et al.*, 2015). Saat ini tanaman herbal di Indonesia mulai dipilih sebagai obat karena jumlahnya yang banyak sehingga mudah didapat, murah, memiliki efek samping yang lebih rendah, dan dapat digunakan baik secara komplementer atau suplemen dengan obat sintetis (Haryoto, *et al.*, 2015).

Selain itu, herbal memiliki senyawa aktif kompleks yang memiliki sasaran yang luas untuk mendukung sistem fisiologis tubuh dalam peningkatan metabolisme dan sirkulasi, sehingga proses penyembuhan tubuh akan meningkat (Karimi, *et al.*, 2015). Beberapa hasil penelitian juga menyatakan bahwa pemberian senyawa fitokimia yang diisolasi dari herbal tidak memiliki efek yang sama baiknya jika dibandingkan dengan pemberian ekstrak tanaman tersebut secara utuh (Karimi, *et al.*, 2015). Berdasarkan keunggulan inilah ekstrak tanaman herbal dipilih untuk digunakan, khususnya ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*).

Tanaman tempuyung (*Sonchus arvensis L.*), adalah salah satu tanaman Indonesia yang termasuk dalam daftar tanaman obat tradisional Indonesia (TOTI) yang dikenal memiliki kandungan senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan (Chairul, *et al.*, 2003). Namun, tanaman tempuyung masih memiliki banyak manfaat lain yang sejatinya dapat dieksplorasi lebih jauh.

Tanaman tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) banyak tumbuh di lapangan terbuka atau pematang sawah, dan karena manfaatnya di bidang kesehatan, tanaman ini mulai banyak dibudidayakan.

Berdasarkan penelitian Rumondang, *et al.* (2013), ekstrak *n*-Heksana daun Tempuyung mengandung senyawa triterpenoid dan flavonoid. Senyawa triterpenoid dan flavonoid mampu menginduksi peningkatan produksi dan aktivitas enzim alkalin fosfatase (ALP) yang berperan dalam pembentukan osteoblas dan mineralisasi tulang, sehingga penyembuhan dan *remodeling* tulang akan meningkat (Spoorn, *et al.*, 2008 ; Guo, *et al.*, 2011). Meski demikian, masih belum ada pemanfaatan tanaman tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) untuk mempercepat proses penyembuhan tulang pasca pencabutan gigi.

Berdasarkan uraian di atas, diperlukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap jumlah osteoblas penyembuhan soket pasca pencabutan gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

## 1.2. Rumusan Masalah

“Apakah pemberian ekstrak daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) berpengaruh terhadap jumlah osteoblas pada penyembuhan soket pasca pencabutan gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)?”

## 1.3. Tujuan

### 1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap jumlah osteoblas pada penyembuhan soket pasca pencabutan gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

### 1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui jumlah osteoblas pada soket pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi dan tidak diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) dengan konsentrasi 1%, pada hari ke 7.
2. Mengetahui jumlah osteoblas pada soket pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi dan tidak diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) dengan konsentrasi 1%, pada hari ke 14.
3. Menganalisa perbedaan jumlah osteoblas soket pasca pada kelompok yang diberi ekstrak daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) konsentrasi 1% dan tidak diberi ekstrak daun tempuyung, pada hari ke 7 dan 14.

## 1.4. Manfaat

### 1.4.1. Manfaat Akademik

Hasil dari penelitian ini diharapkan mampu meningkatkan pengetahuan dan wawasan mengenai proses penyembuhan tulang pasca pencabutan gigi.

### 1.4.2. Manfaat Praktis

1. Menambah informasi mengenai pemanfaatan ekstrak daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) di bidang kedokteran gigi, khususnya mengenai manfaatnya pada penyembuhan tulang alveolar pasca pencabutan gigi.
2. Sebagai dasar pengembangan obat herbal dari ekstrak daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*), yang dapat berpengaruh pada jumlah osteoblas pada penyembuhan tulang alveolar.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tanaman Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*)

Gambar 2.1. Tanaman Tempuyung



(Dalimartha, 2008)

*Sonchus arvensis L.* adalah tumbuhan terna yang tumbuh menahun. Tanaman tempuyung mudah sekali tumbuh pada area dengan curah hujan yang tinggi dan sinar matahari yang cukup, seperti pada tepi sungai, pematang sawah, dan lapangan terbuka, pada ketinggian 50-1.650 m di atas permukaan laut (Shukla, *et al.* 2015). Tanaman tempuyung merupakan salah satu jenis tanaman liar yang dapat dimakan (Shukla, *et al.* 2015). Di Indonesia, tanaman tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) telah ditetapkan oleh BPOM sebagai salah satu dari 13 spesies tanaman obat asli Indonesia (Ari, *et al.* 2016). Tanaman tempuyung dikenal dengan berbagai sebutan lain di Indonesia, seperti tanaman lempung jombang, galibug, dan dalam bahasa sunda dikenal sebagai rayana (Dalimartha, 2008).

### 2.1.1. Taksonomi

Taksonomi tanaman tempuyung adalah sebagai berikut:

*Kingdom* : *Plantae – Plants*

*Divisi* : *Spermatophyta – Tumbuhan Berbiji*

*Class* : *Angiospermae*

*Order* : *Monokotiledonae*

*Family* : *Asteraceae – Aster family*

*Genus* : *Sonchus*

*Species* : *Sonchus arvensis*

(Winarto dan Karyasari, 2004)

### 2.1.2. Morfologi

Secara morfologis, tanaman tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) bergetah putih atau kehijauan, memiliki batang yang berongga tidak berkayu dengan dikelilingi rambut - rambut halus, dan akar tunggang yang kuat (Dalimartha, 2008).

Bunga tempuyung berwarna kuning cerah. Daun tempuyung berwarna hijau, merupakan jenis daun tunggal yang pada bagian bawahnya tumbuh mengumpul pada pangkal akar. Daun tersebut berbentuk lonjong dengan ujung runcing dengan bentuk pangkal menyerupai bentuk jantung, dan tepinya menyirip, bergelombang tidak teratur. Daun yang keluar dari bagian batang biasanya berukuran kecil dengan bagian pangkalnya menempel pada batang. Ukuran panjang daun tempuyung bervariasi sekitar 6-48 cm, sedangkan lebarnya berkisar antara 3-12 cm. Batang tanaman tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) memiliki diameter 3-10 mm, dan memiliki rambut - rambut halus di sekelilingnya (Dalimartha, 2008).

### 2.1.3. Kandungan Fitokimia

Berdasarkan uji fitokimia awal menggunakan etanol maupun etil asetat, diperoleh bahwa kandungan utama dalam daun tempuyung adalah triterpenoid dan flavonoid, dengan jenis flavonoid berupa kaemferol, quercetin, orientin, dan catechin (Hendriani, *et al.*, 2014).

Tabel 2.1 Kandungan Fitokimia Daun Tempuyung

Kandungan Fitokimia	Daun Tempuyung Kering	Ekstrak Etanol	Ekstrak Etil Asetat
Alkaloid	-	-	-
Flavonoid	+	+	+
Triterpenoid	+	+	+

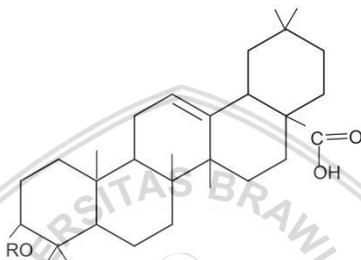
(Hendriani, *et al.* 2014)

Dalam 700 gram daun tempuyung, diketahui bahwa kandungan triterpenoidnya sebanyak 0,4026 gram (Rumondang, *et al.*, 2013). Sedangkan kandungan flavonoid dalam daun tempuyung adalah sebanyak 0,1044% (Winarto dan Karyasari, 2004). Triterpenoid merupakan jenis turunan saponin yang terbentuk melalui proses alami pada berbagai macam flora dan fauna (Garai, 2014). Kata saponin berasal dari bahasa latin "*sapo*" yang berarti sabun. Istilah ini mengacu pada senyawa saponin yang memiliki aktivitas *detergent properties*. Namun dewasa ini, definisi saponin berkembang lebih luas berdasarkan struktur molekulernya, salah satunya triterpenoid (Urmaliya, *et al.* 2011.)

Senyawa triterpenoid memiliki struktur siklik berupa gugus alkohol yang membuatnya bersifat semi-polar dan mampu terlarut

dengan baik pada pelarut etanol (Susanti, *et al.*, 2014). Triterpenoid banyak terdapat pada tumbuhan famili *asteraceae*, terutama triterpenoid jenis  $\alpha$ -*amyrin*,  $\beta$ -*amyrin*, dan *lupeol* (Rumondang, *et al.* 2013). Ketiga jenis triterpenoid tersebut termasuk dalam *pentacyclic triterpenoid* (Alqahtani, *et al.* 2013).

**Gambar 2.2. Struktur Kimia Triterpenoid**



(Azmir, *et al.* 2013)

Triterpenoid pentasiklik dapat menginduksi ekspresi gen - gen spesifik yang berhubungan dengan osteoblas, serta terbukti mampu meningkatkan pembentukan tulang *calvaria* pada tikus melalui penelitian secara *in vivo*. Selain itu, triterpenoid dari tanaman *Eriobotrya japonica* dapat menghambat produksi osteoklas pada tikus pasca ovariektomi (Wozniak, *et al.* 2015). Triterpenoid juga mampu meningkatkan pembentukan kartilago dan meningkatkan produksi enzim alkalin fosfatase (ALP) yang berperan dalam diferensiasi pre-osteoblas serta mineralisasi tulang, sehingga mampu meningkatkan pembentukan sel osteoblas, meningkatkan mineralisasi, dan mempercepat penyembuhan tulang (Spoorn, *et al.* 2008).

Kandungan lain daun tempuyung selain triterpenoid adalah flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan senyawa polar karena

flavonoid mempunyai gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Pelarut polar seperti etanol dan etilasetat, dapat digunakan untuk mengekstrak flavonoid pada tumbuhan (Rijke, 2005). Tetapi, pelarut etanol lebih baik dalam mengikat flavonoid, sehingga *total flavonoid content* (TFC) dari ekstrak etanol lebih tinggi dibandingkan TFC dari ekstrak etil asetat (Zhang, 2015). Berdasarkan penelitian Guo, *et al.*, (2011), flavonoid juga dapat menginduksi peningkatan aktivitas ALP dan meningkatkan ekspresi *bone marker* seperti osteonectin dan osteocalcin pada kultur sel osteoblas secara *in vitro* sehingga jumlah osteoblas akan meningkat (Guo, *et al.*, 2011).

#### 2.1.4. Manfaat Farmakologis

Tanaman tempuyung mengandung senyawa flavonoid yang berfungsi untuk mengatasi penyakit batu ginjal, serta dapat bersifat sebagai immunomodulator karena dapat menginduksi terjadinya fagositosis serta memicu proliferasi limfosit (Hidayati *et al.*, 2009). Tanaman tempuyung juga dapat bermanfaat untuk mengatasi penyakit hipertensi, menghilangkan lesu dan pegal - pegal (Syukur dan Hernani, 2002)

Senyawa triterpenoid yang terdapat dalam tanaman tempuyung memiliki efek antialergi, antitumor, antivirus, antimikroba, hingga antioksidan (Wei, *et al.*, 2015). Sebagai antimikroba, senyawa triterpenoid dapat bersifat bakteriostatik terhadap bakteri *Phorphyromonas gingivalis*, serta mampu berfungsi sebagai antifungi terhadap *M. albican* (Wei, *et al.*, 2015). Selain itu, senyawa triterpenoid juga dapat mengikat radikal bebas sehingga mampu bersifat sebagai antioksidan (Wei, *et al.*, 2015). Senyawa triterpenoid juga memiliki efek biologis yang beragam sehingga

dapat digunakan sebagai obat untuk diabetes, gangguan menstruasi, gangguan kulit, hingga kerusakan hati dan penyakit malaria (Widiyati, 2006).

Selain triterpenoid, kandungan flavonoid pada tumbuhan juga memiliki banyak manfaat yaitu sebagai antioksidan, menangkap radikal bebas, antiinflamasi, antikanker, dan antivirus. Pada penyembuhan luka, flavonoid berperan dalam meningkatkan resistensi pembuluh darah kapiler sehingga banyak digunakan pada keadaan patologis misalnya ketika terjadi gangguan permeabilitas dinding pembuluh darah (Kumar dan Pandey, 2013).

## **2.2. Pencabutan Gigi**

### **2.2.1. Definisi**

*Exodontia* merupakan praktik pembuangan atau pengangkatan gigi yang terencana dari rongga mulut, dan dilakukan oleh tenaga profesional kedokteran gigi yang diakui, sedangkan *tooth extraction* didefinisikan sebagai pengangkatan atau pencabutan gigi dari soketnya pada tulang alveolar, yang sudah direncanakan sebelumnya, menggunakan instrumen seperti elevator dan tang cabut. (Kamus Kedokteran Gigi, 2012).

### **2.2.2. Indikasi**

Indikasi dilakukannya pencabutan gigi meliputi adanya karies meluas dan nekrosis pulpa, penyakit periodontal berat disertai kegoyangan derajat tinggi, persistensi gigi sulung, pencabutan untuk terapi ortodontik, gigi yang malposisi dan *supernumerary tooth* yang mengganggu jaringan sekitarnya, gigi fraktur yang tidak dapat dirawat dengan perawatan saluran akar, pencabutan untuk tujuan

pemasangan protesa, gigi dengan keterlibatan lesi patologis, pencabutan gigi sebagai tindakan pre-terapi radiasi, alasan estetik, serta alasan ekonomis (Miloro, 2004)

### **2.2.3. Kontraindikasi**

Kontraindikasi pencabutan gigi terbagi menjadi dua, yaitu kontraindikasi secara sistemik dan kontraindikasi lokal (Miloro, 2004).

Kontraindikasi sistemik meliputi penyakit metabolik tidak terkontrol (misalnya diabetes mellitus), leukemia, penyakit kardiovaskuler, kelainan perdarahan, kehamilan terutama pada trimester pertama dan trimester terakhir, serta perlunya perhatian khusus pada pasien dengan konsumsi obat - obatan jangka panjang, terutama obat kortikosteroid, obat immunosupresan, obat anti koagulan, dan agen kemoterapi kanker (Miloro, 2004).

Kontraindikasi lokal meliputi riwayat terapi radiasi pada regio kepala - leher, gigi pada area tumor ganas, dan perlunya perhatian khusus pada pasien dengan abses dentoalveolar akut karena ditakutkan menyebabkan terhalangnya masuknya obat anestesi (Miloro, 2004).

### **2.2.4. Komplikasi**

Beberapa komplikasi yang mungkin terjadi pasca pencabutan gigi antara lain terjadinya perdarahan karena cedera pembuluh arteri atau akibat kondisi sistemik pasien (misalnya hipertensi, defisiensi platelet, defisiensi vitamin K, dan hemofilia), infeksi dan pembengkakan persisten pada jaringan sekitar gigi yang dicabut, *dry socket* atau alveolar osteitis, perforasi sinus pada pencabutan gigi - gigi molar rahang atas, dan cedera pada nervus

yang sering terjadi pada pencabutan gigi molar rahang bawah, akibat lokasinya yang sangat dekat dengan kanalis mandibula (Lee dan Woo, 2011). Selain itu, komplikasi juga dapat terjadi akibat faktor iatrogenik seperti fraktur gigi yang dicabut, fraktur tulang alveolar, dan *alveolar bone sequestration* (Earley, 2012).

## **2.3. Penyembuhan Pasca Pencabutan Gigi**

### **2.3.1. Secara Histologis**

Poses penyembuhan pasca ekstraksi gigi terdiri dari 3 fase yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan maturasi (Cohen, N. *et al.*, 2014).

Fase inflamasi terjadi selama 3 - 5 hari. Adanya trauma pada jaringan disertai keluarnya darah, mengaktivasi faktor XII (faktor Hageman) yang akan menginisiasi terjadinya penyembuhan dibantu peran protein komplemen, plasminogen, dan sistem pembekuan darah (Milor, 2004).

Fase inflamasi adalah fase paling awal dalam proses penyembuhan pasca pencabutan gigi. Fase ini disebut fase inflamasi karena ketika hemostasis tercapai, vasokonstriksi yang awalnya terjadi secara reaktif, akan digantikan oleh vasodilatasi akibat keluarnya mediator - mediator pro-inflamasi seperti prostaglandin dan leukotrien, sehingga akan terjadi peningkatan permeabilitas vaskuler disertai munculnya tanda - tanda inflamasi berupa kalor, dolor, rubor, tumor, dan functiolaesa (Milor, 2004).

Fase ini diawali dengan agregasi platelet disertai eritrosit dan leukosit yang tertanam dalam gel fibrin. Agregasi ini akan membentuk bekuan darah (*blood clot*), sementara aliran darah akan

memenuhi soket yang kosong. Platelet memproduksi *growth factor* dan sitokin sebagai mediator, berupa PDGF (*Platelet-derived growth factor*) dan TGF- $\beta$  (Cohen, N. *et al.*, 2014).

Selanjutnya, PDGF akan menjalankan fungsinya untuk menarik neutrofil dan makrofag, serta memengaruhi aktivitas otot polos dan kemampuan mitogenik (pembelahan sel) dari sel fibroblas. Aktivitas neutrofil lama kelamaan menurun dan berhenti apabila luka tidak disertai dengan infeksi, namun sitokin - sitokin pro-inflamatori yang dikeluarkan oleh neutrofil yang sudah mati, akan tetap ada dan menyebabkan respon inflamasi lebih lanjut hingga beberapa hari kemudian (Cohen, N. *et al.*, 2014).

Di sisi lain, TGF- $\beta$  dari *blood clot* akan mengirimkan sinyal yg menstimulasi makrofag untuk mensekresikan sitokin seperti TNF- $\beta$ , dan IL-1. Fungsi sitokin - sitokin tersebut adalah untuk mempertahankan kondisi area sekitar luka agar tetap baik, serta mengatur terjadinya proses penyembuhan (Milorio, 2004). Selain mengeluarkan sitokin, makrofag juga mempengaruhi keseluruhan proses penyembuhan luka karena dapat meregulasi *remodeling* jaringan lokal melalui enzim - enzim proteolitik, menginduksi pembentukan matriks ekstrasel, dan memodulasi angiogenesis (Cohen, N. *et al.*, 2014).

Kemudian proses berlanjut pada fase proliferasi. Fase ini dipicu oleh sitokin dan *growth factor* yang disekresikan selama fase inflamasi. Fase proliferasi ditandai dengan terbentuknya banyak jaringan granulasi yang terdiri dari pembuluh darah baru, sel inflamasi, serta eritrosit, yang akan menggantikan *blood clot* setelah

7 hari penyembuhan. Pada fase ini juga terjadi kontraksi ukuran soket (Cohen, N. *et al.*, 2014).

Pada fase proliferasi juga terjadi proses angiogenesis yang dipicu oleh VEGF dan FGF-2. Selain itu juga terdapat migrasi sel - sel fibroblas ke daerah luka. Fibroblas akan mensintesis matriks ekstrasel dan kolagen tipe III, kemudian pada permukaan luka akan terlihat pembentukan jaringan epitel baru atau disebut dengan proses re-epitelisasi (Cohen, N. *et al.*, 2014).

Kemudian terjadi fase maturasi yang ditandai terbentuknya matriks sementara (*provisional matrix*). Sel - sel mesenkim terorganisir secara rapat dan padat bersama serat - serat kolagen dan pembuluh darah. Pada fase ini juga terjadi pembentukan tulang “muda” (*immature bone*) dalam matriks tersebut (Cohen, N. *et al.*, 2014).

*Immature bone* tersebut kemudian mengalami *remodeling* menjadi tulang trabekula. Tulang trabekula akan dikelilingi ruang sum-sum tulang (*medullar space*) yang kaya akan pembuluh darah, jaringan adiposa, sel mesenkim, dan sel-sel inflamasi (Cohen, N. *et al.*, 2014).

Selanjutnya akan terjadi mineralisasi tulang yang rata - rata berlangsung pada akhir minggu pertama hingga minggu ke 2 - 4 penyembuhan. Kemudian di antara minggu ke-6 hingga minggu ke-8, sekitar 60% jaringan granulasi mulai digantikan oleh matriks, dan 40% dinding luar tulang alveolar akan diisi oleh *immature bone* (Cohen, N. *et al.*, 2014).

Tulang alveolar pada *site of extraction* dapat mengalami resorpsi. Resorpsi biasanya lebih signifikan terjadi pada tulang

alveolar sisi bukal, dan dapat menyebabkan pengurangan yang signifikan dari tinggi *alveolar ridge*, serta menyebabkan terjadinya *axis displacement* ke arah lingual. *Horizontal bone loss* yang terjadi rata - rata sebesar 3,8 mm dan tinggi tulang alveolar berkurang hingga 1,24 mm pada bulan ke-6 pasca ekstraksi (Cohen, N. *et al.*, 2014).

### 2.3.2. Secara Molekuler

Proses penyembuhan pasca pencabutan gigi jika dilihat dari sisi molekuler akan terjadi dalam 2 fase. Fase pertama ditandai puncak sekresi *growth factor* yg memengaruhi proliferasi serta diferensiasi fibroblas, osteoblas, dan endotel. Beberapa molekul juga terlihat seperti *vitronectin* dan ITGA4, berfungsi untuk transmigrasi, adhesi, dan penyebaran sel, serta meningkatkan fungsi *growth factor* tertentu (Vieira, *et al.* 2015).

Pada fase ini terdapat beberapa *growth factor* yang ditemukan antara lain FGF- $\beta$ 1, FGF-2, yang berfungsi untuk meningkatkan proliferasi fibroblas pada pembentukan jaringan granulasi. Selain itu ditemukan juga matriks ekstrasel berupa COL1a1 dan COL1a2, sebagai inisiator terbentuknya tulang baru (*early bone marker*). Pada fase ini juga terdapat enzim MMP (*matrix metalloproteinase*) yang berfungsi untuk migrasi sel inflamatori, remodelling matrix ekstrasel, dan angiogenesis, yang nantinya diperlukan untuk proses *bone-healing*. Kemudian pada fase ini juga ditemukan VEGF-A yang merupakan faktor pro-angiogenik untuk stimulasi terbentuknya sel - sel endotel (Vieira, *et al.* 2015).

Selain *growth factor* juga terdapat sitokin - sitokin seperti TNF- $\alpha$  (*Tumor Necrosis Factor- $\alpha$* ) yang merupakan sitokin

pro-inflamasi. Influks puncak dari TNF- $\alpha$  ini terjadi pada hari ke-7, dan berfungsi menginduksi migrasi leukosit ke daerah jaringan granulasi. Kemudian terdapat IL-10 (*Interleukin-10*) yang merupakan sitokin anti-inflamasi sebagai penyeimbang keluarnya TNF- $\alpha$ . Pada hari ke-7 juga tampak aktivitas puncak osteoklas, berupa peningkatan faktor - faktor osteoklastogenik yaitu RANKL disertai peningkatan CCR2 dan CCR5 (*chemokine receptor*) (Vieira, *et al.* 2015).

Setelah itu, memasuki fase kedua jaringan granulasi akan digantikan jaringan ikat matang berupa kolagen dan fibroblas, disertai peningkatan densitas pembuluh darah, dan mulai terjadi pembentukan tulang. Pada fase ini terbentuk COL5a1 yang diproduksi oleh osteoblas yang sedang berdiferensiasi, dan produksinya mencapai puncak pada hari ke 14 (Vieira, *et al.* 2015)..

Pada fase awal pembentukan tulang, *osteogenic factor* seperti BMP2, BMP4, dan BMP7, mencapai puncaknya dalam soket. Faktor - faktor osteogenik ini berfungsi untuk diferensiasi osteoblas selama osteogenesis, serta merangsang pertumbuhan jaringan tulang beserta mineralisasinya (Vieira, *et al.* 2015).

Proses *bone-healing* terjadi secara sentripetal, yaitu dimulai dari dinding soket, menuju ke tengah hingga mengisi keseluruhan soket. Secara kuantitatif, peningkatan volume tulang dan pembentukan tulang trabekula dapat diamati pada hari ke 14. Pada hari ke 21, dental alveoli mulai terisi tulang trabekula, dengan marrow space yang jelas (*well-defined*) secara radiografis (Vieira, *et al.* 2015).

### 2.3.3. *Bone Remodeling*

Proses *remodeling* tulang terjadi pada bagian tulang yang terdapat rongga atau kerusakan. Pada tulang yang rusak, akan terbentuk struktur anatomis sementara yang disebut *basic multicellular units* (BMU), yang terdiri dari kelompok osteoblas dan osteoklas disertai pembuluh darah dan invasi perifer (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Proses *remodeling* tulang terdiri dari beberapa fase. Fase pertama adalah *initiation phase*. Pada fase ini, terjadi proses resorpsi terlebih dahulu oleh osteoklas, dilanjutkan proses pembentukan tulang oleh osteoblas. Proses resorpsi di awal fase *remodeling* ini bertujuan untuk menghilangkan defek atau tulang yang rusak. Di antara kedua proses tersebut, terdapat fase transisi. Keseluruhan siklus ini dilengkapi oleh aktivitas osteosit dan *bone lining cells* (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Pada fase inisiasi, *hematopoietic stem cells* bersama dengan aktivitas faktor osteoklastogenik seperti RANKL dan M-CSF, akan menuju ke area tulang yang rusak untuk kemudian berdiferensiasi menjadi osteoklas dan menginisiasi terjadinya resorpsi tulang. Selama fase inisiasi, diferensiasi dan aktivitas osteoblas untuk sementara dihambat demi memungkinkan terjadinya resorpsi pada tulang-tulang yang rusak. Proses ini dibantu oleh *semaphorin4D* yang diekspresikan oleh osteoklas, untuk menekan pembentukan tulang (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Dalam siklus *remodeling* tulang, terdapat sistem komunikasi secara langsung maupun tidak langsung antar sel - sel tulang yang disebut dengan *coupling mechanism*. Terdapat faktor - faktor yang

membantu terjadinya *coupling mechanism*, contohnya TGF- $\beta$ , BMPs, FGF, dan PDGF. Faktor - faktor tersebut tersimpan di dalam matriks tulang, dan akan dilepaskan ketika proses resorpsi jaringan tulang yang rusak sudah selesai (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Kemudian, ketika jaringan tulang yang rusak sudah selesai diresorpsi, *semaphorin4D* akan berikatan dengan reseptornya yaitu Plexin-B1 yang terdapat pada osteoblas. Terjadinya ikatan ini akan mengakibatkan berhentinya aktivitas osteoklas dan dimulainya diferensiasi osteoblas. Selain itu, osteoklastogenesis juga dihambat oleh *semaphorin3A* yang dilepaskan oleh osteoblas (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Kemudian, terjadi sintesis matriks tulang oleh osteoblas. Pada proses ini, terjadi 2 tahap utama yaitu tahap deposisi matriks organik, dilanjutkan dengan tahap mineralisasi (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Tahap pertama berupa deposisi matriks organik. Osteoblas akan mensekresikan bermacam - macam protein kolagen (seperti kolagen tipe I), protein non-kolagen (seperti OCN, *osteonectin*, BSP II, dan *osteopontin*), serta proteoglikan (seperti *decorin* dan *biglycan*). Protein - protein inilah yang akan membentuk matriks organik tulang (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Selanjutnya pada tahap kedua akan terjadi mineralisasi yang terdiri dari dua fase, yaitu fase vesikular dan fase fibrillar. Fase vesikular terjadi ketika bagian *matrix vesicles* yang memiliki diameter 30-200 nm, dilepaskan ke matriks organik tulang yang baru terbentuk. *Matrix vesicles* ini akan berikatan dengan proteoglikan dan matrix organik lainnya. *Matrix vesicles* bermuatan

negatif, sehingga ketika berikatan dengan proteoglikan, proteoglikan yang mengandung sulfat akan mengimobilisasi ion kalsium yang tersimpan di dalam *matrix vesicles* tersebut. Ketika osteoblas mensekresikan enzim yang dapat mendegradasi proteoglikan, ion - ion kalsium akan terlepas dari proteoglikan, lalu melewati kanal kalsium yang terdapat pada membran *matrix vesicles*. Kanal - kanal ini terbentuk dari protein yang disebut *annexin* (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Di sisi lain, senyawa - senyawa yang mengandung fosfat akan terdegradasi oleh ALP yang disekresikan oleh osteoblas, menyebabkan terlepasnya ion - ion fosfat yang ada di dalam *matrix vesicles*. Kemudian, ion - ion kalsium dan fosfat bertemu di dalam nukleus *matrix vesicles*, sehingga membentuk kristal - kristal hidroksiapatit (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Kemudian akan terjadi fase fibrilar ketika terjadi kejenuhan kadar ion kalsium dan fosfat di dalam *matrix vesicles*, sehingga menyebabkan meluruh atau pecahnya *matrix vesicles* tersebut sehingga kristal - kristal hidroksiapatit di dalamnya akan ikut keluar dan tersebar ke matriks di sekitarnya (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

*Mature osteoblast* merupakan satu lapisan sel yang terdiri dari sel - sel kuboid. Beberapa osteoblas akan menunjukkan prosesus sitoplasmik yang menjulur ke matriks tulang serta prosesus milik osteosit. Pada fase ini, *mature osteoblast* akan mengalami apoptosis, atau menjadi bentukan sel osteosit (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Selain osteoblas dan osteoklas, osteosit juga memiliki peran yang penting dalam proses *remodeling* tulang karena osteosit

memproduksi faktor - faktor yang mempengaruhi aktivitas osteoblas dan osteoklas. Sebagai contoh, osteosit akan memproduksi faktor yang bersifat anabolik pada tulang dan sinergis dengan aktivitas osteoblas, seperti PGE<sub>2</sub>, prostacyclin, dan IGF-1. Di sisi lain, osteosit juga dapat memproduksi sklerostin yang akan menghambat aktivitas osteoblas (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

## 2.4. Osteoblas

### 2.4.1. Definisi

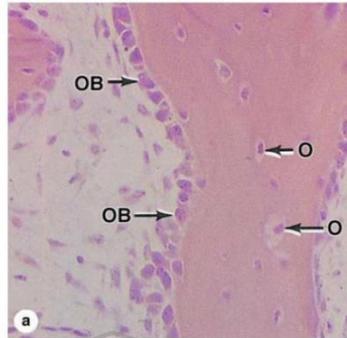
Osteoblas merupakan sel berbentuk kubus (kuboid), yang bertanggung jawab dalam pembentukan tulang (Kamus Kedokteran Gigi, 2012).

### 2.4.2. Identifikasi Osteoblas

Osteoblas merupakan sel kuboid yang terdapat di sepanjang permukaan tulang, sebanyak 4-6% dari jumlah keseluruhan sel - sel pada tulang (Florencio-Silva, *et al.*, 2015). Osteoblas merupakan sel - sel berbentuk kuboid dengan satu inti sel disertai sitoplasma berwarna merah kebiruan (Salim, *et al.* 2015). Sel - sel osteoblas berjajar membentuk lapisan memanjang di sepanjang tepi tulang menyerupai lapisan epitel (Junqueira, 2011).

Secara morfologis, osteoblas memiliki karakteristik sebagai *protein synthesizing cells* yang mempunyai struktur internal sel seperti banyak retikulum endoplasma kasar, adanya *golgi apparatus*, serta vesikel - vesikel. Osteoblas mensekresikan osteoid ke dalam matriks tulang. Peran osteoblas pada penyembuhan tulang alveolar dapat diamati mulai dari hari ke 7 penyembuhan, dan jumlahnya akan meningkat signifikan pada hari ke 14 (Vieira, *et al.* 2015).

**Gambar 2.3. Osteoblas pada pengecatan HE, perbesaran 400x, ditunjukkan oleh huruf OB yang ditunjuk anak panah**



(Junqueira,2011)

Sel - sel osteoblas akan terus meningkat jumlahnya hingga minggu ke 10, dan jumlahnya akan stabil pada minggu ke-10 hingga minggu ke-16. Pada minggu ke-16, densitas trabekula umumnya sudah kembali normal dan memenuhi ruang kosong dalam soket sehingga proses pembentukan tulang akan menurun, digantikan oleh proses remodeling fisiologis (Pagni, *et al.*,2012).

#### **2.4.3. Pembentukan Osteoblas**

Osteoblas berasal dari MSC (*mesenchymal stem cells*). Peran MSC dalam pembentukan osteoblas membutuhkan ekspresi gen - gen spesifik disertai tahapan - tahapan yang terprogram, seperti sintesis BMPs (*bone morphogenetic proteins*). Untuk mendukung terjadinya diferensiasi osteoblas, dibutuhkan ekspresi gen-gen seperti *Dlx-5 (distal less homeobox-5)*, *Osx (osterix)*, dan *Runx2 (Runt-related transcription factors - 2)* yang merupakan *master gene* dari diferensiasi osteoblas. *Runx2* dapat meningkatkan gen - gen yang berhubungan dengan osteoblas seperti *CollA1*, *ALP*, *BSP*, *BGLAP*, dan *OCN* (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Pada tahap diferensiasi osteoblas juga ada keterlibatan faktor - faktor lainnya seperti *FGF (Fibroblast growth Factor)*, *microRNAs*, dan *connexin 43*. *FGF-2* terbukti dapat meningkatkan diferensiasi osteoblas, karena dalam penelitian hewan coba yang kekurangan *FGF-2* menunjukkan penurunan massa tulang serta peningkatan jaringan adiposa dalam sum - sum tulang. Di samping itu, terdapat juga *FGF-18* yang mempunyai peran dalam diferensiasi osteoblas. Selain itu, *connexin 43* juga memiliki peran dalam diferensiasi osteoblas, karena pada penelitian hewan coba yang kekurangan *connexin 43* tampak adanya malformasi skeletal (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Setelah tahap diferensiasi yang didukung oleh *Runx2*, selanjutnya sel - sel progenitor osteoblas akan memasuki tahap proliferasi. Tahap ini dipengaruhi oleh aktivitas enzim *ALP (Alkaline Phosphatase)*. Selanjutnya progenitor osteoblas akan berubah menjadi sel pre-osteoblas (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

Selanjutnya akan terjadi tahap transisi dari pre-osteoblas menjadi *mature osteoblast* yang ditunjukkan dengan peningkatan ekspresi *Osx* dan sekresi *bone matrix proteins* seperti *OCN (osteocalcin)*, *BSP I / II (Bone sialoprotein)*, serta kolagen tipe I. Perubahan dari preosteoblas menjadi *mature osteoblast* akan terlihat ketika sel tersebut bertambah besar dan berubah menjadi sel - sel kuboidal (Florencio-Silva, *et al.*, 2015).

## **2.5. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

Tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) merupakan tikus laboratorium atau tikus percobaan yang dikembangkan untuk kepentingan penelitian, baik di bidang medis maupun di

bidang lainnya. Pada bidang medis, tikus putih (*Rattus norvegicus*) sudah sejak lama digunakan dalam penelitian tentang genetik, penyakit, pengaruh obat, dan topik lainnya dalam ranah kesehatan. Selain itu, tikus putih juga telah digunakan untuk penelitian psikologi dan proses mental (Alexandru, 2011).

### 2.5.1. Taksonomi

Klasifikasi tikus putih adalah sebagai berikut :

*Kingdom* : *Animalia*  
*Filum* : *Chordata*  
*Class* : *Mamalia*  
*Order* : *Rodentia*  
*Sub-order* : *Myomorpha*  
*Family* : *Muridae*  
*Sub-Family* : *Murinae*  
*Genus* : *Rattus*  
*Species* : *Rattus norvegicus*

(Pollock, 2010)

### 2.5.2. Morfologi

Gambar 2.5. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)



(Alexandru, 2011)

Secara morfologis, tikus putih galur wistar memiliki karakteristik telinganya yang agak panjang, dan panjang ekornya sedikit lebih pendek daripada panjang tubuhnya. Tikus putih memiliki indera pendengaran, perabaan, dan penciuman yang sangat tajam, tetapi memiliki indera penglihatan yang kurang optimal (Alexandru, 2011).

Gigi tikus terdiri dari 2 insisivi serta 6 gigi molar di masing - masing rahang atas dan bawah, tanpa kaninus dan premolar. Terdapat ruang kosong di antara gigi insisivi dan gigi - gigi molarnya. Gigi geligi tikus putih mulai erupsi pada usia 8-10 hari. Gigi tikus berwarna kekuningan, dan panjang gigi insisivus mandibula dapat mencapai 3 kali lebih panjang daripada gigi insisivus maksila. Gigi insisivus tikus tumbuh dalam arah srial dan memiliki ujung apikal akar yang terbuka, hal ini menunjukkan bahwa gigi insisivus tikus putih terus tumbuh selama masa hidupnya. Gigi molarnya biasanya berhenti tumbuh setelah umur 125 hari (Pollock, 2010).

Tikus putih galur wistar dipilih sebagai hewan coba karena perkembangbiakannya cepat dan dapat dipelihara dapat jumlah banyak. Berat badan rata - rata tikus putih dewasa adalah sekitar 270-500 gram untuk jantan, dan 225-325 gram untuk betina. Tikus putih mampu hidup hingga mencapai usia 2,5-3,5 tahun (Pollock, 2010).

Selama menggunakan tikus putih untuk penelitian, kandang yang disiapkan haruslah memadai dengan jumlah tikus setiap kandang disesuaikan dengan berat badan tikus dan ukuran kandang. Selain itu, dalam kandang tersebut harus terdapat akses untuk cukup

udara, makanan, air, dan disimpan dalam tempat yang terjaga kebersihannya serta secara berkala terkena sinar matahari. Temperatur yang baik bagi lingkungan hidup tikus putih adalah sekitar 18-26 °C. Asupan air minum yang perlu disediakan untuk tikus putih adalah sekitar 22-33 ml per hari (Pollock, 2010). Tikus putih adalah omnivora. Pakan tikus haruslah merupakan pellet khusus yang setidaknya mengandung 16% protein, 5% serat dan 4-5% lemak, serta mineral. Meski omnivora, sebaiknya tidak terlalu sering diberi biji- bijian karena dapat menyebabkan obesitas (Pollock, 2010).

## **2.6. Ekstrak**

### **2.6.1. Definisi**

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang dibuat dengan menyari simplisia menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung, sedangkan ekstraksi adalah teknik memisahkan zat aktif yang bermanfaat secara medis pada jaringan tanaman atau hewan, dari komponen inaktif lainnya, dengan menggunakan pelarut tertentu serta dalam prosedur ekstraksi yang terstandarisasi (Handa, *et al.*, 2008)

Dalam melakukan ekstraksi tumbuhan, beberapa faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi antara lain perbandingan simplisia dengan pelarut, lamanya waktu ekstraksi, komposisi pelarut, dan langkah - langkah yang dilakukan (Wei, *et al.*, 2015). Selain itu, temperatur, pH, dan ukuran partikel simplisia juga mempengaruhi efisiensi proses ekstraksi (Majinda, 2012).

## 2.6.2. Teknik

Metode ekstraksi tanaman terbagi menjadi dua teknik, yaitu teknik konvensional dan non konvensional (Azmir, *et al.*, 2013).

### 1. Metode Konvensional

#### a. Maserasi

Maserasi atau *maceration*, berasal dari bahasa latin “*maceratus*” yang berarti “untuk melunakkan” (ICS UNIDO, 2008). Maserasi dilakukan dengan merendam simplisia menggunakan pelarut tertentu dalam suhu ruangan, selama kurang lebih 3 hari dengan pengadukan atau pengocokan secara berkala sebanyak beberapa kali (Azwanida, 2015).

Sebelum dilakukan maserasi, hal yang perlu dilakukan adalah menghancurkan bahan dari tanaman menjadi bentuk serbuk atau partikel kecil untuk memperoleh luas permukaan yang maksimal sehingga bisa terlarut dengan baik dalam pelarut (ICS UNIDO, 2008). Kemudian dilanjutkan dengan pemberian pelarut tertentu, lalu setelah 3 hari dilakukan filtrasi hingga diperoleh ampas dan filtrat. Selama dilakukan prosedur tersebut, dapat dilakukan pengadukan untuk meningkatkan difusi pelarut. Nantinya, cairan filtrat akan diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental dari tanaman tersebut (Azmir, *et al.* 2013).

Pada prinsipnya, maserasi bertujuan untuk melunakkan dan menghancurkan dinding sel tanaman dengan tujuan melepaskan senyawa fitokimia yang terdapat di dalamnya. Dalam teknik maserasi, beberapa pelarut yang dapat digunakan antara lain kloroform, etil asetat, petroleum eter, air, metanol, dan etanol (Majinda, 2012). Flavonoid merupakan senyawa polar dan

triterpenoid merupakan senyawa yang bersifat lipofilik serta semi-polar, oleh karena itu pelarut yang dapat digunakan adalah etanol (Majinda, 2012 ; Tanaya, *et al.*, 2015 ; Rijke, 2005). Etanol dapat mengikat senyawa flavonoid dengan lebih baik, sehingga ekstrak etanol suatu tanaman akan memiliki *total flavonoid content* (TFC) yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat (Zhang, 2015).

Etanol banyak digunakan sebagai pelarut dalam maserasi karena lebih efektif, sulit ditumbuhi mikroorganisme pada konsentrasi di atas 20%, netral, tidak toksik, absorpsinya baik, serta jumlah energi panas yang diperlukan untuk pemekatan ekstrak akan lebih sedikit (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2015). Selain itu, etanol juga memiliki kelarutan yang tinggi dan bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lain dalam tanaman (Susanti, *et al.*, 2012).

Etanol memiliki titik didih 78° C. Etanol merupakan pelarut yang bersifat semi-polar namun cenderung polar, karena memiliki gugus -OH yang bersifat polar namun juga memiliki C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> yang merupakan gugus non-polar (Putri, 2015 ; Mahatrinny, *et al.*, 2014). Dengan sifatnya yang semi-polar, etanol dapat dengan baik menarik kandungan fitokimia dengan sifat polar maupun non-polar ( Mahatrinny, *et al.*, 2014).

Keuntungan dari teknik maserasi adalah biaya yang lebih murah dibandingkan teknik ekstraksi lainnya serta prosedur dan alatnya yang mudah diusahakan (Azwanida, 2015). Maserasi menggunakan pelarut etanol yang bersifat polar sehingga dapat mengikat kandungan fitokimia penting dari tumbuhan. Selain itu,

teknik maserasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut dari filtrat. Pada kondisi tekanan vakum (175 mBar = 0,173 atm), titik didih suatu cairan akan menurun, sehingga etanol dapat menguap pada suhu 40°-50° C saja. Suhu ini tidak merusak kandungan fitokimia penting pada ekstrak, karena flavonoid dapat terdegradasi pada suhu 80° C dan saponin serta turunannya dapat terdegradasi pada suhu lebih dari 70° C (Cheng, *et al.*, 2017 ; Sharma, *et al.*, 2015).

Namun teknik ini juga memiliki kerugian, yaitu mengenai permasalahan limbah karena jumlah pelarut yang digunakan cukup banyak sehingga membutuhkan penanganan yang benar untuk menanggulangi limbah sisa proses maserasi (Azwanida, 2015).

Selain maserasi, terdapat metode ekstraksi konvensional lainnya yaitu,

- a. Sokletasi, yaitu ekstraksi menggunakan slat *soxhlet extractor*. Proses ini baik untuk ekstraksi senyawa yang strukturnya tidak terpengaruh oleh panas. Keuntungannya adalah dapat dilakukan ekstraksi pada jumlah besar sampel (ICS UNIDO, 2008).
- b. Infusi, yaitu teknik yang menyerupai maserasi tetapi dilakukan dalam waktu yang singkat, menggunakan air dingin atau air mendidih. Hasilnya merupakan larutan encer dari kandungan - kandungan larut air dari sampel tanaman (ICS UNIDO, 2008).
- c. Dekoksi, yaitu merebus sampel tanaman menggunakan air dalam volume dan jangka waktu tertentu, kemudian didinginkan lalu disaring. Teknik dekoksi merupakan pilihan yang baik untuk mengekstrak senyawa larut air dan strukturnya tidak dipengaruhi oleh suhu panas (ICS UNIDO, 2008).

- d. Perkolasi, yaitu teknik ekstraksi yang membutuhkan alat perkolator, dan hasil ekstraksinya disebut perkolat. Prosedur secara umum yang dilakukan ialah membasahi sampel tanaman dengan pelarut tertentu (disebut dengan *menstruum*), kemudian didiamkan selama 4 jam dalam wadah tertutup. Setelah itu, massa tersebut dimasukkan ke dalam perkolator lalu bagian atasnya ditutup rapat. Selanjutnya, ditambahkan sejumlah kecil pelarut lagi kemudian dimaserasikan selama 24 jam. Setelah 24 jam maka katup pada bagian bawah perkolator dapat dibuka hingga perkolat menetes perlahan lahan melalui corong di bagian bawah perkolator (ICS UNIDO, 2008).
  - e. Hidrodistilasi adalah teknik yang tidak menggunakan pelarut organik melainkan menggunakan air. 3 jenis hidrodistilasi yaitu distilasi air, distilasi air dan uap, serta distilasi uap langsung. Prinsip dari teknik ini adalah hidrodifusi, hidrolisis, dan dekomposisi oleh suhu panas (Azmir, *et al.* 2013).
2. Metode Non Konvensional
    - a. *Ultrasound-assisted extraction*. Prinsip dari teknik ini, getaran gelombang ultrasonik digunakan untuk mempercepat masuknya pelarut ke dalam material di dalam sel - sel tanaman. Keuntungan dari teknik ini adalah meningkatnya efisiensi waktu, energi, serta jumlah pelarut yang digunakan (ICS UNIDO, 2008).
    - b. *Pulsed-electric field extraction*. Secara prinsip, teknik ini memungkinkan terjadi pecahnya membran sel tanaman sehingga meningkatkan efektivitas ekstraksi (ICS UNIDO, 2008).

- c. *Enzyme-assisted extraction*. Penggunaan enzim pada teknik ini bertujuan untuk mempercepat terjadinya lisis dinding sel tanaman, serta memungkinkan senyawa fitokimia penting yang berada di dalam sitoplasma maupun dilapisi polisakarida, dapat terekstrak dengan baik. Enzim yang dapat digunakan antara lain enzim selulase, enzim  $\alpha$ -amylase, dan pektinase (ICS UNIDO, 2008).

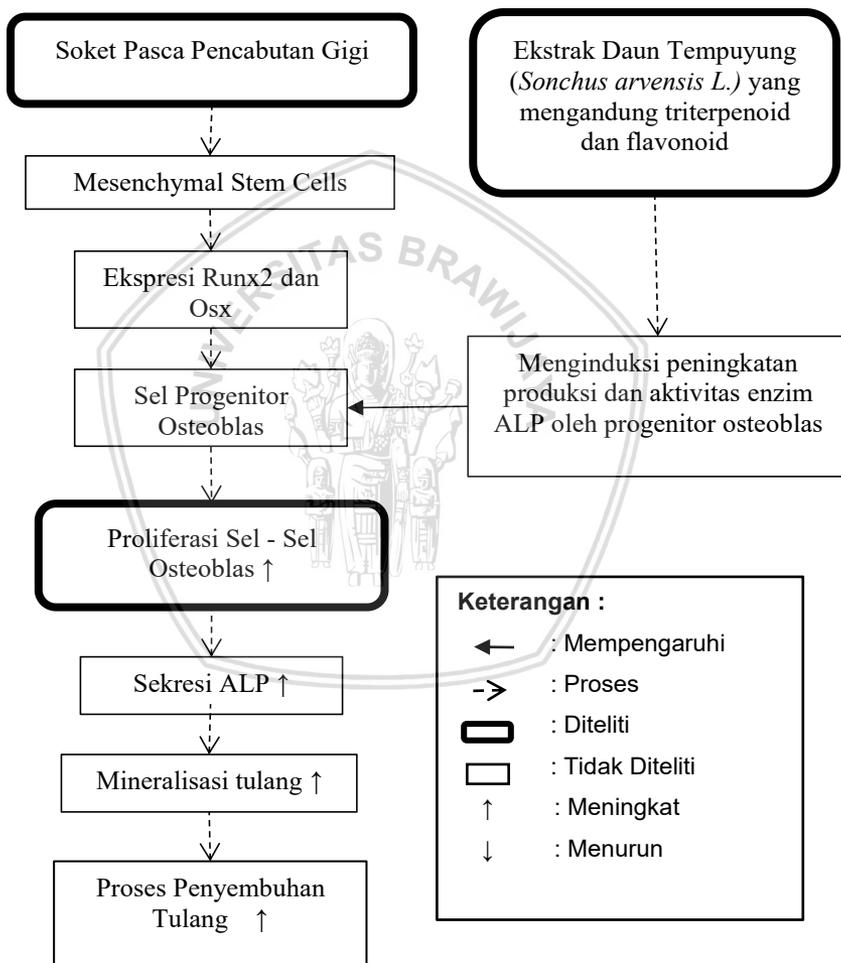


### BAB III

## KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

### 3.1. Kerangka Konsep

Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Pada proses penyembuhan soket pasca pencabutan gigi, terdapat peran sel - sel osteoblas. Osteoblas berasal dari *mesenchymal stem cells* kemudian berdiferensiasi menjadi sel - sel progenitor osteoblas karena bantuan dari ekspresi Runx2 (*Runt-Related Transcription Factors 2*) yang merupakan *master gene* diferensiasi osteoblas, serta OSx (*osterix*).

Setelah berdiferensiasi, progenitor osteoblas akan menunjukkan aktivitas ALP yang mempengaruhi terjadinya proliferasi. Kemudian, osteoblas akan mensekresikan bermacam - macam protein kolagen dan non kolagen, yang akan membentuk matriks organik tulang, sehingga akan terjadi mineralisasi tulang, dengan bantuan ALP yang disekresikan oleh osteoblas. Aktivitas ALP ini akan menginduksi pengendapan ion - ion kalsium dan fosfat dalam bentuk kristal - kristal hidroksiapatit, sehingga terjadi mineralisasi tulang dan terjadi proses penyembuhan tulang.

Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) memiliki senyawa triterpenoid dan flavonoid yang mampu meningkatkan produksi dan aktivitas ALP oleh sel progenitor osteoblas sehingga meningkatkan proses proliferasi osteoblas, dengan demikian jumlah sel - sel osteoblas akan meningkat. Peningkatan kadar ALP juga mampu meningkatkan mineralisasi tulang, sehingga diharapkan mampu meningkatkan terjadinya proses penyembuhan tulang.

### **3.2. Hipotesis Penelitian**

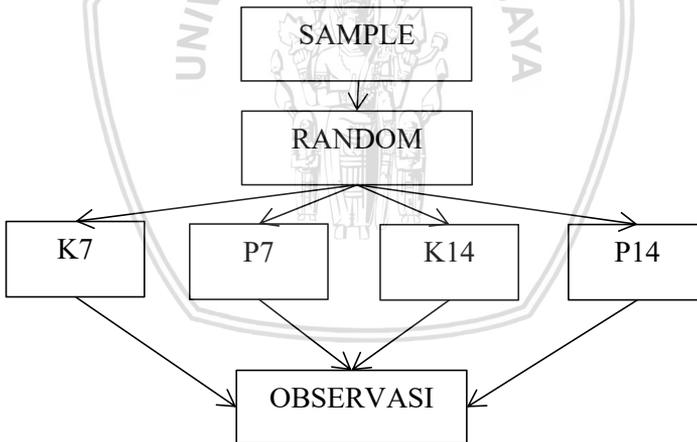
Hipotesis penelitian ini adalah ekstrak daun tempuyung (*Sonchus Arvensis L.*) memiliki pengaruh terhadap jumlah osteoblas pada penyembuhan soket tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca pencabutan gigi.

## BAB IV METODE PENELITIAN

### 4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan jenis *true experimental* berupa eksperimen atau percobaan murni yang dilakukan di laboratorium secara *in vivo* kepada hewan coba, dengan dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, pada 2 *time series* yaitu pada hari ke 7 dan 14. Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan *randomized post test only control group design*.

**Gambar 4.1 Rancangan Penelitian**



Keterangan :

- K7 = Kelompok kontrol 7 tidak diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) sampai hari ke-7 pasca pencabutan gigi, kemudian dilakukan pembedahan.
- P7 = Kelompok perlakuan 7 diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) sampai hari ke-7 pasca pencabutan gigi, kemudian dilakukan pembedahan.

- K14 = Kelompok kontrol 14 tidak diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) sampai hari ke-14 pasca pencabutan gigi, kemudian dilakukan pembedahan.
- P14 = Kelompok perlakuan 2 diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) sampai hari ke-14 pasca pencabutan gigi, kemudian dilakukan pembedahan.

## 4.2. Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) di Laboratorium Parasitologi Klinik Universitas Brawijaya, Malang. Sampel ini diambil berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi, yaitu:

- a. Kriteria inklusi meliputi tikus yang sehat, berjenis kelamin jantan, berat badan 180-200 gram, dan berusia 10 minggu.
- b. Kriteria eksklusi meliputi tikus yang mati selama proses penelitian, tikus yang sudah pernah digunakan untuk penelitian sebelumnya, serta tikus yang tidak berhasil dicabut giginya secara utuh.

Jumlah sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini, ditentukan menggunakan rumus federer (Putri, et al. 2016). Dalam penelitian ini terdapat 4 kelompok sampel, maka perhitungan sesuai rumus adalah

$(T-1)(N-1) \geq 15$ , dengan :

T adalah jumlah kelompok

N adalah jumlah sampel yang diperlukan untuk setiap perlakuan, maka:

$$(4-1)(N-1) \geq 15$$

$$3(N-1) \geq 15$$

$$3N - 3 \geq 15$$

$$3N \geq 18$$

$$N \geq 6$$

Berdasarkan hasil perhitungan di atas, maka dibutuhkan sebanyak minimal 24 hewan coba. Dengan pertimbangan untuk mengurangi kemungkinan *lost of sample*, maka dibutuhkan 1 hewan cadangan untuk masing - masing kelompok. Karena terdapat 4 kelompok maka cadangan hewan coba yang dibutuhkan adalah 4 ekor, sehingga jumlah total sampel hewan coba yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah  $24 + 4 = 28$  ekor.

#### **4.3. Variabel Penelitian**

##### **4.3.1. Variabel Bebas**

Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*).

##### **4.3.2. Variabel Tergantung**

Variabel tergantung dari penelitian ini adalah jumlah osteoblas.

##### **4.3.3. Variabel Kontrol**

Variabel kontrol dari penelitian ini adalah jenis hewan coba, jenis kelamin, berat badan, usia, dan pemeliharaan hewan coba.

#### **4.4. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di :

- a. Laboratorium Materia Medika Kota Batu sebagai lokasi pembuatan ekstrak.

- b. Laboratorium Parasitologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, sebagai lokasi perawatan, pemeliharaan, dan pemberian ekstrak kepada hewan coba.
- c. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, sebagai lokasi pembuatan preparat dan pengamatan histologis.

Penelitian ini dilakukan dalam jangka waktu  $\pm$  5 bulan (Mei - September).

#### **4.5. Alat dan Bahan Penelitian**

##### **4.5.1. Perawatan dan Pemeliharaan Hewan Coba**

###### a. Alat

Bak plastik sejumlah 28 buah dengan ukuran 30 x 40 x 15 cm, disertai tutup kandang berupa anyaman kawat, sekam, botol air, dan neraca Sartorius untuk menimbang berat badan hewan coba.

###### b. Bahan

Bahan makanan berupa pelet (pakan tikus) dan air untuk minum hewan coba.

##### **4.5.2. Pembuatan Ekstrak Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.)**

###### a. Alat

Pisau, *blender / food processor*, toples dengan tutup, timbangan analitik, botol, *beaker glass*, etanolmeter, tabung erlenmeyer, gelas ukur, *rotary evaporator*, kertas saring, corong pisah, *petridish*, pipet, *oven*, *digital shaker*, *waterbath*.

###### b. Bahan

Daun tempuyung, air, aquadest, etanol 96%

### 4.5.3. Prosedur Pencabutan Gigi

a. Alat

Pinset, sonde *halfmoon*, *lecron*, *needle holder* modifikasi, syringe anestesi, syringe irigasi, *petridish*, *dappen glass*, *tools tray*, *restrainer*, dan tempat sampah kecil.

b. Bahan

Obat anestetik ketamin, *cotton roll*, *cotton pellet*, kassa steril, larutan etanol 70%, aquades, obat analgesik novalgin, masker, *handscoon*.

### 4.5.4. Pemberian Ekstrak Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*)

a. Alat

*Restrainer*, *gastric tube*.

b. Bahan

Ekstrak kental daun tempuyung, *syringe*, air, masker, *handscoon*.

### 4.5.5. Pembedahan dan Sanitasi Pasca Pembedahan Hewan Coba

a. Alat

Pinset sirugis, *syringe*, *restrainer*, gunting bedah, kapas, scalpel dan *blade holder*.

b. Bahan

Larutan formalin buffer 10%, larutan EDTA 10%, etanol 70%, kain, plastik sampah medis dan non medis, masker, *handscoon*.

#### 4.5.6. Pembuatan Preparat

##### a. Alat

Pisau *scalpel*, *cassette*, pinset, *automatic tissue tex processor*, *freezer*, *oven*, *rotary microtome*, *object glass* dan *cover glass*, pipet, rak dan *tray* untuk pewarnaan, *waterbath*, wadah dan tabung untuk xylol dan etanol

##### b. Bahan

Bahan dekalsifikasi berupa etilendiamintetraasetat (EDTA) 10%, *Paraffin block*, bahan fiksasi berupa formalin buffer 10%, etanol pada konsentrasi 70%, 80%, 96%, dan 100%, bahan pewarnaan berupa larutan Hematoksilin serta larutan Eosin (untuk pewarnaan HE), etanol asam, Larutan xylol, amonia litium karbonat, air, aquades, cairan *entellan*, label.

#### 4.5.7. Penghitungan Jumlah Osteoblas

##### a. Alat

Preparat, *slide glass*, mikroskop cahaya merk Olympus, *image analyzer software* Olyvia.

#### 4.6. Definisi Operasional

##### 4.6.1. Ekstrak Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis L.*)

Ekstrak daun tempuyung adalah ekstrak berupa sediaan pekat dan kental yang berasal dari daun tempuyung yang diperoleh dan diidentifikasi di Laboratorium Materia Medika Kota Batu, dan diperoleh melalui teknik ekstraksi dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

#### 4.6.2. Osteoblas

Osteoblas adalah sel berbentuk kubus yang bertanggung jawab dalam pembentukan tulang. Dalam pewarnaan Hematoksilin - Eosin (HE), osteoblas akan terlihat memiliki satu inti sel, sitoplasma berwarna merah kebiruan, dan tampak sebagai sel kuboidal berjajar yang terdapat di sepanjang permukaan tulang, membentuk lapisan yang menyerupai lapisan epitel (Junqueira, 2009). Jumlah osteoblas dihitung pada sediaan jaringan tulang yang diambil dari soket gigi insisivus kiri rahang bawah pasca ekstraksi gigi, dalam 5 lapang pandang dengan pewarnaan HE, menggunakan mikroskop cahaya dengan bantuan *software OlyVia*.

#### 4.6.3. Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi adalah tindakan mengeluarkan gigi dari tulang alveolar tikus menggunakan *needle holder* yang dimodifikasi. Gigi yang dicabut adalah gigi insisivus kiri rahang bawah.

### 4.7. Prosedur Penelitian.

#### 4.7.1. Alur Penelitian

Melakukan pembuatan ekstrak daun tempuyung, kemudian hewan coba diletakkan pada kandang masing - masing yang telah diberi label sesuai perlakuan dan dilakukan aklimatisasi dengan lingkungan sekitar 7 hari.

Lalu melakukan tindakan pencabutan gigi pada seluruh hewan coba, untuk kemudian diberi perlakuan yang ditentukan sesuai kelompoknya, dan melakukan pembedahan pada hari ke 7 dan 14 serta pengambilan tulang mandibula. Tulang mandibula tersebut kemudian dibuat menjadi preparat untuk diamati secara

histologis jumlah osteoblasnya. Setelah dilakukan pengamatan, dapat dilakukan pengumpulan dan analisis data, disertai pembuatan kesimpulan.

#### 4.7.2. Pembuatan Ekstrak Daun Tempuyung

Daun tempuyung didapatkan dari Perkebunan Laboratorium Materia Medika Kota Batu, dan diidentifikasi serta diproses di Laboratorium Materia Medika Kota Batu. Jumlah daun tempuyung yang dibutuhkan merujuk pada Farmakope Herbal bahwa perolehan rendemen ekstrak kental daun tempuyung adalah tidak kurang dari 7,5% (Wijiyanto, *et al.* 2016). Dengan kebutuhan untuk 28 hewan coba, diperkirakan jumlah daun tempuyung yang dibutuhkan adalah 250 gram, dengan perkiraan hasil rendemen ekstrak kental daun tempuyung minimal sebanyak 18,75 gram. Kemudian dilakukan prosedur ekstraksi dengan teknik maserasi, yaitu:

- a. Sebanyak 250 gram daun tempuyung dicuci dengan air mengalir, dipotong- potong, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.
- b. Daun tempuyung tersebut kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 45°C, lalu dihaluskan hingga menjadi serbuk.
- c. Daun tempuyung diekstraksi dengan menggunakan etanol 96% sebagai pelarut.
- d. Pada serbuk daun tempuyung tersebut kemudian dilakukan pembasahan dengan etanol 96% sebanyak 500 ml.
- e. Serbuk daun yang telah dibasahi tersebut dimasukkan ke dalam toples, kemudian diratakan, dan ditambahkan lagi pelarut yang sama hingga serbuk tersebut terendam (sekitar

- 1,5 liter). Volume pelarut yang digunakan minimal 2 kali lebih banyak daripada berat serbuk. Lalu dikocok menggunakan *digital shaker* pada kecepatan 50 rpm, kemudian toples tersebut ditutup rapat selama 24 jam.
- f. Dilakukan penyaringan pada ekstrak cair menggunakan penyaring kain, tampung hasil berupa filtrat ke dalam labu *erlenmeyer*.
  - g. Ampas yang masih tersisa kemudian dimasukkan kembali ke dalam toples, kemudian ditambahkan lagi pelarut yang sama hingga terendam, hingga pelarut terlihat sekitar 5 cm di atas permukaan ampas (atau kurang lebih sebanyak 1 liter).
  - h. Dibiarkan kembali selama 24 jam dengan dikocok di atas *digital shaker* pada kecepatan 50 rpm.
  - i. Remaserasi dilakukan hingga filtrat terlihat lebih jernih, menggunakan 1 liter pelarut yang sama yaitu etanol 96%.
  - j. Seluruh filtrat hasil maserasi pertama hingga terakhir dijadikan satu, lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* suhu 40° C dalam tekanan 175 mBar selama 5 jam.
  - k. Ekstrak yang sudah dievaporasi lalu diuapkan di atas *waterbath* selama 2 jam.
  - l. Hasil yang diharapkan dari proses tersebut adalah dari 250 gram serbuk daun tempuyung dan 4 liter pelarut, diperoleh 18,75 gram ekstrak kental.

#### 4.7.3. Perawatan dan Pemeliharaan Hewan Coba

Memilih tikus yang sesuai dengan kriteria inklusi dengan melihat ciri fisiknya serta menimbang berat badan tikus tersebut.

Kemudian sebelum diberi perlakuan, tikus dipelihara terlebih dahulu atau diaklimatisasikan selama 7 hari, diberi makan dan minum sesuai kebutuhan.

Setelah diaklimatisasikan 7 hari, berat badan tikus kembali ditimbang serta dilihat kondisinya untuk memastikan tikus masih berada dalam kriteria inklusi sebelum dilakukan tindakan pencabutan gigi. Kemudian dilanjutkan dengan pemeliharaan serta pemberian ekstrak daun tempuyung selama 7 dan 14 hari.

#### 4.7.4. Prosedur Tindakan Pencabutan Gigi

Tindakan pencabutan gigi dilakukan pada gigi insisiv sentral kiri rahang bawah, karena aksesnya yang lebih mudah. Prosedur pencabutan gigi pada tikus putih adalah sebagai berikut (Widyastomo, *et al.*, 2013),

- a. Diaplikasikan antiseptik berupa larutan etanol 70% untuk sterilisasi asepsis area kerja yang akan dilakukan pencabutan, menggunakan *cotton pellet*.
- b. Hewan coba dipegang pada bagian dorsalnya untuk mempermudah pemberian anestesi. Anestesi dengan ketamin 1000 mg/ 10 ml sebanyak 0,2 ml, menggunakan syringe secara intramuskular. Lalu masukkan jarum syringe dalam sudut 30°-45° dan dilakukan aspirasi sedikit untuk memastikan jarum tidak masuk ke dalam pembuluh darah, lalu lanjutkan dengan injeksi anestesi (IACUC, 2017).
- c. Anestesi akan bekerja kurang lebih 3 menit setelah injeksi, dan tikus akan tertidur selama kurang lebih 1 jam untuk dapat dilakukan tindakan.

- d. Gigi insisivus sentral kiri rahang bawah dipisahkan dengan jaringan periodontalnya menggunakan lecron yang dimodifikasi.
- e. Gigi insisiv sentral kiri rahang bawah tikus dicabut menggunakan *needle holder* yang dimodifikasi.
- f. Aquades diirigasikan pada daerah yang sudah dilakukan pencabutan untuk membersihkan sisa - sisa fragmen gigi.
- g. Kontrol perdarahan dengan kassa steril
- h. Dilakukan perawatan lanjutan pada hewan coba setelah pencabutan gigi, berupa pemberian pakan lunak, analgesik Antrain 0,3 ml sebanyak 1 kali selama 1 hari secara intramuskular, dan Gentamicin sebanyak 1 kali sehari selama 3 hari secara intramuskular untuk mencegah terjadinya infeksi.
- i. Perlu dipastikan pula seluruh hewan coba dalam kondisi yang terkontrol, baik dari segi pakan maupun kondisi serta suhu lingkungan sekitar, selama masa percobaan.

#### 4.7.5. Pemberian Ekstrak Daun Tempuyung

Ekstrak diberikan kepada hewan coba melalui *gastric tube* sebanyak satu kali sehari, dengan dosis sebanyak 100mg / KgBB hewan (Sukmayadi, *et al.* 2014). Dengan perhitungan rata - rata berat badan hewan coba adalah 180-200 gram yang apabila dikonversikan ke dalam kilogram adalah 0,18 - 0,2 Kg, maka dosis yang dapat diberikan pada hewan coba adalah 18 mg - 20 mg / hari tergantung berat badan hewan coba. Sebanyak 18-20 mg ekstrak kental daun tempuyung dilarutkan dalam air sebanyak 2 ml agar

ekstrak tidak terlalu kental sehingga lebih mudah diterima oleh lambung tikus (Kurnia, *et al.*, 2015).

Berdasarkan pengenceran tersebut, maka konsentrasi ekstrak daun tempuyung yang diberikan adalah 20 mg/ 2 ml, jika dikonversikan ke dalam persen = 10 mg / ml  
= 1000 mg / 100 ml  
= 1 g / dl

Konsentrasi ekstrak daun tempuyung yang diberikan adalah 1 %

Ekstrak daun tempuyung diberikan setiap hari selama 14 hari. Pemberian ekstrak daun tempuyung terhadap tikus juga memperhitungkan kapasitas maksimal lambung tikus untuk mencegah terjadinya gangguan keseimbangan elektrolit dan radang pada lambung tikus tersebut. Untuk tikus putih dengan berat badan 180-200 gram, kapasitas lambungnya sekitar 4-5 ml (Lingga, *et al.* 2014).

#### 4.7.6. Pembedahan Hewan Coba

Melakukan pembedahan pada hewan coba yang akan dilakukan pengamatan, setelah hari ke 7 dan hari ke 14. Prosedur pembedahan hewan coba yaitu :

- a. Dilakukan euthanasia pada hewan coba menggunakan injeksi ketamin dosis lethal, yaitu 3x lipat dosis anestesi (IACUC, 2017).
- b. Dipastikan bahwa hewan coba sudah mati dengan melihat tidak adanya denyut nadi, tidak bernapas, tidak ada reflek pada *pinch* atau pencubitan di daerah tungkai, tidak ada detak jantung pada stetoskop, mukosa berwarna pucat keabuan, dan *rigor mortis* (AVMA, 2013).

- c. Selanjutnya dilakukan dekaputasi untuk pembedahan dan pengambilan tulang mandibula
- d. Potongan tulang kemudian dimasukkan ke dalam formalin buffer 10% selama 24 jam (Salim, *et al.* 2015).
- e. Dilakukan dekalsifikasi pada tulang mandibula dengan perendaman menggunakan EDTA 10% selama 14 hari pada suhu 4°C agar tulang tersebut lunak dan lebih mudah untuk dilakukan pemotongan jaringan (Al-Obaidi, *et al.* 2014).

#### **4.7.7. Sanitasi Pasca Pembedahan Hewan Coba**

Sanitasi dilakukan pada organ hewan coba yang tidak terpakai setelah dilakukan pengambilan mandibulanya.

- a. Bagian mandibula yang akan diamati kemudian dibersihkan dan diberi etanol 70% sebagai aseptik.
- b. Sisa organ lainnya dikuburkan.
- c. Dilakukan pembuatan lubang berukuran 100 cm x 30 cm x 50 cm.
- d. Sisa organ kemudian dikubur dalam lubang tersebut dengan dibalut bahan yang mudah terurai, contohnya kain.
- e. Sampah setelah tindakan pembedahan dimasukkan ke dalam plastik lalu dibuang.

#### **4.7.8. Pembuatan Preparat dan Pengamatan Histologis**

Pembuatan preparat dari tulang mandibula dibuat dengan tahapan dehidrasi, *clearing*, *impregnasi*, *embedding*, sayatan, dan pengecatan. Untuk dapat melihat soket dengan baik, maka preparat dipotong pada arah sagital (Kurnia, *et al.*, 2017). Prosedur pembuatan preparat berdasarkan pedoman dari Laboratorium Patologi Anatomi FKUB yaitu :

- I. Proses pemotongan jaringan berupa makros
  - a. Potongan jaringan dipastikan sudah difiksasi menggunakan formalin 10% atau *buffer* formalin 10%, minimal selama 7 jam sebelum dilakukan pengerjaan tahap berikutnya.
  - b. Bagian jaringan yang dipilih adalah bagian yang paling representatif sesuai variabel yang akan diteliti.
  - c. Jaringan tersebut dipotong sebesar 2-3 mm (*gross*)
  - d. Jaringan dimasukkan ke dalam kaset, kemudian diberi label atau kode sesuai dengan kode *gross* peneliti.
  - e. Jaringan tersebut diproses dengan cara manual atau menggunakan alat *automatic tissue tex processor*. Jika menggunakan alat tersebut, pemrosesan jaringan dilakukan selama 90 menit, ditandai dengan berbunyinya alarm pada alat tersebut.
- II. Proses pemblokiran dan pemotongan jaringan
  - a. Jaringan diangkat dari alat *automatic tissue tex processor*
  - b. Jaringan tersebut dicetak menggunakan paraffin sesuai dengan kode jaringan.
  - c. Jaringan lalu dipotong menggunakan *rotary microtome*, dengan ketebalan 3 - 5 mikron.
- III. Proses deparafinisasi

- a. Sayatan jaringan setebal 3-5 mikron tersebut kemudian diletakkan di dalam oven selama 30 menit dengan suhu 70-80°C.
- b. Setelah dioven, sayatan jaringan dimasukkan ke dalam larutan *xylol* di 2 wadah yang berbeda, masing - masing selama 20 menit.
- c. Sayatan jaringan lalu dimasukkan ke dalam etanol di 4 wadah berbeda, masing - masing selama 3 menit (prosedur dehidrasi).
- d. Setelah itu sayatan jaringan diletakkan di bawah air mengalir selama 15 menit.

IV. Proses pewarnaan menggunakan *hematoxylin - eosin*

Sayatan jaringan diletakkan dalam larutan dan waktu sebagai berikut :

- a. 10-15 menit dalam cat utama Harris Hematoksilin
- b. 15 menit dicuci menggunakan air mengalir
- c. Dilakukan pencelupan sebanyak 2-5 kali ke dalam etanol asam
- d. Apabila kurang biru dapat dicelupkan ke dalam amonia litium karbonat sebanyak 3 - 5 kali.
- e. 10 - 15 menit dalam pewarna eosin

V. Etanol (dengan konsentrasi bertingkat)

Sayatan jaringan dimasukkan ke dalam larutan etanol selama 3 menit di masing masing wadah berisi :

- a. etanol 70%
- b. etanol 80%
- c. etanol 96%

d. etanol absolut (100%)

VI. Prosedur *clearing*

Menggunakan xylol dalam 2 wadah yang berbeda, masing - masing selama 15 menit.

VII. *Mounting* dengan cairan *entellan* dan *deckglass*

- a. Jaringan diletakkan pada *object glass* kemudian ditutup dengan *cover glass*, lalu dibiarkan kering dalam suhu ruangan.
- b. Preparat siap untuk diamati apabila kondisinya sudah kering.

#### 4.7.9. Penghitungan Jumlah Osteoblas

Penghitungan jumlah osteoblas dilakukan pada preparat dari soket pasca pencabutan gigi pada hari ke 7 dan 14. Pengamatan dipusatkan pada *healing center* di daerah sekeliling tepi soket (Salim, *et al.* 2015). Jumlah osteoblas dihitung pada 5 lapang pandang, mencakup 2 lapang pandang di daerah 1/3 servikal, 2 lapang pandang di daerah 1/3 medial, dan 1 lapang pandang di daerah 1/3 apikal (Rizqi, *et al.* 2016).

Pengamatan ini dilakukan menggunakan mikroskop cahaya binokuler merk *Olympus* yang terkalibrasi dengan perangkat lunak pengolah gambar *Olyvia*. Pada penampang *software Olyvia*, perbesaran yang digunakan adalah perbesaran 40x. Pada pengamatan, sel osteoblas akan tampak sebagai sel dengan bentuk kuboid atau silindris pendek dengan satu inti sel disertai sitoplasma berwarna merah kebiruan (Salim, *et al.* 2015). Sel - sel osteoblas akan saling berjajar membentuk lapisan memanjang di sepanjang tepi tulang, menyerupai lapisan epitel (Junqueira, 2011).

Seluruh jumlah osteoblas pada masing - masing lapang pandang dan masing - masing kelompok kemudian dirata - rata dan dilakukan analisa data menggunakan uji statistik yang sesuai.

#### 4.8. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa jumlah osteoblas, kemudian dirata - rata per kelompok lalu dilakukan analisa secara statistika menggunakan program pengolah data statistik. Analisa data ini dilakukan untuk menguji hipotesis komparatif dan korelatif, dengan tingkat signifikansi yaitu 0,05 ( $p=0,05$ ) dan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ). Langkah - langkahnya ialah :

a. Uji Normalitas Data

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui distribusi data - data yang diperoleh tersebut normal atau tidak. Uji Normalitas dapat dilakukan dengan *Saphiro Wilk Test* karena jumlah sampe yang digunakan  $\leq 50$ . Apabila data tersebut terdistribusi normal, maka dapat dilanjutkan dengan uji homogenitas varian.

b. Uji Homogenitas Varian

Uji homogenitas dapat dilakukan dengan *Levene test*. Jika uji homogenitas menunjukkan data tersebut terdistribusi secara homogen, maka dapat dilanjutkan uji parametrik berupa uji T tidak berpasangan, sedangkan apabila data tidak normal dapat dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

c. Uji T tidak berpasangan

Untuk mengetahui nilai dari tiap dua kelompok terdapat perbedaan atau tidak.

d. Uji Korelasi Pearson dan Uji Regresi

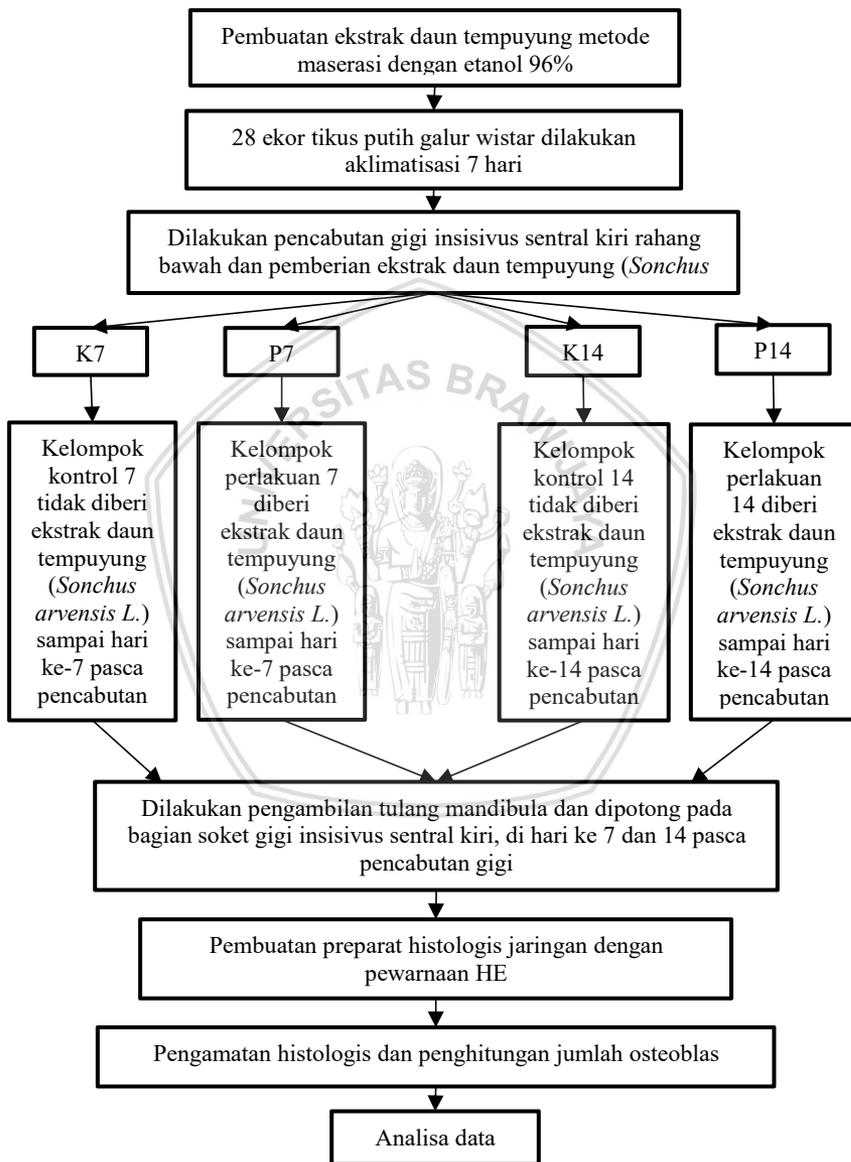
Uji Korelasi Pearson digunakan untuk melihat adanya hubungan antara variabel bebas dan variabel tergantung. Uji Korelasi Pearson memiliki tingkat kepercayaan 99% ( $\alpha = 0,01$ ). Apabila nilai korelasinya mendekati +1, maka dinyatakan korelasi ke arah positif, dan sebaliknya.

Uji regresi dilakukan untuk mengetahui kekuatan hubungan yang ada, atau seberapa besar variabel bebas dapat mempengaruhi variabel tergantung.



## 4.9. Kerangka Operasional Penelitian

Gambar 4.2 Kerangka Operasional





## BAB V

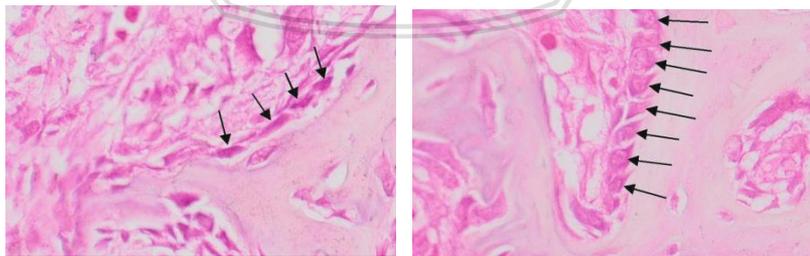
### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh dari pemberian ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) terhadap jumlah osteoblas pasca pencabutan gigi pada tikus putih.

Sampel didapatkan dari soket pasca pencabutan gigi insisivus mandibula kiri pada tikus putih yang telah didekaputasi. Selanjutnya, potongan soket tersebut diproses dan diberi pewarnaan HE. Sediaan histologis kemudian discan menggunakan mikroskop cahaya Olympus, lalu penghitungan jumlah osteoblas dilakukan dengan menggunakan *software OlyVia* pada perbesaran 40x. Dalam pewarnaan HE, osteoblas akan tampak sebagai sel kuboidal dengan satu inti dan sitoplasma berwarna merah kebiruan (Salim, *et al.* 2015). Osteoblas dapat ditemukan berjajar di sepanjang permukaan tulang, membentuk lapisan seperti lapisan epitel (Junqueira, 2011).

**Gambar 5.1 Osteoblas pada hari ke 7, pewarnaan HE, Perbesaran 40x.**



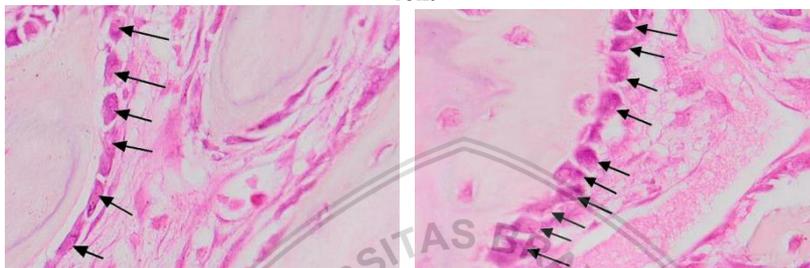
**Gambar (a)**

**Gambar (b)**

Gambar (a) adalah kelompok kontrol (K7), dan gambar (b) adalah kelompok perlakuan (P7). Sel osteoblas ditunjukkan oleh panah hitam.

Pada gambar 5.1, terlihat bahwa jumlah osteoblas pada satu lapang pandang di kelompok perlakuan hari ke 7 (P7) yaitu gambar (b), lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol (K7) pada gambar (a).

**Gambar 5.2 Osteoblas pada hari ke 14, pewarnaan HE, Perbesaran 40x.**



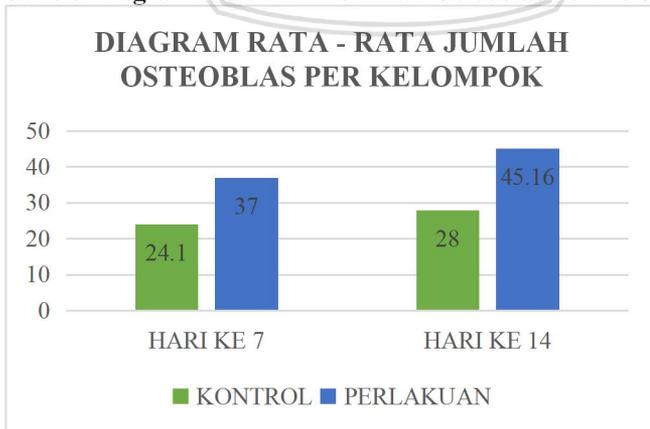
**Gambar (c)**

**Gambar (d)**

Gambar (c) adalah kelompok kontrol (K14), dan gambar (d) adalah kelompok perlakuan (P14). Sel osteoblas ditunjukkan oleh panah hitam.

Pada gambar 5.2, terlihat bahwa jumlah osteoblas pada satu lapang pandang di kelompok perlakuan P14 (gambar (d)), lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol K14 pada gambar (c).

**Gambar 5.3 Diagram Rata - Rata Jumlah Osteoblas Per Kelompok**



Berdasarkan grafik di atas, diperoleh bahwa rata - rata jumlah osteoblas pada P7 sebanyak 37, lebih banyak daripada jumlah osteoblas K7. Begitu pula dengan rata - rata jumlah osteoblas P14 sebanyak 45,16, lebih banyak daripada K14. Selain itu, diperoleh bahwa kelompok perlakuan secara keseluruhan memiliki jumlah osteoblas yang lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol.

## **5.2 Analisa Data**

### **5.2.1. Uji Normalitas**

Uji normalitas data dilakukan untuk melihat distribusi suatu data normal atau tidak. Dalam penghitungan statistik kali ini, uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* karena jumlah sampel penelitian kurang dari 50.

Uji Normalitas dinyatakan terpenuhi apabila nilai signifikansi hasil perhitungan menunjukkan nilai  $p > 0,05$ . Berdasarkan uji normalitas, diperoleh bahwa nilai signifikansinya sebesar 0,437, dengan demikian dapat dinyatakan bahwa data jumlah osteoblas terdistribusi normal.

### **5.2.2. Uji Homogenitas**

Uji homogenitas dilakukan menggunakan *levene test*. Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui data yang diperoleh homogen atau tidak.

Data dinyatakan homogen apabila nilai signifikansi hasil perhitungan ( $p$ )  $> 0,05$ . Uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi ( $p$ ) = 0,671, maka dapat dinyatakan bahwa data jumlah osteoblas bersifat homogen.

Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka penghitungan statistik dapat diteruskan dengan menggunakan statistik parametrik.

### 5.2.3. Uji T Tidak Berpasangan

Uji T tidak berpasangan dipergunakan untuk menguji dan melihat ada atau tidaknya perbedaan yang bermakna setiap dua kelompok. Uji ini membandingkan kelompok K7 dengan P7, K7 dengan K14, P7 dengan P14, K14 dengan P14, K7 dengan P14, dan P7 dengan K14. Hasilnya diperoleh bahwa seluruh kelompok dan kelompok pembanding memiliki data yang homogen dan seluruh jumlah osteoblas berbeda signifikan antara dua kelompok yang dibandingkan.

### 5.2.4. Uji Korelasi Pearson dan Uji Regresi

Uji Korelasi Pearson digunakan untuk melihat adanya korelasi atau hubungan antara lama pemberian ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) dengan jumlah osteoblas pasca pencabutan gigi. Uji Korelasi Pearson memiliki tingkat kepercayaan 99% ( $\alpha = 0,01$ ). Artinya, data dianggap signifikan jika memiliki *p-value*  $<0,01$ . Kemudian, jika nilai korelasi mendekati +1, maka dinyatakan korelasi ke arah positif, dan sebaliknya, jika mendekati -1, maka korelasinya ke arah negatif (Dahlan, 2011). Dari uji tersebut, terlihat bahwa nilai signifikansi atau *p-value* adalah 0,000 dan nilai korelasinya adalah sebesar 0,960, ke arah positif mendekati +1. Hal ini menunjukkan adanya hubungan, bahwa lama pemberian ekstrak berbanding lurus dengan jumlah osteoblas.

Selanjutnya, uji statistik diteruskan pada uji regresi untuk mengetahui kekuatan hubungan atau seberapa besar variabel bebas

dapat mempengaruhi variabel tergantung. Dari hasil uji regresi, terlihat bahwa koefisien determinasi *R Square* sebesar 0,922, yang menunjukkan bahwa lama pemberian ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) memberikan pengaruh sebesar 92,2% terhadap jumlah osteoblas pasca pencabutan gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

### 5.3 Pembahasan

Ekstrak daun tempuyung sebanyak 18-20 mg yang dilarutkan dalam 2 ml air, diberikan secara per oral (p.o.) melalui sonde lambung. Pemberian per oral dipilih karena target dari ekstrak ini adalah osteoblas, yang sel - selnya berada di dalam tulang, sehingga apabila diberikan secara topikal pada luka pasca pencabutan gigi, ekstrak mungkin kurang efektif karena tidak meresap hingga ke dalam tulang. Meski pemberian topikal lebih mudah dilakukan, tetapi ekstrak akan lebih mudah larut oleh saliva. Selain itu, pemberian secara topikal juga umumnya diabsorpsi lebih lama karena dipengaruhi oleh ketebalan mukosa serta ada tidaknya lapisan keratin pada mukosa (Sheikh, *et al.*, 2013 ; Verma, *et al.*, 2010).

Pemberian per oral memiliki kelebihan yaitu ekstrak yang diberikan dapat sampai pada sel target yaitu osteoblas, karena ekstrak akan diabsorpsi di hampir seluruh bagian saluran pencernaan (Verma, *et al.*, 2010). Selain itu, pada umumnya flavonoid pada tumbuhan (kecuali jenis katekin), ditemukan berikatan dengan  $\beta$ -glikosida. Ikatan ini menyebabkan absorpsi flavonoid oleh usus halus menjadi sangat efisien, sehingga meningkatkan kadar

flavonoid dalam plasma (Hollman, 2004). Meski demikian, pemberian secara per oral mungkin dapat mengurangi efektivitas ekstrak karena terdapat *first pass effect*, yaitu terjadinya metabolisme flavonoid di hepar sebelum masuk ke sistem sirkulasi. Sehingga dapat menurunkan kadar flavonoid yang diterima oleh tubuh (Verma, *et al.*, 2010 ; Manach dan Donovan, 2004).

Pada hasil penelitian, berdasarkan analisis menggunakan uji T tidak berpasangan, didapatkan perbedaan signifikan yang menunjukkan peningkatan jumlah osteoblas dari hari ke-7 hingga hari ke-14, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Ditunjukkan dari rata - rata jumlah osteoblas P14 sebanyak 45,16 dan P7 hanya 37, serta K14 sebanyak 28 dan K7 hanya 24,1. Kemudian juga didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun tempuyung dengan kelompok kontrol pada hari yang sama, ditunjukkan dari rata - rata jumlah osteoblas P7 sebanyak 37 sedangkan K7 hanya 24,1. Begitu juga P14 sebanyak 45,16 sedangkan K14 hanya 28. Bahkan jumlah osteoblas P7 lebih tinggi dibandingkan K14. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) berpengaruh terhadap jumlah osteoblas pada soket pasca pencabutan gigi.

Selanjutnya, berdasarkan uji korelasi pearson, diperoleh bahwa nilai korelasinya sebesar 0,96 ke arah positif. Nilai ini menunjukkan bahwa lama pemberian ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) berbanding lurus dengan peningkatan jumlah osteoblas pasca pencabutan gigi. Maka, semakin lama pemberian ekstrak daun tempuyung, semakin tinggi pula jumlah osteoblasnya.

Lalu, koefisien determinasi *R Square* dari uji regresi adalah sebesar 0,922. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun tempuyung berpengaruh sebesar 92,2% terhadap peningkatan jumlah osteoblas pasca pencabutan gigi, sedangkan 7,8% nya dapat dipengaruhi oleh faktor lainnya.

Hasil di atas sesuai dengan teori, bahwa pada hari ke 14 jumlah osteoblas lebih banyak daripada hari ke-7. Hal ini menunjukkan terjadinya *self-healing* yang baik tanpa adanya faktor penghambat seperti infeksi. Pada proses penyembuhan soket pasca pencabutan gigi, sel - sel osteoblas akan mulai tampak pada hari ke-7 dalam jumlah yang lebih sedikit dibandingkan hari ke 14, karena proses remodeling masih didominasi oleh aktivitas osteoklas yang meresorpsi defek pada tulang (Florencio-Silva, *et al.*, 2015). Jumlah osteoblas akan meningkat signifikan pada hari ke 14 (Vieira, *et al.*,2015). Peningkatan pembentukan trabekula oleh osteoblas terjadi dari minggu ke-2 hingga minggu ke 10, dan akan stabil pada minggu ke-10 hingga minggu ke-16. Pada minggu ke-16, densitas trabekula umumnya sudah kembali normal dan memenuhi ruang kosong dalam soket sehingga jumlah osteoblas stabil, proses pembentukan tulang baru akan menurun, dan digantikan oleh proses remodeling fisiologis (Pagni, *et al.*,2012).

Sedangkan pada kelompok perlakuan, jumlah osteoblas lebih banyak daripada kelompok kontrol karena proses penyembuhan soketnya, selain karena proses *self healing*, juga dipengaruhi oleh ekstrak daun tempuyung yang diberikan sehingga jumlah osteoblasnya meningkat. Sesuai teori, salah satu kandungan fitokimia dalam daun tempuyung (*sonchus arvensis L.*) adalah

triterpenoid, dan senyawa ini mampu menginduksi peningkatan produksi enzim alkalin fosfatase (ALP) oleh pre-osteoblas yang sedang berproliferasi. ALP berperan penting dalam menginduksi peningkatan pembentukan osteoblas dan mineralisasi tulang (Hendriani, *et al.*, 2014 ; Spoorn, *et al.*, 2008). Selain itu, ekstrak daun tempuyung juga memiliki kandungan flavonoid yang dapat menginduksi peningkatan aktivitas ALP oleh pre-osteoblas dan meningkatkan ekspresi *bone marker* seperti osteonectin dan osteocalcin (Guo, *et al.*, 2011).

Pada kelompok perlakuan juga terlihat bahwa ekstrak daun tempuyung (*Sonchus oleraceus* L.) mempengaruhi 92,2% peningkatan jumlah osteoblas, sedangkan 7,8% dipengaruhi faktor lain seperti kondisi fisiologis masing - masing tikus, nutrisi, dan tingkat stress. Nutrisi dapat mempengaruhi penyembuhan karena meski jumlah dan komposisi makanan yang disediakan sama, tetapi jumlah yang dimakan oleh masing - masing tikus akan berbeda. Selain itu, tingkat stress dapat mempengaruhi penyembuhan karena saat stress, hormon kortison dan katekolamin akan terlepas ke dalam sistem. Hormon tersebut dapat mengganggu metabolisme dan sistem imun sehingga mengganggu penyembuhan luka dan tulang (Wippert, *et al.*, 2017).

Meski jumlah osteoblas pada soket manusia masih terus meningkat hingga minggu ke-10 pasca pencabutan gigi, penelitian ini hanya dilakukan pada 2 *time series* yaitu hari ke-7 dan hari ke-14, karena penelitian sebelumnya mengenai proses penyembuhan soket pada tikus putih, menunjukkan bahwa pembentukan tulang dimulai dari hari ke-7 dan sudah terbentuk trabekula yang cukup tebal pada

socket di hari ke-14, sehingga setelah hari ke-14 jumlah osteoblas pada socket tikus umumnya tidak lagi meningkat signifikan (Pagni, *et al.*,2012). Untuk itu, ekstrak daun tempuyung diberikan pada kedua waktu tersebut untuk melihat apakah pengaruhnya signifikan terhadap pembentukan dan peningkatan jumlah osteoblas di fase awal remodeling tulang.

Meski penelitian memberikan hasil yang signifikan, terdapat beberapa keterbatasan dalam penelitian ini. Keterbatasan yang pertama adalah kurangnya variasi dosis ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*), karena pada penelitian ini hanya diberikan satu dosis saja yaitu 100mg/KgBB. Keterbatasan kedua adalah tidak adanya kelompok K0 sebagai acuan jumlah osteoblas normal pada tikus putih yang tidak dilakukan pencabutan gigi. Keterbatasan yang ketiga adalah penelitian ini baru dilakukan untuk mengamati jumlah osteoblas hingga hari ke-14 saja, sehingga belum dapat diketahui pengaruh ekstrak daun tempuyung (*Sonchus Arvensis L.*) pada pemberian di atas 14 hari.

Dengan diberikannya ekstrak daun tempuyung yang mengandung triterpenoid dan flavonoid, maka jumlah osteoblas yang terbentuk akan meningkat, disertai mineralisasi tulang yang meningkat pula, dan berdampak pada meningkatnya pembentukan tulang pada socket. Berdasarkan pembahasan di atas, diperoleh bahwa **hipotesis penelitian ini diterima**, yaitu ekstrak daun tempuyung (*Sonchus Arvensis L.*) memiliki pengaruh terhadap jumlah osteoblas pada penyembuhan socket tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca pencabutan gigi.



## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

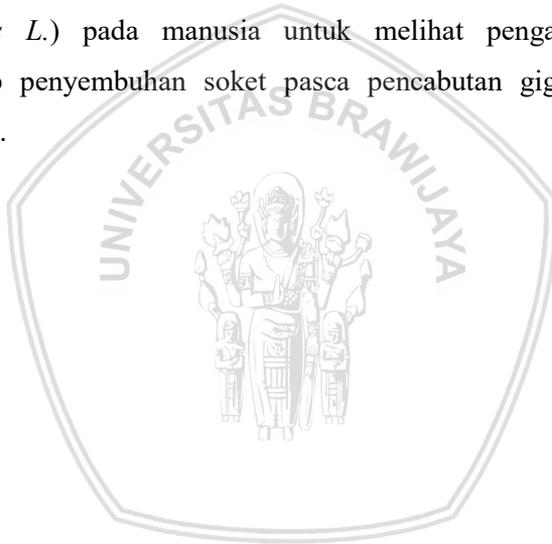
#### 6.1. Kesimpulan

1. Ekstrak daun tempuyung (*Sonchus Arvensis L.*) memiliki pengaruh terhadap jumlah osteoblas pada penyembuhan soket tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca pencabutan gigi.
2. Terdapat perbedaan bermakna rata - rata jumlah osteoblas hari ke 7 dimana pada kelompok P7 yang diberi ekstrak daun tempuyung memiliki rata- rata yang lebih tinggi, yaitu sebesar 37, sedangkan kelompok K7 sebesar 24,1.
3. Terdapat perbedaan bermakna rata - rata jumlah osteoblas hari ke 14 dimana kelompok P14 yang diberi ekstrak daun tempuyung memiliki rata- rata yang lebih tinggi, yaitu sebesar 45,16, sedangkan kelompok K14 sebesar 28.
4. Terdapat perbedaan bermakna antara jumlah osteoblas hari ke 14 dan hari ke 7 baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan, dimana rata-rata P14 lebih tinggi secara signifikan dibandingkan P7 dan K14 lebih tinggi secara signifikan dibandingkan K7.

#### 6.2. Saran

1. Sebaiknya ada variasi dosis ekstrak daun tempuyung (*Sonchus Arvensis L.*) yang diberikan untuk mengetahui dosis yang paling efektif.
2. Sebaiknya perlu dibuat kelompok kontrol K0 untuk membedakan jumlah osteoblas pada tulang alveolar tikus yang dilakukan dan tidak dilakukan pencabutan gigi.

3. Sebaiknya perlu dilakukan penambahan waktu penelitian hingga 21 hari dan seterusnya, untuk melihat apakah ekstrak daun tempuyung masih efektif dalam meningkatkan jumlah osteoblas setelah 14 hari.
4. Perlu dilakukan uji toksisitas ekstrak daun tempuyung (*Sonchus Arvensis L.*) untuk mengetahui efek samping dan toksisitas dari ekstrak ini.
5. Perlu dilakukan uji klinis ekstrak daun tempuyung (*Sonchus Arvensis L.*) pada manusia untuk melihat pengaruhnya terhadap penyembuhan soket pasca pencabutan gigi pada manusia.



## DAFTAR PUSTAKA

- Al-obaidi, Mazen M. Jamil. Et al. 2014. *Impact of Ellagic Acid in Bone Formation after Tooth Extraction: An Experimental Study on Diabetic Rats*. The scientific world journal.
- Alexandru, Iliuță. 2011. *Experimental Use Of Animals In Research*. Balneo-Research Journal Vol.2.
- Alqahtani. 2013. The Pentacyclic Triterpenoids in Herbal Medicines and Their Pharmacological Activities in Diabetes and Diabetic Complications. *Current Medicinal Chemistry*, 20, (908-931)
- Ari, Ahmad Nur Hidayat Geni., Melati, Maya., Aziz, Sandra A. 2016. *Produksi Bibit Tempuyung (Sonchus arvensis L.) dengan Komposisi dan Volume Media Tumbuh yang Berbeda*. Jurnal Hortikultura Indonesia, volume 7(3), Halaman 195-203.
- AVMA (American Veterinary Medical Association). 2013. *AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition*. Schaumburg, Germany.
- Azmir, J. Zaidul., Rahman, M.M. 2013. *Techniques For Extraction of Bioactive Compounds From Plant Materials: A Review*. Journal of Food Engineering vol. 117 : 426–436. Elsevier.
- Azwanida, NN. 2015. *A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation*. Journal of Medicinal and Aromatic Plants, Vol. 4 (3) : 196.
- Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan. 2013. *Riskesmas (Riset Kesehatan Dasar)*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Chairul, Sofnie M., Sumarny, Ros. 2003. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Tempuyung (Sonchus Arvensis L.) secara Invitro*. Majalah Farmasi Indonesia Vol. 14(4) : 208 – 215.

- Cheng, Kun., Gao, Hua., Liu, Yang., Wang, Wei., dkk. 2017. *Evaluation of Extraction and Degradation Methods to Obtain Chickpeasaponin B1 from Chickpea (Cicer arietenum L.)*. MDPI Journal of Molecules, Vol. 22(332) : 1-13.
- Cohen, N., Cohen-Levy, J. 2014. *Healing Processes Following Tooth Extraction In Orthodontic Cases*. Journal of Dentofacial Anomalies and Orthodontics, Hlm 1-21.
- Dahlan, M. Sopiudin. 2011. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan (Edisi 6)*. Jakarta : Penerbit Salemba.
- Dalimartha S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta : Puspa Swara.
- Dinas Kesehatan Kota Malang. 2015. *Profil Kesehatan Kota Malang tahun 2014*. Malang : Dinkes Kota Malang.
- Earley, Edward T. 2012. *Complications With Extractions*. AAEP PROCEEDINGS, Vol. 58, halaman 289-293.
- Florencio-Silva, Rinaldo., Sasso, Gisela Rodrigues da Silva., Sasso-Cerri, Estela. dkk. 2015. *Review Article, Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells*. Biomed research International, halaman 1-17. Hindawi Publishing Corporation.
- Garai, S. 2014. *Triterpenoid Saponins*. Journal of Natural Products Chemistry & Research, vol. 2, No. 6.
- Guo, Ava J. Y., Choi, Roy C. Y. 2011. *Baicalin, a Flavone, Induces the Differentiation of Cultured Osteoblasts : An Action Via The Wnt/Beta-Catenin Signaling Pathway*. The Journal Of Biological Chemistry Vol. 286(32), pp. 27882–27893.
- Handa, Sukhdev Swami. Khanuja, Suman Preet Singh. Longo, Gennaro. 2008. *Extraction Technologies For Medicinal And*

*Aromatic Plant*. International Centre For Science And High Technology.

- Haryoto., Sujono, Tanti Azizah., Suhendi, Andi., Muhtadi. 2015. *Pengembangan Potensi Herbal Medicine Dari Ekstrak Tumbuhan Sala (Cynometra Ramiflora Linn.) Menjadi Obat Herbal Terstandar : Uji Farmakologi, Toksisitas Dan Penyelidikan Kimia*. University Research Colloquium Hal. 46-63.
- Hendriani, Rini., Sukandar, Elin Yulinah., Kusnandarangadiredja. 2014. *In Vitro Evaluation of Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Sonchus Arvensis Leaves*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol 6 Issue 2, Halaman 501-503.
- Hidayati, A., Yusrin, H. Anggraini. 2009. *Pengaruh frekuensi penggunaan teh daun tempuyung (Sonchus arvensis L.) terhadap daya larut kalsium oksalat (CaC<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)*. Jurnal Kesehatan. 2(2): 30-37.
- Hollman, Peter C.H. 2004. *Absorption, Bioavailability, and Metabolism of Flavonoids*. Pharmaceutical Biology Vol. 42 : 74-83
- IACUC. 2017. *Basic Mouse Handling and Technique Guide*. Carolina : Univeristy of Carolina.
- ICS UNIDO. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste : ICS-UNIDO.
- Ireland, Robert. 2012. *Kamus Kedokteran Gigi*. Jakarta : EGC
- Karimi, Ali., Majlesi, Maedeh., Rafieian-Kopaei, Mahmoud. 2015. *Herbal Versus Synthetic Drugs; Beliefs And Facts*. Journal of Nephroarmacology Vol. 4(1) : 27-30.

- Kong, Xiangying., Yang, Yue., Wu, Wenbin., dkk. 2015. *Triterpenoid Saponin W3 from Anemone flaccida Suppresses Osteoclast Differentiation through Inhibiting Activation of MAPKs and NF- $\kappa$ B Pathways*. International Journal of Biological Sciences, Vol. 11 No. 10 :1204-1214.
- Kurnia, Pandika Agung., Ardhiyanto, Hengky Bowo., Suhartini. 2015. *Potensi Ekstrak Teh Hijau (Camellia sinensis) Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Fibroblas Soket Pasca Pencabutan Gigi pada Tikus Wistar*. e-Jurnal Pustaka Kesehatan, vol. 3 no.1 : 122-127.
- Le, Bach T. dan Woo, Ian. 2007. *Management of Complications of Dental Extractions*. American Dental Association.
- Letluhur, Vita A., Pangemanan, Damajanti H.C., Supit, Aurelia. 2015. *Gambaran Tingkat Pengetahuan tentang Pencabutan Gigi pada Masyarakat Kelurahan Kombos Berdasarkan Pendidikan dan Pekerjaan*. Jurnal e-Gigi Vol. 3(1) : 1-6.
- Lingga, Irene Sondang., Citraningtyas, Gayatri., Lolo, Widya Astuti. 2014. *Uji Efek Ekstrak Etanol Patikan Kebo (Euphorbia Hirta Linn.) Sebagai Diuretik Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (Rattus Norvegicus Sp.)*. Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT Vol. 3(3) : 287-293.
- Mahatrinny, NN., Payani, N.P.S., Oka, I.B. 2014. *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pepaya (Carica Papaya L.) Yang Diperoleh Dari Daerah Ubud, Kabupaten Gianyar, Bali*. Jurnal Farmasi Udayana, vol 3(1) : 8-13
- Majinda, Runner R.T. 2012. *Extraction and isolation of Saponins*. Methods in Molecular Biology : 415-426.

- Manach, Claudine., Donovan, Jennifer L. 2004. *Pharmacokinetics and Metabolism of Dietary Flavonoids in Humans*. Free Radical Research, Volume 38(8) : 771-785
- Marcin, Richard. 2000. *Comparative Cranial Anatomy of Rattus Norvegicus and Proechimys Trinitatus*. New York : University of New York.
- Mescher, A.L. 2011. *Histologi Dasar Junqueira, Teks dan Atlas, edisi 12*. Jakarta : EGC.
- Miloro, M., Ghali, G.E., Larsen, P.E., dkk. 2004. *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*. Ontario : BC Decker.
- Nebendahl, Klaus. 2000. *Chapter 24 : Routes of Administration*. Göttingen : Academic Press, University of Göttingen.
- Pagni, Giorgio., Pellegrini, Gaia., Giannobile, William V. 2012. *Review Article : Postextraction Alveolar Ridge Preservation : Biological Basis and Treatments*. International Journal of Dentistry.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 6 tahun 2016 tentang *Formularium Obat Herbal Asli Indonesia*.
- Pollock, Christal. 2010. *Rat (Rattus norvegicus)*. Lafeber Company veterinary consultant.
- Putri, Aini. 2015. *Larvicidal Activity Of Kemuning Leaf Extract ( Murraya Paniculata (L.) Jack ) Against Dengue Hemorrhagic Fever Vector*. J. Majority. Vol. 4(3) : 1-8.
- Rijke E. 2005. *Trace-level Determination of Flavonoids and Their Conjugates Application to Plants of The Leguminosae Family* [disertasi]. Amsterdam: Universitas Amsterdam

- Rizqi, Cicik Khilar., Harmono, Happy., Nugroho, Raditya. 2016. *Pengaruh Lama Distres Kronis Terhadap Perubahan Jumlah Sel Osteoklas Pada Tulang Alveolar Tikus Sprague dawley*. e-Jurnal Pustaka Kesehatan, vol. 4(1) : 61-67
- Rodrigues, Moacyr Tadeu Vicente., Cardoso, Camila Lopes., Carvalho, Paulo Sérgio Perri de., dkk. 2010. *Experimental Alveolitis In Rats: Microbiological, Acute Phase Response And Histometric Characterization Of Delayed Alveolar Healing*. Journal Of Applied Oral Science. Vol 19(3): 260-268.
- Rumondang, Meutia., Kusriani, Dewi., Fachriyah, Enny. 2013. *Isolasi, Identifikasi Dan Uji Antibakteri Senyawa Triterpenoid Dari Ekstrak n-Heksana Daun Tempuyung (Sonchus arvensis L.)*. Chem Info, Vol 1, No 1 : 156 – 163.
- Sa'adah, Hayatus., Nurhasnawati, Henny. 2015. *Perbandingan Pelarut Etanol Dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (Eleutherine Americana Merr) Menggunakan Metode Maserasi*. Jurnal Ilmiah Manuntung vol 1(2) : 149-153.
- Salim, Sherman. Rostiny. Kuntjoro, Mefina. 2015. *Efek Kombinasi Spirulina Kitosan Untuk Preservasi Soket Terhadap Osteoblas, Osteoklas Dan Kepadatan Kolagen*. Dentika Dental Journal, Vol 18, No. 3: 225-231.
- Sharma, Kavita., Ko, Eun Young., Assefa, Awwaris D., Ha, Soyoungh., Lee, Eul Tai., dkk. 2015. *Temperature Dependent Studies on the Total Phenolics, Flavonoids, Antioxidant activities, and Sugar Contents in Six Onion varieties*. Journal of Food and Drugs Analysis 23 Hal. 243 - 252. Elsevier.

- Sheikh, Soheyl., Gupta, Deepak., dkk. 2013. *Role of Topical Drugs in Treatment of Oral Mucosal Diseases : A Literature Review*. The new York State Dental Journal, Hal 58-64
- Shukla, Shipra., Kumar, Anil., Bahadur, Lal. dkk. 2015. *Fatty Acid Composition of Sonchus arvensis L. Roots*. Indian Journal of Natural Products and Resources, Vol. 6(1) : 62-64.
- Spoorn, Michael B., Liby, Karen T., Gribble, Gordon., dkk. 2008. *Synthetic Triterpenoids And Tricyclic-Bis-Enones For Use In Stimulating Bone And Cartilage*. United States Patent Application Hal. 4.
- Sukadana, I Made dan Santi, Sri Rahayu. 2011. *Senyawa Antibakteri Bis (2-Etilheksil) Ester Dan Triterpenoid Dalam Ekstrak n-Heksana Daun Tempuyung (Sonchus Arvensis L.)*. Majalah Obat Tradisional, vol. 16(1) : 1 – 6.
- Sukmayadi, Asep E., Sumiwi, Sri A., Barliana, Melisa I. dkk. 2014. *Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (Sonchus arvensis Linn.)*. IJPST, Vol.1(2) : 65-72.
- Susanti, Ari Diana., Ardiana, Dwi., Gumelar Gita. Dkk. 2012. *Polaritas Pelarut Sebagai Pertimbangan Dalam Pemilihan Pelarut Untuk Ekstraksi Minyak Bekatul Dari Bekatul Varietas Ketan (Oriza Sativa Glatinosa)*. Simposium Nasional RAPI XI FT UMS hal 8-14.
- Susanti, N.M.P., Budiman, I.N., Warditiani, N.K. 2014. *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 90% Daun Katuk (Sauropus androgynus (L.) Merr.)*. Jurnal Farmasi Udayana. Vol 3(1) : 83-86.
- Syukur, C., Hernani. 2002. *Budidaya Tanaman Obat Komersial. 91*. Jakarta : Penebar Swadaya

- Teixeira CC., Alikhani M., Sangsuwon C. dkk. 2017. *High Frequency Acceleration: A New Tool for Alveolar Bone Regeneration*. JSM Dent Surg 2(4): 1026.
- Verma, P., Thakur, A.S., Deshmukh, K., dkk. 2010. *Routes Of Drug Administration : Review Article*. International Journal of Pharmaceutical Studies and Research. Vol. 1(1) : 54-59.
- Vieira, Andreia Espindola., Repeke, Carlos Eduardo., Junior, Samuel de Barros Ferreira. 2015. *Intramembranous Bone Healing Process Subsequent to Tooth Extraction in Mice: Micro-Computed Tomography, Histomorphometric and Molecular Characterization*. PLOS ONE (DOI:10.1371/journal.pone.0128021).
- Wei, Lei., Zhang, Wei., Yin, Li. 2015. *Extraction Optimization Of Total Triterpenoids From Jatropha Curcas Leaves Using Response Surface Methodology and Evaluations of Their Antimicrobial and Antioxidant Capacities*. Electronic Journal of Biotechnology 18 : 88–95. Elsevier.
- Widiyati, Eni. 2006. *Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid Dan Uji Aktivitas Biologis Pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu*. Jurnal Gradien Vol 2(1) : 116-122.
- Widyastomo., Wulan, Kartika Andari., Sari, Indah Permata. 2013. *Pengaruh Jus Buah Belimbing Manis (Averrhoa Carambolalinn.) Terhadap Peningkatan Jumlah Fibroblas Pada Soket Tikus Strain Wistar Pasca Ekstraksi Gigi*.
- Wijiyanto, Budy. Damayanti, Primadara. Sitorus, Mira Amaliasari. 2016. *Formulasi Sediaan Nano Herbal Tempuyung (Sonchus arvensis L.) dalam Bentuk Self Nano-Emulsifying Drug*

*Delivery System (SNEDDS)*. Jurnal Sains Farmasi dan Klinis, Vol. 3(1) : 50-53

Winarto, W.P., dan Karyasari. 2004. *Tempuyung Tanaman Penghancur Batu Ginjal*. Jakarta : Agromedia Pustaka. (Hal 2-3).

Wippert, Pia-Maria., Rector, Michael., Wuertz-Kozak, Karin. 2017. *Stress and Alterations in Bones: An interdisciplinary Perspective*. Frontiers in endocrinology, Vol. 8(96) : 1-7

Wo'zniak, Łukasz., Skapska, Sylwia., Marszałek, Krystian. 2015. *Ursolic Acid—A Pentacyclic Triterpenoid with a Wide Spectrum of Pharmacological Activities*. *Molecules* Vol. 20 : 20614–20641. Switzerland : MDPI.

