

**PENGARUH GEL EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*)
TERHADAP EPITELISASI PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA
GINGIVA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) PASCA GINGIVEKTOMI**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Gigi**



Oleh:

Novita Harera Paramadina

NIM 145070401111024

PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

LEMBAR PERSETUJUAN

SKRIPSI

**PENGARUH GEL EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*)
TERHADAP EPITELISASI PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA
GINGIVA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) PASCA GINGIVEKTOMI**



Oleh:

Novita Harera Paramadina

NIM 145070401111024

Menyetujui untuk diuji:

Penguji II / Pembimbing I

Penguji III / Pembimbing II

drg. Nenny Prasetyaningrum, M.Ked
NIK. 200902812922001

drg. Ega Lucida Chandra Kumala, Sp. Perio
NIK. 2013048701181001

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI

PENGARUH GEL EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*)
TERHADAP EPITELISASI PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA
GINGIVA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) PASCA GINGIVEKTOMI

Oleh:

Novita Harera Paramadina
NIM 145070401111024

Telah diuji pada

Hari : Kamis

Tanggal : 22 Maret 2018

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

drg. Diah, Sp.Perio
NIK. 2010037203292001

Penguji II / Pembimbing I

Penguji III / Pembimbing II

drg. Nenny Prasetyaningrum, M.Ked
NIK. 2009028129222001

drg. Ega Lucida Chandra Kumala, Sp. Perio
NIK. 2013048701181001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

drg. R. Setyohadi, MS
NIP. 195802121985031003

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas rahmat, karunia, serta ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Pengaruh Gel Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap Epitelisasi pada Proses Penyembuhan Luka Gingiva Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Gingivektomi”.

Dengan selesainya skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. drg. R. Setyohadi, M.S selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
2. drg. Kartika Andari Wulan, Sp.Pros selaku Kepala Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya
3. drg. Diah, Sp.Perio selaku dosen penguji skripsi yang memberikan saran dan masukan untuk menyempurnakan naskah skripsi penulis.
4. drg. Nenny Prasetyaningrum, M.Ked selaku dosen pembimbing pertama yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan bimbingan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. drg. Ega Lucida Chandra Kumala, Sp. Perio selaku dosen pembimbing kedua yang juga telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan bimbingan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
6. Seluruh dosen dan staff Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya atas segala ilmu dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis.

7. Para analis dan staff laboratorium farmasi, biokimia, dan patologi anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah membantu penelitian sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan lancar.
8. Yang tercinta Papa, Mama dan Kakak yang selalu memberikan doa, motivasi, serta dukugan setiap harinya kepada penulis.
9. Toni Ardiansyah yang setia memberi dukungan dan semangat bagi penulis.
10. Sahabat-sahabatku (Elsavira Askandar, Dena Savira Andriani, Ijma Gruvieta, Amalia Hanum Marissa) yang selalu memberi semangat, bantuan, masukan, dan motivasi bagi penulis.
11. Partner departemen patologi anatomi (Alif Zulis Santi dan Nurrahmawati Fitriyani) yang memberikan semangat dan menjadi partner yang kompak, serta seluruh teman-teman seperjuangan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya angkatan 2014.
12. Semua pihak yang telah mendukung penulis, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat-Nya dan membalas amal kebaikan mereka. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna sehingga segala kritik dan saran membangun penulis terima. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 18 Maret 2018

Penulis,

ABSTRAK

Paramadina, Novita Harera. 2018. **Pengaruh Gel Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap Epitelisasi pada Proses Penyembuhan Luka Gingiva Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Gingivektomi.** Skripsi, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) drg. Nenny Prasetyaningrum, M.Ked. (2) drg. Ega Lucida Chandra Kumala, Sp.Perio

Perawatan yang dilakukan pada hiperplasi gingiva dengan jaringan fibrous adalah gingivektomi. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki kandungan flavonoid, saponin dan tanin yang dapat mempercepat penyembuhan luka. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap epitelisasi pada proses penyembuhan luka gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus putih jantan yang dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol hari ketiga (K3), kelima (K5), dan ketujuh (K7) serta kelompok perlakuan yang diberikan gel ekstrak daun salam sampai hari ketiga (P3), kelima (P5), dan ketujuh (P7). Penelitian ini menggunakan variabel ketebalan epitel dari sediaan dengan pengecatan Haematoxylin Eosin (HE). Analisis data menggunakan uji-T didapatkan hasil yang signifikan hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian gel ekstrak daun salam dalam mempercepat epitelisasi. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) berpengaruh mempercepat epitelisasi pada luka pasca gingivektomi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan ketebalan epitel tertinggi pada kelompok perlakuan hari ketujuh (P7).

Kata Kunci : Gel ekstrak daun salam, Epitel, Gingivektomi

ABSTRACT

Paramadina, Novita Harera. 2018. **The Effect of Bay Leaf (*Syzygium polyanthum*) Extract Gel to Epithelialization on Healing Process of Gingival Wound of White Rat (*Rattus norvegicus*) Post-Gingivectomy**. Final Assignment, Dentistry Undergraduate Program Faculty of Dentistry Brawijaya University. Supervisors: (1) drg. Nenny Prasetyaningrum, M.Ked. (2) drg. Ega Lucida Chandra Kumala, Sp.Perio.

Treatment of gingival hyperplasia with fibrous tissue is gingivectomy.. Bay leaf (*Syzygium polyanthum*) contain flavonoids, saponins and tannins that can accelerate wound healing. The purpose of this research is to know the effect of bay leaf (*Syzygium polyanthum*) extract gel to epithelialization on healing process of gingival wound of white rat (*Rattus norvegicus*) post-gingivectomy. This study used 24 male white rats divided into 6 groups, namely the third day control group (K3), fifth (K5), and seventh (K7) and the treatment group given gel extract of bay leaf until the third day (P3), fifth (P5), and the seventh (P7). This study used variables of epithelial thickness of the preparations with Haematoxylin Eosin (HE). Data analysis using unpaired T-test showed that there was an effect of gel in accelerating epithelialization. The conclusion of this research is giving gel extract of bay leaf (*Syzygium polyanthum*) increase epithelial thickness in wound post gingivectomy in white rat (*Rattus norvegicus*) with highest epithelial thickness in treatment group of seventh day (P7).

Key Word : Extract Gel of Bay Leaf, Epithelial, Gingivectomy

DAFTAR ISI

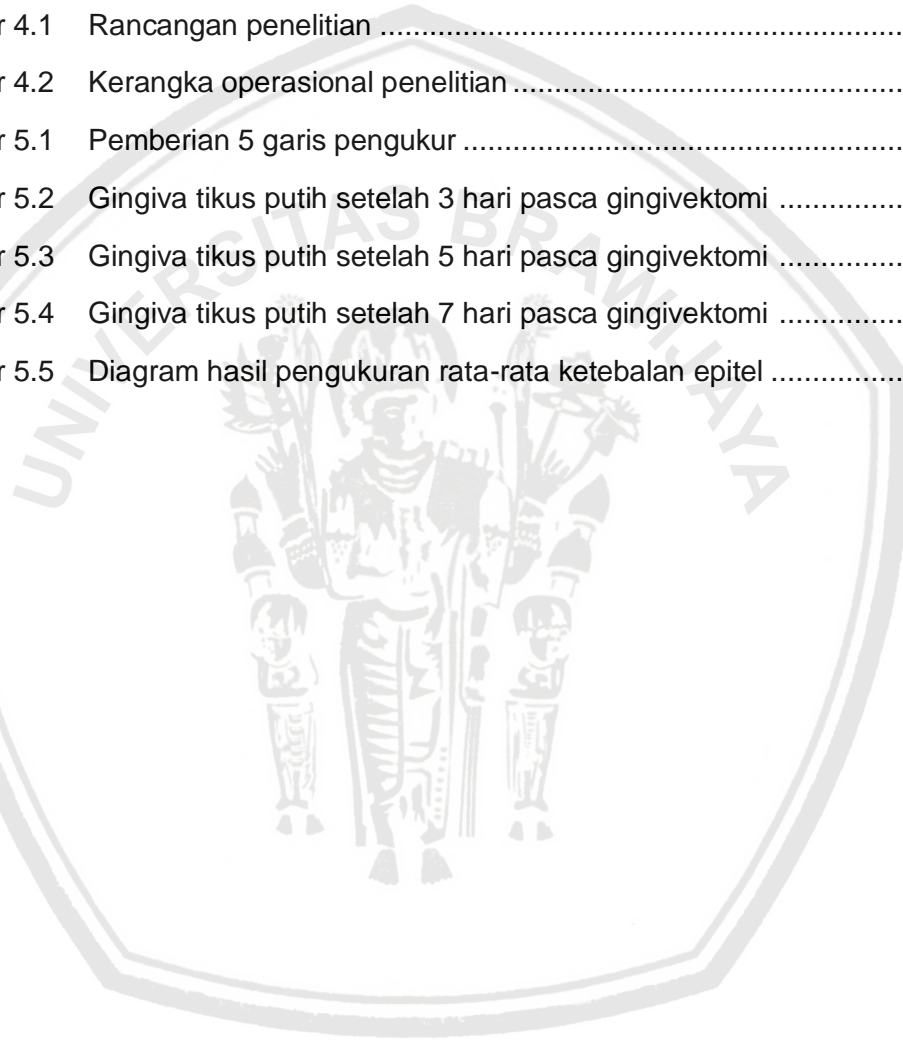
	Halaman
Judul.....	i
Lembar Persetujuan	ii
Lembar Pengesahan.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak	vi
<i>Abstract</i>	vii
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Tabel.....	xii
Daftar Lampiran.....	xiii
Daftar Singkatan.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	3
1.3.1 Tujuan umum	3
1.3.2 Tujuan khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademik	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
1.4.3 Bagi Peneliti	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Gingiva	5
2.2 Pembesaran Gingiva	6
2.3 Gingivektomi.....	7
2.3.1 Definisi Gingivektomi	7
2.3.2 Kelebihan dan Kelemahan Gingivektomi.....	7
2.3.3 Indikasi dan Kontraindikasi Gingivektomi	8
2.3.4 Prosedur Gingivektomi.....	9

2.4 Penyembuhan Luka.....	9
2.5.1 Fase Hemostatis dan Inflamasi.....	10
2.5.2 Fase Proliferasi.....	11
2.5.3 Fase Pematangan / <i>Remodelling</i>	13
2.5.4 Penyembuhan Luka Pasca Gingivektomi.....	13
2.5 Epitel.....	14
2.6 Daun Salam.....	15
2.6.1 Klasifikasi.....	15
2.6.2 Ekologi dan Budidaya.....	16
2.6.3 Morfologi.....	17
2.6.4 Kandungan Kimia Daun Salam.....	18
2.7 Sediaan Gel.....	20
2.8 Ekstrak.....	22
2.8.1 Metode Ekstraksi.....	23
2.9 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	25
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	27
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	27
3.2 Hipotesis Penelitian.....	29
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	30
4.1 Rancangan Penelitian.....	30
4.2 Sampel.....	31
4.3 Variabel Penelitian.....	32
4.3.1 Variabel terganggu.....	32
4.3.2 Variabel bebas.....	32
4.3.3 Variabel kontrol.....	32
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	32
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	33
4.5.1 Perawatan dan Pembuatan Makanan Hewan Coba.....	33
4.5.2 Prosedur Gingivektomi.....	33
4.5.3 Penghitung Luas Penampang.....	33
4.5.4 Ekstrak Daun Salam.....	33
4.5.5 Gel Ekstrak Daun Salam.....	34
4.5.6 Pembedahan Tikus.....	34

4.5.7	Pembuatan Preparat Jaringan.....	34
4.5.8	Pengukuran Epitelisasi.....	34
4.6	Definisi Operasional.....	35
4.6.1	Gel Daun Salam.....	35
4.6.2	Pengukuran Epitelisasi.....	35
4.6.3	Gingivektomi	36
4.7	Prosedur Penelitian	36
4.7.1	Alur Penelitian	36
4.7.2	Pembuatan Gel Daun Salam.....	36
4.7.3	Tindakan Gingivektomi.....	38
4.7.4	Pengaplikasian Gel Ekstrak Daun Salam	39
4.7.5	Pembedahan Hewan Coba	39
4.7.6	Sanitasi Hewan Coba.....	40
4.7.7	Pembuatan Preparat dan Pengamatan Histologi.....	40
4.7.8	Pengukuran Epitelisasi dan Presentase Penyembuhan Luka...	43
4.7.9	Kerangka Operasional Penelitian	44
4.8	Analisis Data.....	45
BAB 5	HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA.....	46
5.1	Hasil Penelitian.....	46
5.2	Analisis Data.....	50
5.2.1	Uji Normalitas.....	50
5.2.2	Uji-T Tidak Berpasangan.....	51
5.2.3	Uji Korelasi <i>Pearson</i> dan Uji Regresi.....	53
BAB 6	PEMBAHASAN.....	55
BAB 7	PENUTUP	61
7.1	Kesimpulan.....	61
7.2	Saran.....	61
DAFTAR PUSTAKA.....		63
LAMPIRAN		67

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Gambaran histologi perbesaran 400x dengan pewarnaan <i>HE</i> 15
Gambar 2.2	Daun salam..... 17
Gambar 2.5	Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) 26
Gambar 3.1	Kerangka konsep penelitian 27
Gambar 4.1	Rancangan penelitian 30
Gambar 4.2	Kerangka operasional penelitian 44
Gambar 5.1	Pemberian 5 garis pengukur 47
Gambar 5.2	Gingiva tikus putih setelah 3 hari pasca gingivektomi 47
Gambar 5.3	Gingiva tikus putih setelah 5 hari pasca gingivektomi 48
Gambar 5.4	Gingiva tikus putih setelah 7 hari pasca gingivektomi 48
Gambar 5.5	Diagram hasil pengukuran rata-rata ketebalan epitel 50



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan daun salam.....	18
Tabel 5.1 Hasil pengukuran ketebalan epitel.....	49
Tabel 5.2 Uji normalitas.....	51
Tabel 5.3 Uji-T Tidak Berpasangan.....	51
Tabel 5.4 Uji korelasi <i>Pearson</i> kelompok perlakuan.....	53
Tabel 5.5 Uji regresi kelompok perlakuan.....	53



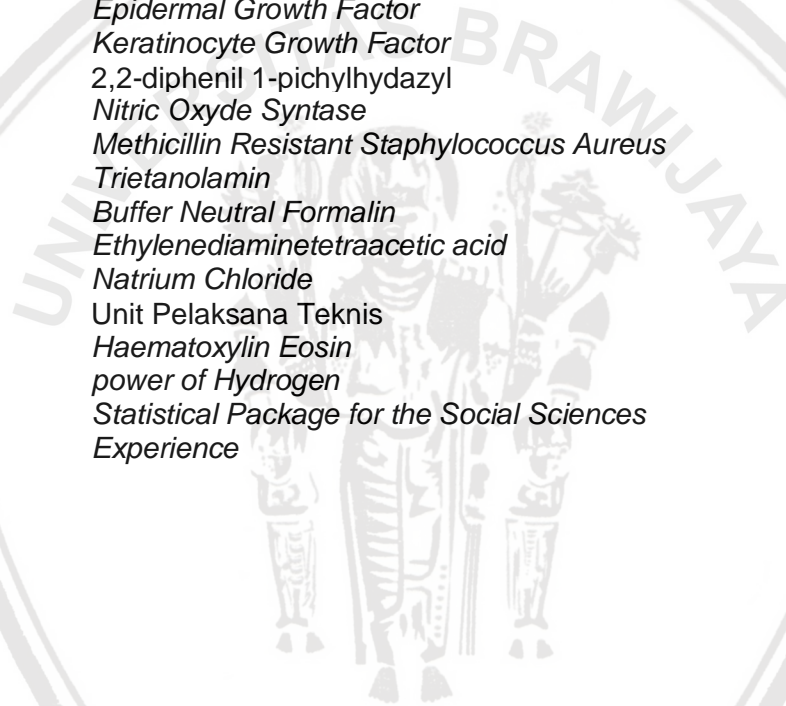
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Pernyataan Keaslian Tulisan.....	67
Lampiran 2	Keterangan Kelaikan Etik.....	68
Lampiran 3	Surat Determinasi Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>).....	69
Lampiran 4	Dokumentasi Penelitian.....	70
Lampiran 5	Hasil Uji Statistik.....	72



DAFTAR SINGKATAN

PDGF	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
TGF- α	<i>Transforming Growth Factor- α</i>
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor- β</i>
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
MMP	<i>Matriks Metaloproteinase</i>
CD4+	<i>Cluster of Differentiation 4+</i>
Th1	<i>T helper type 1</i>
SMAF	<i>Specific Makrofag Activating Factor</i>
VEGF	<i>Vascula Endothelial Growth Factor</i>
ECM	<i>Extracellular Matriks</i>
IL-1	<i>Interleukin-1</i>
IL-2	<i>Interleukin-2</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor-α</i>
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>
KGF	<i>Keratinocyte Growth Factor</i>
DPPH	<i>2,2-diphenil 1-pichylhydazyl</i>
NOC	<i>Nitric Oxyde Syntase</i>
MRSA	<i>Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus</i>
TEA	<i>Trietanolamin</i>
BNF	<i>Buffer Neutral Formalin</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
NaCl	<i>Natrium Chloride</i>
UPT	<i>Unit Pelaksana Teknis</i>
HE	<i>Haematoxylin Eosin</i>
pH	<i>power of Hydrogen</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
XP	<i>Experience</i>



ABSTRAK

Paramadina, Novita Harera. 2018. **Pengaruh Gel Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap Epitelisasi pada Proses Penyembuhan Luka Gingiva Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Gingivektomi**. Skripsi, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) drg. Nenny Prasetyaningrum, M.Ked. (2) drg. Ega Lucida Chandra Kumala, Sp.Perio

Perawatan yang dilakukan pada hiperplasi gingiva dengan jaringan fibrous adalah gingivektomi. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki kandungan flavonoid, saponin dan tanin yang dapat mempercepat penyembuhan luka. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap epitelisasi pada proses penyembuhan luka gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus putih jantan yang dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol hari ketiga (K3), kelima (K5), dan ketujuh (K7) serta kelompok perlakuan yang diberikan gel ekstrak daun salam sampai hari ketiga (P3), kelima (P5), dan ketujuh (P7). Penelitian ini menggunakan variabel ketebalan epitel dari sediaan dengan pengecatan Haematoxylin Eosin (HE). Analisis data menggunakan uji-T didapatkan hasil yang signifikan hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian gel ekstrak daun salam dalam mempercepat epitelisasi. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) berpengaruh mempercepat epitelisasi pada luka pasca gingivektomi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan ketebalan epitel tertinggi pada kelompok perlakuan hari ketujuh (P7).

Kata Kunci : Gel ekstrak daun salam, Epitel, Gingivektomi

ABSTRACT

Paramadina, Novita Harera. 2018. **The Effect of Bay Leaf (*Syzygium polyanthum*) Extract Gel to Epithelialization on Healing Process of Gingival Wound of White Rat (*Rattus norvegicus*) Post-Gingivectomy**. Final Assignment, Dentistry Undergraduate Program Faculty of Dentistry Brawijaya University. Supervisors: (1) drg. Nenny Prasetyaningrum, M.Ked. (2) drg. Ega Lucida Chandra Kumala, Sp.Perio.

Treatment of gingival hyperplasia with fibrous tissue is gingivectomy.. Bay leaf (*Syzygium polyanthum*) contain flavonoids, saponins and tannins that can accelerate wound healing. The purpose of this research is to know the effect of bay leaf (*Syzygium polyanthum*) extract gel to epithelialization on healing process of gingival wound of white rat (*Rattus norvegicus*) post-gingivectomy. This study used 24 male white rats divided into 6 groups, namely the third day control group (K3), fifth (K5), and seventh (K7) and the treatment group given gel extract of bay leaf until the third day (P3), fifth (P5), and the seventh (P7). This study used variables of epithelial thickness of the preparations with Haematoxylin Eosin (HE). Data analysis using unpaired T-test showed that there was an effect of gel in accelerating epithelialization. The conclusion of this research is giving gel extract of bay leaf (*Syzygium polyanthum*) increase epithelial thickness in wound post gingivectomy in white rat (*Rattus norvegicus*) with highest epithelial thickness in treatment group of seventh day (P7).

Key Word : Extract Gel of Bay Leaf, Epithelial, Gingivectomy

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Hiperplasi gingiva merupakan salah satu tanda adanya kelainan gingiva. Kondisi ini dapat terjadi karena adanya akumulasi plak. Tanda klinis yang muncul yaitu gingiva membesar, halus, mengkilat, konsistensi lunak, warna merah dan pinggirannya tampak membulat. Hiperplasi gingiva dapat menutupi deposit pada permukaan gigi, dan mengganggu akses pengambilan deposit sehingga memerlukan perawatan secara bedah yaitu gingivektomi (Newman, 2015).

Gingivektomi merupakan salah satu fase bedah dalam terapi periodontal untuk eliminasi poket jaringan gingiva. Tujuan gingivektomi adalah eliminasi poket untuk mendapatkan akses yang baik ke akar dan membentuk kembali kontur fisiologis gingiva (Cohen, 2009). Gingivektomi dapat menciptakan lingkungan yang baik untuk penyembuhan gingiva dan pemulihan kontur gingiva secara fisiologis (Newman, 2015).

Secara fisiologis, tubuh manusia akan merespons adanya perlukaan termasuk luka pasca gingivektomi dengan proses penyembuhan, yaitu suatu usaha untuk memperbaiki kerusakan jaringan yang terjadi (Kumar and Sonowal, 2015). Penyembuhan luka merupakan proses kompleks dan dinamis yang terdiri dari tiga fase, yaitu inflamasi, proliferasi, dan remodeling jaringan. Fase proliferasi dimulai untuk memperbaiki kerusakan dimulai pada hari ketiga setelah cedera sebagai proses kompleks meliputi angiogenesis, deposisi kolagen, dan reepitelisasi (Young and Mc Naught, 2011; Neck *et al.*, 2012).

Reepitelisasi adalah paramater penting dalam keberhasilan penyembuhan luka pasca gingivektomi, semakin cepat proses reepitelisasi maka penyembuhan luka akan semakin cepat. Salah satu stimulus awal untuk proliferasi dan migrasi sel-sel epidermis adalah sitokin yang dilepaskan karena aktivasi makrofag. Sedangkan *growth factor* seperti *Fibroblast Growth Factor* (FGF) yang dilepaskan fibroblas berperan dalam meningkatkan migrasi dan proliferasi selama proses penyembuhan luka. *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) memiliki peran untuk menstimulasi angiogenesis dan reepitelisasi (Pastar *et al.*, 2014).

Setelah 12–24 jam, sel epitel pinggiran luka mulai migrasi ke permukaan luka. Migrasi epitel dan kontraksi luka akan meningkat pada hari ke-2 dan ke-3. Epitelisasi permukaan luka berlangsung setelah hari ke-5 sampai hari ke-14. Vasodilatasi mulai berkurang setelah hari keempat penyembuhan dan tampak hampir normal pada hari keenam belas (Newman, 2015).

Untuk mempercepat proses penyembuhan luka pasca gingivektomi, maka dalam penelitian ini digunakan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang akan diaplikasikan pada area yang dilakukan gingivektomi. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan salah satu tanaman dari Indonesia yang potensial digunakan sebagai bahan baku obat herbal (Joshi dkk, 2012). Daun salam memiliki kandungan kimia seperti flavonoid, saponin dan tanin, dengan kandungan tertinggi yang dimiliki yaitu flavonoid (Wicaksono, 2013). Flavonoid dapat menginduksi produksi *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β), yang berperan dalam migrasi sel epitel (Leong *et al.*, 2012). Saponin menstimulasi makrofag untuk memproduksi IL-1 yang berperan dalam proliferasi dan migrasi sel-sel epidermis termasuk keratinosit yang berperan dalam re-epitelisasi (Xiong

et al., 2012). Tanin mempunyai peran sebagai antimikroba dan mempercepat pembentukan pembuluh darah dalam proses penyembuhan luka (Lai, 2011).

Berdasarkan dari uraian di atas, penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak daun salam dalam mempercepat epitelisasi gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) dalam proses penyembuhan luka pasca gingivektomi.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, permasalahan yang akan dibahas dalam penelitian ini adalah “Apakah gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) berpengaruh dalam mempercepat epitelisasi pada proses penyembuhan luka gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi?”

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dalam mempercepat epitelisasi pada proses penyembuhan luka gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengukur dan membandingkan epitelisasi gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi yang tidak diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada hari ke-3, 5, dan 7.
2. Mengukur dan membandingkan epitelisasi gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi pada kelompok perlakuan yang diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada hari ke-3, 5, dan 7.

3. Menganalisis perbedaan epitelisasi gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi pada kelompok kontrol yang tidak diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan kelompok perlakuan yang diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada hari ke-3, 5, dan 7

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan pengetahuan dalam bidang kedokteran gigi mengenai penyembuhan luka pasca gingivektomi.

1.4.2. Manfaat Praktis

1. Menambah informasi tentang manfaat daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai obat herbal dalam penyembuhan luka pasca gingivektomi.
2. Sebagai dasar teori dalam pengembangan obat di bidang periodontik dengan memanfaatkan daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai bahan alami yang dapat berpengaruh pada epitelisasi dalam proses penyembuhan luka pasca gingivektomi.

1.4.3. Bagi Peneliti

1. Sebagai wadah untuk mengaplikasikan ilmu serta melatih berfikir kritis.
2. Mengetahui pengaruh gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap epitelisasi gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Gingiva

Gingiva adalah jaringan lunak atau mukosa terkeratinisasi yang melapisi seluruh tulang alveolar sampai leher gigi. Gambaran normal gingiva orang dewasa yaitu gingiva menutupi akar dan tulang alveolar dari korona ke *cementoenamel junction*. Kedalaman sulkus gingiva yang normal adalah 2-3 mm (Clerehugh *et al.*, 2016).

Anatomi gingiva terdiri dari *marginal*, *attached*, dan area interdental. Marginal gingiva atau *free* gingiva adalah bagian gingiva yang tidak mengalami perlekatan pada tulang. Marginal gingiva mengelilingi gigi dan menjadi dinding bagian atas dari sulkus. *Attached* gingiva merupakan bagian di bawah marginal gingiva yang menempel pada tulang dan merupakan batas antara *free* gingiva dan *mucogingival junction*. *Interdental* gingiva adalah bagian interproksimal gigi atau gingiva yang berada diantara dua gigi yang saling berkontak (Chandra, 2010).

Epitel gingiva terdiri atas epitel *oral*, epitel sulkus *oral*, dan *junctional epithelium*. Epitel *oral* adalah epitel berlapis pipih *orthokeratinized*, yaitu sel yang telah kehilangan inti sel dan mengalami keratinisasi yang berfungsi sebagai barier terhadap bakteri patogen. Epitel sulkus *oral* merupakan kumpulan sel terkeratinisasi yang masih memiliki inti beberapa diantaranya. *Junctional epithelium* merupakan gingiva yang menjadi perlekatannya terhadap tulang

dengan cara perlekatan hemidesmosomal dan perlekata melalui basal lamina yang dihasilkan oleh sel epitel (Clerehugh *et al.*, 2016)

2.2. Pembesaran gingiva

Gingival enlargement adalah pembesaran pada gingiva yang menyebabkan gangguan fungsional dan estetik, selama ini pembesaran gingiva yang diakibatkan hiperplasi gingiva menjadi penyebab umum dilakukannya prosedur gingivektomi. Adanya pembesaran gingiva dapat menyebabkan perubahan posisi gigi, deformitas rahang, dan diastema. Rasa sakit akan muncul jika gingiva tumbuh melebihi garis oklusi sehingga menimbulkan trauma apabila melakukan mastikasi (Arvind *et al.*, 2010).

Pembesaran gingiva dapat disebabkan bakteri, *dental plaque* yang tidak dibersihkan serta beberapa macam obat. Etiologi Pembesaran gingiva yaitu karena obat, herediter, hormone, inflamasi, sistemik, dan idiopatik (Kumar dan Sonowal, 2015). Klasifikasi pembesaran gingiva berdasarkan etiologi antara lain, obat-obatan seperti *anticonvulsant*, *immunosuppressants*, dan *calcium blockers*, *inflammatory enlargement*, *enlargement associated with systemic disease or conditions*, *neoplastic enlargement* dan *false enlargement* (Newman, 2015).

Pembesaran gingiva dimulai dari interdental dan margin gingiva. Pada tahap awal terdapat tonjolan di sekitar gigi. Tonjolan ini dapat meningkat ukurannya sampai menutupi mahkota gigi. Kriteria dari *gingival enlargement* berdasarkan lokasi dan distribusi antara lain, *localized* hanya terbatas pada satu gigi atau kelompok gigi, *generalized* meliputi seluruh gingiva mulut, *marginal* yaitu pada margin gingiva, *diffuse* meliputi margin, *attached* serta papil gingiva, dan *discrete* (Newman, 2015).

2.3. Gingivektomi

2.3.1. Definisi Gingivektomi

Gingivektomi adalah tindakan eksisi dinding poket dengan tujuan mendapatkan visibilitas dan akses dalam pembersihan kalkulus dengan sempurna, menghaluskan akar, dan merestorasi kontur gingiva yang berubah secara fisiologis (Newman, 2015). Gingivoplasti adalah pembentukan kembali jaringan gingiva untuk mencapai kontur fisiologis yang berangsur naik pada jaringan interproksimal dan penurunan pada permukaan labial dan lingual. Pada gingivoplasti jaringan menjadi tipis untuk menghasilkan kontur yang harmonis dengan celah interproksimal agar makanan mudah lewat. Gingivektomi dan gingivoplasti biasanya dilakukan bersamaan (Cohen, 2009).

2.3.2. Kelebihan dan Kelemahan Gingivektomi

Kelebihan gingivektomi menurut Cohen (2009) yaitu :

- a. *Predictability*
- b. Teknik yang sederhana
- c. Mudah dalam melakukan eliminasi poket
- d. Akses yang baik
- e. Hasil estetika yang baik

Kelemahan gingivektomi menurut Cohen (2009) yaitu :

- a. Pendarahan pasca tindakan
- b. Kehilangan gingival berkeratin
- c. Tidak mampu mengoreksi adanya kerusakan tulang

2.3.3. Indikasi dan Kontraindikasi Gingivektomi

Indikasi gingivektomi menurut Cohen (2009) yaitu:

- a. *Suprabony pocket*
- b. Jaringan keratin yang adekuat
- c. Poket dengan kedalaman lebih dari 3 mm
- d. Kehilangan tulang horizontal yang tidak membutuhkan bedah tulang
- e. Pembesaran jaringan gingiva atau gingival enlargement
- f. Daerah dengan akses yang terbatas
- g. Topografi gingiva yang tidak estetik dan asimetri
- h. Membebaskan jaringan lunak pada gigi yang akan erupsi
- i. Menyediakan kebutuhan restoratif
- j. Membentuk kontur fisiologis gingiva pasca *acute necrotizing gingivitis* *ulseratif* dan prosedur bedah flap

Kontraindikasi gingivektomi menurut Cohen (2009) yaitu :

- a. Jaringan keratin yang tidak adekuat
- b. Poket yang meluas hingga ke mukogingival line
- c. Membutuhkan prosedur reseksi tulang
- d. Jaringan inflamasi atau edema
- e. Bagian palatal yang dangkal
- f. *Infrabony pockets*
- g. Pasien dengan kebersihan mulut yang buruk

2.3.4. Prosedur Gingivektomi

Prosedur gingivektomi menurut Newman (2015) adalah sebagai berikut :

- a. Menggunakan *periodontal probe* untuk mengukur dasar poket di setiap permukaan gigi dan membuat *bleeding point* dengan *pocket marker*.
- b. Melakukan insisi menggunakan *periodontal knives* untuk insisi daerah *facial* dan lingual. *Orban periodontal knives* digunakan untuk daerah interdental gigi. *Blade* dan mata blade yang digunakan nomor 12 serta 15. Insisi dimulai dari daerah apikal ke *bleeding point*. Lakukan insisi sedekat mungkin dengan tulang alveolar tapi boleh terekspos. Insisi gingiva dengan bevel 45⁰ dari permukaan gigi untuk membentuk kembali kontur normal gingiva. Membentuk bevel yang kurang tepat dapat mempengaruhi bentuk fisiologis kontur gingiva serta dapat terjadi rekurensi poket.
- c. Eksisi jaringan setelah insisi sudah dipisahkan dari seluruh dinding poket dari jaringan di bawahnya terutama dekat dengan permukaan akar.
- d. Bersihkan sisa kalkulus dan nekrotik sementum hingga halus dan bersih.
- e. Aplikasi area gingivektomi menggunakan *periodontal pack* untuk menutupi luka.

2.4. Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan terbagi menjadi dua cara yaitu regenerasi dan memperbaiki (*repair*). Regenerasi adalah proses perbaikan jaringan yang mengembalikan struktur asal jaringan dengan sempurna dengan terjadinya proliferasi untuk menggantikan jaringan yang hilang, sedangkan memperbaiki

(*repair*) adalah kombinasi dari regenerasi dan pembentukan jaringan parut akibat deposisi jaringan kolagen (Robbins *et al.*, 2010).

Proses penyembuhan luka adalah proses penggantian dan perbaikan fungsi jaringan yang rusak. Sifat penyembuhan pada semua luka bervariasi, bergantung pada lokasi, keparahan, dan luas cedera (Hardjito *et al.*, 2012). Dalam proses penyembuhan luka, terjadi tiga fase yaitu, hemostasis dan inflamasi, proliferasi, dan remodeling jaringan. Ketiga fase tersebut berbeda satu dengan yang lain namun tumpang tindih dalam satu waktu (Neck *et al.*, 2012).

2.4.1. Fase Hemostatis dan Inflamasi

Hemostasis dan inflamasi terjadi segera setelah luka terbentuk. Tujuannya adalah untuk mencegah perdarahan dan keluarnya cairan yang terlalu banyak, serta sebagai *barrier* terhadap invasi mikroorganisme. Hemostasis didapatkan melalui vasokonstriksi dan pembekuan darah. Proses pembekuan darah bermula dari terbentuknya *platelet plug* yang diikuti dengan *fibrin clot*, yang menyediakan matriks sementara untuk migrasi sel. Platelet juga menghasilkan beberapa *growth factor* dan sitokin, diantaranya *fibroblast growth factor* (FGF), *epidermal growth factor* (EGF), *platelet derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor* BETA (TGF- β), dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Faktor-faktor ini berada di *fibrin clot* dan berfungsi sebagai promotor proses penyembuhan luka dengan merekrut sel-sel inflamasi ke arah terjadinya luka dan menginisiasi angiogenesis. Setelah perdarahan dapat dikontrol, dimulailah fase inflamasi (Neck *et al.*, 2012).

Fase inflamasi merupakan awal respon hari perlindungan tubuh terhadap adanya luka. Inflamasi membatasi area luka dan menjadi *barrier* imun yang melindungi tubuh dari kemungkinan infeksi yang muncul selanjutnya dan

menghalau zat asing berbahaya yang dapat masuk ke dalam tubuh dengan adanya fagosit dan leukosit (Sinno dan Satya, 2013).

Leukosit pertama yang akan muncul adalah neutrofil. Neutrofil bertugas untuk memfagosit bakteri dan zat-zat asing yang masuk ke dalam luka. Neutrofil muncul pada 24-36 jam pasca timbulnya luka yang dimediasi oleh berbagai faktor mediator seperti TGF- β , komplemen seperti C3a, C5a, dan *formylmethionyl peptide* yang muncul akibat bakteri. Apoptosis akan terjadi pada neutrofil setelah bakteri dieliminasi. Pada 48-72 jam pasca luka, makrofag akan muncul untuk melanjutkan fagositosis (Velner *et al.*, 2009).

Makrofag adalah monosit yang mengalami perubahan fenotip disepanjang perjalanan menuju area luka. Mediator kemotaksis makrofag menuju area luka adalah *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β), *leukotriane B4*, dan platelet faktor 4. Masa hidup makrofag pada area luka lebih panjang daripada neutrofil (Velner *et al.*, 2009). Makrofag memiliki peranan penting dalam proses penyembuhan luka yaitu memfagositosis bakteri, mensekresi enzim dan sitokin yang berperan dalam proliferasi jaringan pada fase selanjutnya, enzim kolagenase untuk mendebridemen luka, interleukin dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF) yang berfungsi untuk menstimulasi fibroblas dan angiogenesis, dan *Transforming Growth Factor* (TGF) untuk menstimulasi keratinosis (Sinno dan Satya, 2013).

2.4.2. Fase Proliferasi

Fase proliferasi dimulai pada hari ketiga setelah cedera dan berlangsung selama sekitar 2-4 minggu. Fase ini ditandai dengan proliferasi dan migrasi epitel ke matriks sementara (reepitelisasi), migrasi fibroblast, dan pembentukan jaringan granulasi. Pada tahap lanjutan dari fase proliferasi ini, matriks

fibrin/fibronectin provisional akan digantikan oleh jaringan granulasi yang baru (Neck *et al.*, 2012).

Salah satu tahap yang penting dalam fase proliferasi adalah pembentukan mikrosirkulasi lokal (angiogenesis) yang berperan dalam memasok oksigen dan nutrisi yang penting untuk kebutuhan metabolik dalam regenerasi jaringan. Pada saat yang sama fibroblas mensintesis ECM (*extracellular matrix*) yang baru dan *immature collage* (kolagen tipe III). Serabut kolagen akan mendukung pembuluh darah yang baru terbentuk (Peterson, 2010).

Pada permukaan luka, epitelium baru akan terbentuk untuk menutup luka. Sel-sel epidermal berasal dari tepi luka dan mulai menutupi luka di atas membran basalis. Proses reepitelisasi lebih cepat pada luka mukosa oral daripada kulit. Pada luka mukosa, sel epitel bermigrasi langsung ke permukaan dari *clot fibrin* di bawah eksudat kering dari dermis. Reepitelisasi difasilitasi jaringan ikat kontraktile yang mengerut ukurannya untuk menyatukan batas luka. Kontraksi luka tergantung dari proporsi fibroblas yang berubah menjadi miofibroblas dan menghasilkan tekanan kontraksi yang kuat (Peterson, 2010).

Reepitelisasi dari area luka dimulai dalam beberapa jam setelah cedera tertutupi selapis sel lengkap dan menempel pada matriks di bawahnya. Sel epitel pada tepi luka mengalami perubahan fenotipik dan mulai bermigrasi ke daerah luka. Sel epitel mengarahkan migrasi ujung proliferasi, pematangan dan akhirnya mengembalikan fungsi barrier dari epitel. Stimulus awal untuk proliferasi dan migrasi sel-sel epitel termasuk EGF, IL-1 dan TNF- α , yang dilepaskan karena aktivasi trombosit dan atau makrofag. *Keratinocyte Growth Factors* (KGF) dan IL-6, yang dilepaskan oleh fibroblas, berperan dalam menarik keratinosit

yang berdekatan untuk bermigrasi, proliferasi, dan berdiferensiasi menjadi epitel (Neck *et al.*, 2012).

2.4.3. Fase Maturasi / Remodelling

Fase maturasi ditandai dengan adanya pematangan epitelisasi, pematangan angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi, dan deposisi kolagen. Mekanisme epitelisasi yang terjadi yaitu dengan proliferasi sel-sel epitel di bawah luka, sel-sel epitel bermigrasi dari bawah luka ke atas kemudian membentuk epidermis normal kembali. Proses ini membutuhkan waktu selama 3 hari. Pada fase ini makrofag berfungsi untuk terus mensekresi *growth factor* dan fibroblas yang berfungsi untuk mensintesis, mendeposisi, dan remodelling matriks ekstraseluler (Sinno dan Satya, 2013).

Fase maturasi yang telah selesai ditandai oleh terbentuknya jaringan parut bahkan terkadang keloid pada bekas luka yang telah sembuh. Hal ini terjadi karena penyembuhan luka terjadi secara *repair* bukan terjadi secara regenerasi. Fase maturasi terjadi pada 14-20 hari pasca terjadinya luka (Clerehugh, 2016).

2.4.4. Penyembuhan Luka Pasca Gingivektomi

Pembentukan bekuan darah pada permukaan merupakan respon awal setelah gingivektomi. Jaringan di bawahnya akan mengalami inflamasi akut dengan nekrosis. Bekuan darah akan digantikan oleh jaringan granulasi. Dalam 24 jam terjadi pembentukan sel jaringan ikat baru di bawah jaringan yang radang dan nekrosis. Pada hari ketiga terlihat sel fibroblas. Setelah 12-24 jam sel epithelial pada tepi luka akan migrasi menutupi jaringan granulasi dan mencapai puncak setelah 24-36 jam. Fase proliferasi dimulai pada hari ketiga setelah cedera dan berlangsung 2-4 minggu. Minggu keempat setelah gingivektomi, keratinisasi lebih sedikit dibandingkan dengan sebelum gingivektomi. Perbaikan

epitel yang sempurna memerlukan waktu sekitar 1 bulan, sedangkan vasodilatasi dan vaskularisasi mulai berkurang setelah hari ke-4 masa penyembuhan dan tampak hampir normal pada ke-16. Perbaikan sempurna dari jaringan ikat memerlukan sekitar 7 minggu. Aliran cairan klevikular gingiva akan meningkat setelah gingivektomi dan kembali normal sejalan dengan proses penyembuhan (Newman, 2015).

2.5. Epitel

Jaringan epitelium (*epithelial tissue*) terdiri dari lapisan-lapisan sel yang tersusun dengan rapat. Pada epitelium yang banyak, sel-sel tersebut dipatri menjadi satu oleh *tight junction* (penambungan ketat). Permukaan bebas pada epitelium terpapar langsung ke udara atau cairan, sementara sel-sel yang berada di bagian dasar melekat pada membran basal (Campbell *et al.*, 2010).

Sel-sel epitel mukosa mulut tersusun dari 4 lapisan secara berurutan dari yang paling dalam ke permukaan yaitu lapisan geminativum/basalis, lapisan spinosum, lapisan granulosum, dan lapisan corneum. Stratum basalis mengandung sel-sel induk yang bermitosis secara berkelanjutan dan anak selnya ditransfer ke lapisan yang lebih superfisial. Lapisan ini terdiri dari selapis sel berbentuk kubus yang berbatasan dengan lamina propia. Stratum spinosum memiliki karakteristik sel yang mulai matang dan terdiri dari beberapa lapis sel berbentuk bulat/oval. Stratum granulosum lebih matang dari stratum spinosum dan mengandung granula keratohyalin yang banyak sebagai bakal sel keratin. Lapisan ini terdiri dari beberapa lapis sel yang lebih gepeng. Stratum corneum terdiri dari selapis/ berlapis-lapis sel berbentuk pipih yang tidak berstruktur dan tidak memiliki inti sel (Jones *et al.*, 2013).

Jaringan epitelnya *parakeratinised* (mempunyai lapisan keratin tipis yang beberapa selnya masih memiliki inti sel yang tidak sempurna). Lokasi mukosa penutup pada dasar mulut, permukaan inferior lidah, permukaan dalam bibir dan pipi, palatum molle dan mukosa alveolaris kecuali gingiva. Tipe epitel *nonkeratinised* (tidak memiliki lapisan keratin). Lokasi mukosa khusus pada dorsum lidah, tipe epitelnya *ortokeratinised* (memiliki lapisan keratin yang tebal yang terdiri dari sel-sel yang sudah tidak berinti) (Puspitawati, 2008).



Gambar 2.1. Gambaran histologi perbesaran 400x dengan pewarnaan HE (Puspitawati, 2008).

2.6. Daun Salam

2.6.1. Klasifikasi

Tumbuhan salam dalam nama ilmiah adalah *Syzygium polyanthum*, sedangkan nama lainnya adalah *Eugenia polyantha*. Tanaman salam mempunyai nama berbeda pada tiap daerah, antara lain maselangan, ubar serai (Sumatera), gowok dan manting (Jawa). Dalam bahasa Inggris disebut sebagai *Indonesian bay-leaf* atau *Indonesian laurel* (Dalimartha, 2011). Klasifikasi daun salam menurut Dalimartha (2011) yaitu :

Kingdom	: Plantae
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnollophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Myrtaceae
Genus	: Syzygium
Species	: <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight.) Walp.

2.6.2. Ekologi dan Budidaya

Tumbuhan salam (*Syzygium polyanthum*) telah dikenal luas oleh masyarakat Indonesia. Tumbuhan ini tumbuh di wilayah iklim tropis dan subtropis, termasuk Asia Tenggara dan Cina (Studiawan dan Santosa, 2010). Tumbuhan salam dapat tumbuh di berbagai daerah, baik di dataran maupun pegunungan dengan ketinggian 1800 m di atas permukaan laut pada suhu 22-30°C. Tumbuhan salam membutuhkan intensitas matahari penuh dengan drainase yang baik, serta iklim yang panas dengan curah hujan yang cukup merata. Tumbuhan ini tidak tahan terhadap kekeringan sehingga tidak sesuai bila ditanam pada lokasi dengan musim kemarau panjang (Muafidah, 2009).

Tumbuhan salam memerlukan curah hujan 1500-4500 mm/tahun disertai bulan kering (curah hujan < 60mm/bulan) berturut-turut 2-3 bulan atau tidak boleh lebih dari 3 bulan. Tumbuhan salam mudah mengalami kekeringan, terutama tumbuhan salam muda. Pada tumbuhan salam dewasa, kekurangan air dapat merontokkan bunga yang hampir matang petik (Muafidah, 2009).

2.6.3. Morfologi

Tumbuhan salam dapat mencapai ketinggian 25m, batang berbentuk bulat, permukaan licin, berakar tunggang, dan bertajuk rimbun. Daun salam adalah daun tunggal, letak berhadapan, panjang tangkai daun mencapai 0,5-1 cm. Helai daunnya berbentuk lonjong sampai elips, ujung meruncing, pangkalnya runcing, tepi rata, bertulang menyirip, permukaan atas daun licin berwarna hijau tua, permukaan bawahnya berwarna hijau muda, panjang 5-15 cm, dan lebar 3-8 cm, serta jika diremas berbau harum. Bunga salam majemuk yang keluar dari ujung ranting, warnanya putih, dan berbau harum. Buah salam adalah buah buni, berbentuk bulat dengan diameter 8-9mm, buah muda berwarna hijau, setelah masak berwarna merah gelap, dan rasanya agak sepat. Biji salam berbentuk bulat diameter ± 1 mm dan berwarna cokelat (Dalimartha, 2011).



Gambar 2.2 Daun Salam (Sumono dan Wulan, 2009)

2.6.4. Kandungan Kimia Daun Salam

Berikut adalah kandungan yang terdapat dalam daun salam melalui metode maserasi dan penentuan kualitatif fitokimia (Wicaksono, 2013):

Tabel 2.1 Kandungan Daun Salam

No	Fitokimia	Reagen	Perubahan Warna	Positif (+) atau Negatif
1	Flavonoid	Ekstrak + NaOH 10%	Hijau kecoklatan	+
2	Saponin	Ekstrak + Aquades (dikocok)	Terdapat 2 cm layer	+
6	Tanin	Ekstrak + Aquades + 0,1% FeCl ₃	Coklat kehijauan	+

Kandungan yang terdapat dalam *Syzygium polyanthum* yang berperan sebagai penyembuhan adalah saponin, flavonoid, dan tannin.

a. Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida triterpenoida ataupun glikosida steroida. Glikosida saponin adalah glikosida yang aglikonnya berupa sapogenin. Keberadaan saponin ditandai dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila dikocok menimbulkan buih yang stabil. Saponin sendiri dapat menstimulasi makrofag untuk memproduksi IL-1 yang berperan dalam proliferasi dan migrasi sel-sel epidermis (Xiong *et al.*, 2012). Pada penelitian menunjukkan

saponin dapat mempercepat migrasi sel keratinosit yang berperan dalam proses re-epitelisasi (Kim, 2011).

b. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi $C_6-C_3-C_6$, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid dapat meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Proliferasi limfosit akan mempengaruhi sel CD4+, kemudian menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Sel Th1 yang teraktivasi akan mempengaruhi SMAF (*Specific Makrofag Activating Factor*) sehingga makrofag meningkatkan angka metabolik, motilitas, dan aktivitas fagositosis (Paul, 2009). Flavonoid juga dapat menginduksi produksi TGF- β , yang meregulasi ekspresi maktris ekstraseluler (ECM) dan matriks metaloproteinase (MMP) yang berperan dalam migrasi sel epitel (Leong dan Philips, 2012).

c. Tannin

Tannin adalah suatu senyawa fenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksidan beberapa gugus bersangkutan seperti karboksil untuk membentuk kompleks kuat yang efektif dengan protein dan beberapa makromolekul. Ekstrak tannin diketahui memiliki fungsi sebagai antioksidan dan antibakteri, secara garis besar mekanisme toksisitas tannin dapat merusak membrane sel bakteri sehingga dinding sel mengganggu permeabilitas sel dalam proses penyembuhan, tannin meningkatkan pembentukan pembuluh darah (Lai, 2011).

2.7 Sediaan Gel

a. Definisi Gel

Gel didefinisikan sebagai suatu sistem setengah padat yang terdiri dari suatu dispersi yang tersusun baik dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar dan saling diresapi cairan (Allen, 2011).

Idealnya pemilihan *gelling agent* dalam sediaan farmasi dan kosmetik harus inert, aman, tidak bereaksi dengan komponen lain. Penambahan *gelling agent* dalam formula perlu dipertimbangkan yaitu tahan selama penyimpanan dan tekanan *tube* selama pemakaian topikal. Beberapa gel, terutama polisakarida alami peka terhadap penurunan derajat mikrobial. Penambahan bahan pengawet perlu untuk mencegah kontaminasi dan hilangnya karakter gel dalam kaitannya dengan mikrobial (Ansel., 2010).

b. Dasar Gel

Berdasarkan komposisinya, dasar gel dapat dibedakan menjadi dasar gel hidrofobik dan dasar gel hidrofilik (Ansel, 2010).

1) Dasar gel hidrofobik

Dasar gel hidrofobik terdiri dari partikel-partikel anorganik. Apabila ditambahkan ke dalam fase pendispersi, bilamana ada, hanya sedikit sekali interaksi antara kedua fase. Berbeda dengan bahan hidrofilik, bahan hidrofobik tidak secara spontan menyebar, tetapi harus dirangsang dengan prosedur yang khusus

2) Dasar gel hidrofilik

Dasar gel hidrofilik umumnya adalah molekul-molekul organik yang besar dan dapat dilarutkan atau disatukan dengan molekul dari fase pendispersi. Istilah hidrofilik berarti suka pada pelarut. Pada umumnya karena daya tarik menarik

pada pelarut dari bahan-bahan hidrofilik kebalikan dari tidak adanya daya tarik menarik dari bahan hidrofobik, sistem koloid hidrofilik biasanya lebih mudah untuk dibuat dan memiliki stabilitas yang lebih besar. Gel hidrofilik umumnya mengandung komponen bahan pembengkak, air, penahan lembab dan bahan pengawet.

Gel dapat membengkak, absorpsi cairan dalam suatu peningkatan dalam volume. Ini dapat dilihat sebagai tahap awal dissolusi. *Solvent* berpenetrasi ke dalam matrik gel dengan demikian interaksi gel digantikan oleh interaksi gel dengan bahan pelarut

Penahan lembab yang ditambahkan, yang juga berfungsi sebagai pembuat lunak harus memenuhi berbagai hal. Pertama, harus mampu meningkatkan kelembutan dan daya sebar sediaan, kedua melindungi dari kemungkinan menjadi kering. Sebagai penahan lembab dapat digunakan gliserol, sorbitol, etilen glikol dan propilen glikol dalam konsentrasi 10-20%

Disebabkan oleh tingginya kandungan air, sediaan ini dapat mengalami kontaminasi mikrobial, yang secara efektif dapat dihindari dengan penambahan bahan pengawet. Untuk upaya stabilisasi dari segi mikrobial disamping penggunaan bahan-bahan pengawet seperti dalam balsam, khususnya untuk basis ini sangat cocok pemakaian metil dan propil paraben yang umumnya disatukan dalam bentuk larutan pengawet. Upaya lain yang diperlukan adalah perlindungan terhadap penguapan, untuk menghindari mengeringnya. Oleh karena itu untuk menyimpannya lebih baik menggunakan *tube*. Pengisian ke dalam botol, meskipun telah tertutup baik tetap tidak menjamin perlindungan yang memuaskan.

Keuntungan gel hidrofilik antara lain: daya sebar pada kulit dan mukosa baik, menimbulkan efek dingin, mudah dicuci dengan air dan pelepasan obatnya baik. Dasar gel hidrofilik antara lain bentonit, veegum, silika, pektin, tragakan, metil selulosa, karbomer.

2.8 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2012). Kandungannya terutama dari bahan mentah obat, dengan bagian terbesar adalah bahan yang tidak aktif dan komponen yang menyusun bahan mentah obat dihilangkan (Ansel, 2010).

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Azwanida, 2015).

Ekstrak dapat dikelompokkan atas dasar sifatnya, antara lain:

- a. Ekstrak kering, memiliki konsentrasi kering dan mudah digoyangkan yang sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak kurang dari 5%.
- b. Ekstrak kental, sediaan ini kuat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang, kandungan airnya berjumlah sampai 30%.

- c. Ekstrak cair, diartikan sebagai ekstrak cair yang dibuat sedemikian rupa sehingga satu bagian simplisia sesuai dengan dua bagian (kadang-kadang satu bagian) ekstrak cair (Voigt,2009).

Biasanya metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi serta kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat (Voigt, 2009). Sifat bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih metode ekstraksi. Beberapa obat tidak dapat diperkolasi yang mengisyaratkan bahwa zatnya harus digiling sehingga menjadi serbuk yang rata dan dimasukkan ke dalam perkolator (Voigt, 2009).

2.7.1 Metode Ekstraksi

Pembagian metode ekstraksi menurut Azwanida (2012) yaitu :

- a. Cara Dingin
1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan terpekat didesak keluar. Proses ini berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan didalam dan diluar sel. Cairan pelarut yang digunakan dapat berupa air, etanol, metanol, etanol-air atau pelarut lainnya. Remaserasi berarti dilakukan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Remaserasi berarti dilakukan

penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

Keuntungan cara ekstraksi dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana yang mudah diusahakan.

2. Perkolasi

Cara ekstraksi dengan mengalirkan pelarut melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Metode ini tidak memerlukan sampel padat telah terpisah dari ekstrak, namun kontak antara sampel padat tidak merata dibandingkan metode reflus serta pelarut akan menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien.

b. Cara Panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2. Sokletasi

Sokletasi merupakan proses ekstraksi yang berulang dan memerlukan pemanas. Penggunaan metode sokletasi adalah dengan cara memanaskan pelarut hingga membentuk uap dan membasahi sampel. Pelarut yang sudah membasahi sampel kemudian akan turun menuju labu pemanasan dan kembali menjadi uap untuk membasahi sampel, sehingga penggunaan pelarut dapat dihemat karena terjadi sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas.

3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50° C. 1) Dasar gel hidrofobik

4. Infundasi

Infundasi adalah proses ekstraksi yang umumnya dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Proses ini dilakukan pada suhu 90° C selama 15 menit.

5. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air, yakni 30 menit pada suhu 90-100° C.

Proses ekstraksi didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran. Kelarutan suatu komponen tergantung pada derajat kepolarannya. Tingkat polaritas pelarut dapat ditentukan dari nilai konstanta dielektrik pelarut.

2.9 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih atau mencit adalah tikus rumah dan binatang asli Asia, India dan Eropa Barat. Jenis ini dikenalkan oleh manusia sehingga dapat ditemukan diseluruh dunia. Klasifikasi dari tikus putih (Kusumawati, 2016) :

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Phylum	: <i>Chordata</i>
Subphylum	: <i>Vertebrata</i>
Class	: <i>Mammalia</i>
Order	: <i>Rodentia</i>

Family : *Muridae*
Genus : *Rattus*
Species : *Norvegicus*

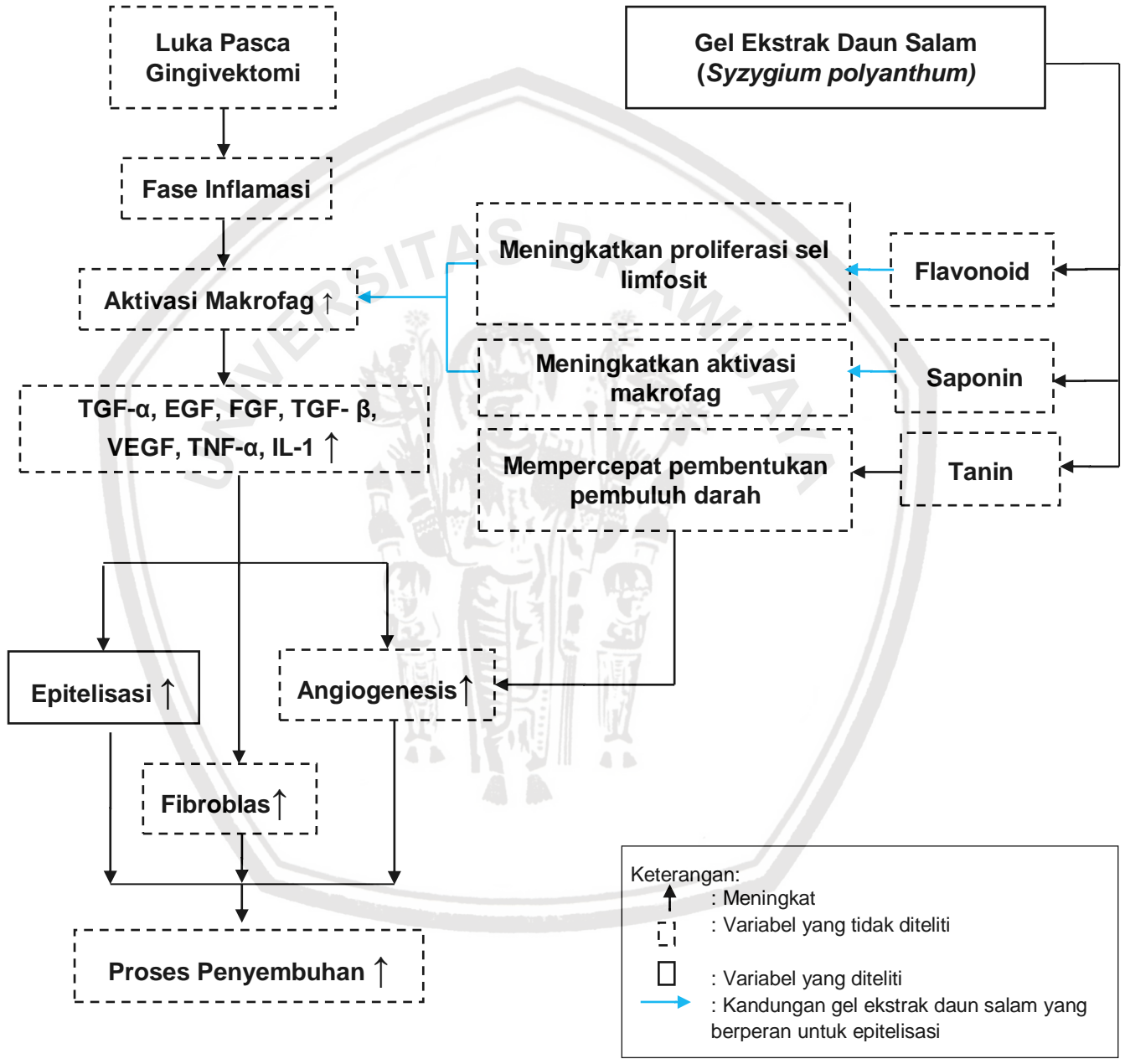


Gambar 2.3 Tikus (*Rattus norvegicus*) (Kusumawati, 2016)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar dipilih sebagai sampel karena tikus merupakan hewan coba yang tergolong jinak, mudah diperoleh dalam jumlah banyak, mempunyai respon yang lebih cepat, mudah perawatannya, dan fungsi metabolismenya mirip dengan manusia serta harganya lebih terjangkau dibandingkan dengan menggunakan marmot (*Cavia cobaya*). Para ilmuwan telah memunculkan banyak strain atau galur tikus khusus untuk eksperimen. Sebagian besar berasal dari tikus *Wistar albino*, yang masih digunakan secara luas (Sulistiawati, 2011).

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Fase inflamasi pada proses penyembuhan luka mengakibatkan meningkatnya sel-sel radang yaitu makrofag. Dalam aktivitasnya makrofag melepas beberapa faktor pertumbuhan yang menjadi stimulus awal untuk proliferasi dan migrasi sel-sel epidermis antara lain *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α), dan *Interleukin-1* (IL-1), yang dilepaskan karena aktivasi makrofag. Sedangkan *Fibroblast Growth Factor* (FGF) yang dilepaskan fibroblas berperan dalam meningkatkan migrasi dan proliferasi selama proses penyembuhan luka. *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) memiliki peran untuk menstimulasi angiogenesis dan reepitelisasi. *Transforming Growth Factor* (TGF- β) yang berfungsi untuk merangsang fibroblas memproduksi kolagen dan meregulasi ekspresi maktris ekstraseluler (ECM) serta matriks metaloproteinase (MMP) yang berperan dalam migrasi sel epitel. Sedangkan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) berperan dalam proses angiogenesis.

Daun salam memiliki beberapa kandungan seperti saponin, flavonoid, dan tanin. Saponin dapat meningkatkan aktivitas makrofag. Dalam beberapa penelitian saponin dapat mempercepat migrasi sel endotel dan sel keratin yang berpengaruh pada proses reepitelisasi. Kandungan flavonoid pada daun salam dapat meningkatkan proliferasi limfosit. Proliferasi limfosit akan mempengaruhi peningkatan aktivitas makrofag. Meningkatnya aktivitas makrofag dapat meningkatkan proses epitelisasi sehingga proses penyembuhan luka akan lebih cepat. Sedangkan kandungan tanin mempunyai peran mempercepat pembentukan pembuluh darah sehingga proses penyembuhan luka semakin cepat.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) berpengaruh dalam mempercepat epitelisasi pada proses penyembuhan luka gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi.

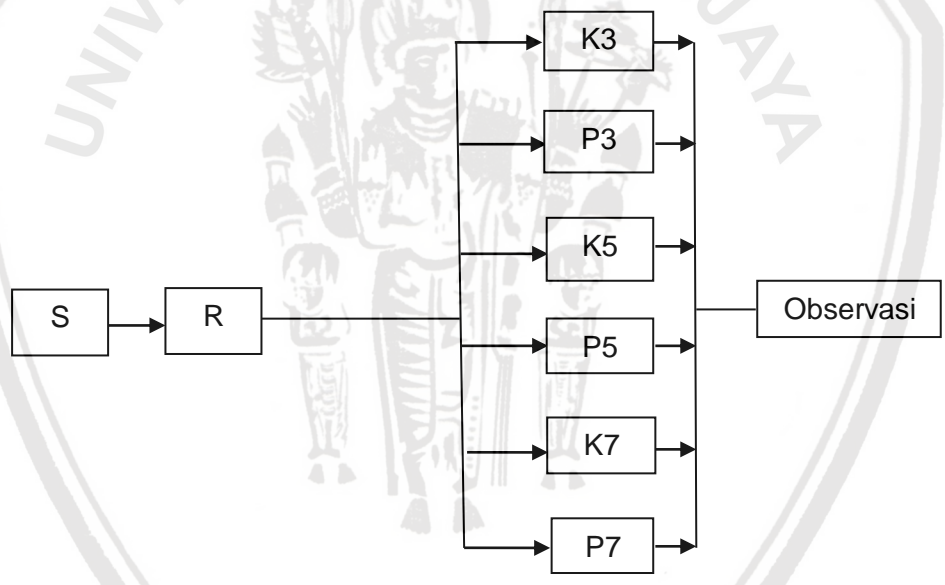


BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan desain *true eksperimental* atau eksperimen murni yang dikerjakan di laboratorium secara *in vivo* menggunakan rancangan percobaan *Randomized Group Post Test Only Design*.



Gambar 4.1 Rancangan Penelitian

Keterangan :

S = Sampel

R = Random

K3 = Kelompok kontrol 3 tanpa diberi gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) sampai hari ke-3 pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan



- P3 = Kelompok perlakuan 3 diberi gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diaplikasikan 2 kali sehari selama 3 hari pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan
- K5 = Kelompok kontrol 5 tanpa diberi gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) sampai hari ke-5 pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan
- P5 = Kelompok perlakuan 5 diberi gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diaplikasikan 2 kali sehari selama 5 hari pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan
- K7 = Kelompok kontrol 7 tanpa diberi gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) sampai hari ke-7 pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan
- P7 = Kelompok perlakuan 7 diberi gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang diaplikasikan 2 kali sehari selama 7 hari pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan

4.2. Sampel

Penelitian ini memakai sampel tikus putih jenis *Rattus norvegicus* yang dipelihara di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sampel dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eklusi. Kriteria inklusi meliputi tikus jantan, usia 10 minggu, berat badan 250-300 gram, dan sehat. Kriteria Eklusi yaitu tikus yang pernah digunakan dalam penelitian sebelumnya dan tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung.

Pada penelitian ini terbagi menjadi 6 kelompok sampel. Jumlah yang dibutuhkan di dapat dari perhitungan dengan rumus (Hanafiah ,2014) yaitu :

$(t-1) (r-1) \geq 15$, dengan t adalah jumlah kelompok dan r adalah jumlah sampel yang dibutuhkan di setiap perlakuan

$$(6-1) (r-1) \geq 15$$

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

$$5r-5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4$$

Pada penelitian ini digunakan minimal 4 tikus disetiap kelompoknya sebagai replikasi. Pada tiap *time series* yang pertama, kedua, dan ketiga memerlukan 8 ekor tikus (4 tikus untuk kelompok kontrol dan 4 tikus untuk kelompok perlakuan). Sehingga total tikus yang digunakan adalah 2 (jumlah dosis perlakuan) x 3 (hari pengamatan) x 4 (minimal 4 tikus yang dibedah setiap harinya 4 replikasi) = 24 tikus. Untuk mengurangi *lost of sample* ditambahkan 6 tikus cadangan (1 tikus untuk tiap kelompok), sehingga total tikus diperlukan 30 ekor.

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1. Variabel Tergantung :

Epitelisasi

4.3.2. Variabel Bebas :

Gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*)

4.3.3. Variabel Kontrol :

Variable kontrol penelitian ini adalah jenis kelamin, jenis tikus, dan umur hewan coba, serta berat badan dan kebersihan kandang hewan coba.

4.4. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi, Biokimia, dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dalam jangka waktu \pm 2 bulan.

4.5. Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1. Perawatan dan Pembuatan Makanan Hewan Coba

Alat perawatan hewan coba meliputi 12 buah bak plastik ukuran 45 cm x 35.5 cm x 14.5 cm dengan tutup kandang dari anyaman kawat, botol air, sekam dan neraca Sartorius untuk menimbang berat badan hewan coba. Bahan makanan hewan adalah pellet (pakan tikus).

4.5.2. Prosedur Gingivektomi

Alat yang dibutuhkan kaca mulut, pinset, sonde halfmoon, tools tray, kuret gracey, round diamond bur, handpiece low speed contra angle, micromotor, pinset bedah, pinset marker, dipen glass, tempat antiseptic, syringe irigasi, syringe anestesi, dan petrie dish. Bahan yang dibutuhkan adalah masker, handschoon, obat anestesi (Ketamin 0,2 ml), cotton roll, cotton pellet, povidone iodine 3%, alkohol 7%, kasa steril, aquades, obat analgesik Novalgine 0,3 ml intramusculary, dan formalin 10%.

4.5.3. Penghitung Luas Penampang

Alat yang dibutuhkan adalah jangka sorong, periodontal probe, dan kaca mulut. Bahan yang dibutuhkan yaitu kapas serta alkohol 70%.

4.5.4. Ekstrak Daun Salam

Alat yang dibutuhkan yaitu kertas saring, blender/pisau, gelas ekstraksi, seperangkat evaporator vakum, alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, *rotary evaporator*, bak penampung air dingin tabung pendingin dan pompa sirkulasi air dingin, pompa vakum, tabung penampung etanol, cawan penguap, batu didih, dan neraca analitik. Bahan yang dibutuhkan adalah daun salam, etanol 96%, dan *aquadest*.

4.5.5. Gel Ekstrak Daun Salam

Alat yang dibutuhkan adalah pisau anti karat (*stainless steel*), timbangan gram, timbangan miligram, corong plastik, gelas ukur, pengaduk kayu, pengaduk kaca, tabung kaca dan tutupnya, mortar pestle, cawan porselen, kertas, plastik, gunting, sudip, sendok porselen, water heater, dan pot untuk menyimpan gel. Bahan yang dibutuhkan yaitu ekstrak daun salam, carbopol, propilen glikol, metilparaben, dan *aquadest*.

4.5.6. Pembedahan Tikus

Alat yang dibutuhkan adalah gunting bedah, pinset, jarum pantul, strereform, dan kapas. Formalin 10% 200 ml, alkohol, dan tabung organ 54 buah

4.5.7. Pembuatan Preparat Jaringan

Alat yang dibutuhkan adalah telenan, pisau scalpel, pinset, saringan, tissues casset, mesin processor otomatis, mesin bloking, mesin vakumm, freezer (-20⁰ C) Mesin microtome, pisau microtome, water bath 46⁰ c, kaca obyek, kaca penutup, rak khusus untuk pewarnaan, dan oven 60⁰ C.

Bahan yang dibutuhkan adalah potongan jaringan hewan yang telah difiksasi dengan Buffer Neutral Formalin (BNF) 10%, ethanol absolute, xylol, parafin, glyserin 99,5%, albumin, larutan hematoksilin, lithium carbonat, larutan eosin, dan larutan dekalsifikasi EDTA (Munthiha, 2001).

4.5.8. Pengukuran Epitelisasi

Alat berupa preparat, slide glass, dan mikroskop. Bahan yang dibutuhkan adalah formalin 10%, alkohol absolute, xilol, paraffin lunak, paraffin keras, haris hematoxilen, alkohol asam, larutan amunium, counter staining, dan entelan.

4.6. Definisi Operasional

4.6.1. Gel Daun Salam

Ekstrak daun salam adalah sediaan pekat yang didapat dengan mengekstrak zat aktif daun salam dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Kemudian ekstrak daun salam dibuat gel dengan carbopol, propilen glikol, dan metilparaben sebagai basis gel hingga terbentuk gel. Daun salam yang digunakan didapat dan diidentifikasi di Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur UPT Medika Batu.

4.6.2. Pengukuran Epitelisasi

Pengukuran epitelisasi adalah pengukuran ketebalan epitel pada preparat eksisi biopsi jaringan sekitar gingivektomi pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7 pasca gingivektomi dengan pewarnaan *haematoxylin-eosin*, Epitel yang terbentuk diamati dan diukur menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali dengan gambaran epitel yang didapatkan berwarna keunguan berbentuk pipih berlapis dan terdapat inti sel yang terletak ditengah dengan warna ungu kehitaman. Ujung luka satu dengan ujung luka yang lain ditandai dengan pemberian garis. Pemberian garis dalam perbesaran 100 kali agar seluruh area terlihat. Perbedaan daerah luka dengan daerah yang sehat ditandai dengan adanya sel dan jaringan inflamasi pada daerah luka. Kemudian ditentukan 5 garis pengukur dengan jarak yang sama. Selanjutnya perbesaran diubah menjadi 400 kali dan dengan mikrometer digital dibuat garis yang ditarik dari ujung epitel parakeratin hingga lamina basalis yang paling tebal dan secara otomatis akan menunjukkan besarnya ketebalan jaringan epitel hingga ke-5 titik terukur.

(Saragih, 2013; Pastar *et al.*, 2013).

4.6.3. Gingivektomi

Prosedur gingivektomi adalah melakukan eksisi pada gingiva dengan menggunakan *round diamond bur* pada gingiva tikus *Rattus norvegicus* seluas 0,25 cm x 0,5 cm dengan ketebalan 0,5-1 mm yang diukur dengan jangka sorong. Luka gingivektomi kemudian diaplikasikan gel ekstrak daun salam. Gingivektomi akan dilakukan pada regio anterior rahang bawah karena aksesnya lebih mudah dan kontur yang paling baik. Untuk mengurangi nyeri, akan diberikan analgesik (Novalgin 0,3 ml) secara intraperitoneal.

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. Alur Penelitian

Pembuatan gel ekstrak daun salam sebelumnya kemudian hewan coba diaklimatisasi selama 7 hari kemudian hewan coba dikelompokkan dalam kandang yang diberi label sesuai perlakuan yang diberikan. Satu kandang terdiri dari 1 ekor tikus dengan perlakuan sama. Kemudian dilakukan gingivektomi pada seluruh hewan coba berdasarkan perlakuan sesuai kelompok yang sudah ditentukan. Kemudian dilakukan pembedahan pada 8 hewan coba pada *time series* yaitu pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7 setelah gingivektomi. Kemudian membuat preparat untuk mengukur ketebalan epitel, analisis data dan membuat kesimpulan.

4.7.2. Pembuatan Gel Daun Salam

Daun salam didapatkan dari Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur UPT Medika Batu dalam bentuk serbuk 500 gram. Proses pembuatan ekstrak dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96% diaduk dengan *homogenizer* selama 30 menit dan didiamkan 24 jam, setelah itu campuran disaring

menggunakan corong *Buchner* yang disertai kertas penyaring. Proses ini diulang 3 kali hingga diperoleh hasil berupa ampas dan filtrat. Filtrat hasil penyaringan dijadikan satu lalu diuapkan dengan *vacuum rotary evaporation* yang selanjutnya diuapkan kembali menggunakan pemanas *water bath* pada suhu 70°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak tersebut kemudian dituang dengan cawan porselin lalu dipanaskan dengan *water bath* suhu 70°C sambil terus diaduk sehingga diperoleh ekstrak daun salam. Hasil ekstrak kental yang didapatkan sebanyak 53,14 gram dengan rendemen yang diperoleh sebesar 10,62%. Kemudian dilanjutkan dengan pembuatan gel ekstrak daun salam.

Pembuatan gel ekstrak daun salam dilakukan di ruang farmasetik dengan suhu ruang stabil. Bahan-bahan pembuatan gel ditimbang terlebih dahulu dengan takaran karbopol 1,5 gram, propilen glikol 1,5 gram, dan metil paraben 0,045 gram. Karbopol dikembangkan dengan aquadest pada mortar sampai mengembang hingga membentuk basis gel. Metil paraben dilarutkan dalam aquadest hingga homogen dalam *beaker glass*. Di mortar berbeda ekstrak daun salam 6 gram digerus hingga teksturnya menjadi lembut lalu tambahkan sebagian propilen glikol lalu gerus hingga homogen. Metil paraben yang telah dilarutkan ditambahkan dalam basis gel dan diaduk hingga homogen. Sisa propilen glikol ditambahkan dalam campuran basis dan gerus hingga homogen. Campuran gerusan ekstrak ditambahkan ke dalam basis gel dan gerus sampai homogen. Didapatkan gel sebanyak 21 gram dengan konsentrasi 28,75%.

Gel ekstrak daun salam kemudian dilakukan uji fisik gel meliputi homogenitas dan PH. Uji pH bertujuan untuk mengetahui adanya perubahan pH yang mungkin terjadi selama penyimpanan yang akan berpengaruh terhadap stabilitas gel. Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan zat yang akan

diuji pada sekeping kaca harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar.

Setelah gel ekstrak daun salam selesai dibuat, dilakukan penimbangan kemudian gel disimpan. Gel ditempatkan dalam wadah berupa *tube* atau pot yang terlindung dari kontaminasi luar.

4.7.3. Tindakan Gingivektomi

Prosedur gingivektomi dilakukan pada jaringan fisiologi gingiva atau yang tidak mengalami *gingival enlargement*, tahapan yang dilakukan sebagai berikut :

- a. Aplikasi povidone iodine sebagai antiseptik pada daerah yang akan dilakukan gingivektomi.
- b. Anastesi intraperitoneal menggunakan Ketamine, perhitungan sediaan 50mg/ml dan kebutuhan dengan onset 10-15 menit adalah 40mg/kgBB, maka dengan tikus ± 250 mg memerlukan 0,2 ml untuk memberikan efek analgesik dan sedasi sebelum dilakukan gingivektomi di bagian kuadran bawah abdomen secara intraperitoneal.
- c. Membuat luka pada gingiva menggunakan *round diamond bur low speed* no $\frac{1}{2}$ pada region anterior bawah.
- d. Kontrol pendarahan dengan kasa steril.
- e. Irigasi antiseptik povidone iodine menggunakan syringe irigasi.
- f. Aplikasi gel ekstrak daun salam pada kelompok perlakuan (P3,P5,P7). Untuk kelompok kontrol positif tidak diaplikasikan gel daun salam.
- g. Perawatan hewan coba pasca gingivektomi adalah dengan pemberian pakan lunak dan pemberian analgesik Novalgin 0,3 ml intraperitoneal.

4.7.4. Pengaplikasian Gel Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

Aplikasi gel ekstrak daun salam (*syzygium polyanthum*) dilakukan pada kelompok perlakuan, sedangkan kelompok kontrol tidak diberi gel ekstrak daun salam (*syzygium polyanthum*). Pengaplikasian gel ekstrak daun salam (*Syzygyum polyanthum*) dilakukan secara topikal menggunakan *cotton bud* pada pagi dan sore hari. Dilakukan aplikasi yang sama sampai hari ke-3 pada kelompok P3, ke-5 pada kelompok P5, dan ke-7 pada kelompok P7.

4.7.5. Pembedahan Hewan Coba

Setelah hari ke 3, 5, dan 7 hewan coba dikorbankan menggunakan *cervical dislocation* oleh tenaga ahli yang kompeten dibidangnya. Hewan coba yang akan dikorbankan harus dalam keadaan telah teranestesi dengan Ketamine 0,2 ml secara intraperitoneal dan tidak boleh dilakukan pada hewan dalam keadaan sadar. Dilakukan dengan cara memisahkan tengkorak dan otak dari sumsum tulang belakang. Teknik untuk melakukan metode ini adalah dengan memberikan tekanan ke bagian posterior dasar tulang tengkorak dan sumsum tulang belakang. Setelah itu, dilakukan pembedahan untuk mengambil jaringan gingiva pasca gingivektomi pada hewan coba beserta sedikit tulang mandibula disekitarnya. Pengambilan jaringan dari distal insisiv lateral kanan sampai distal insisiv lateral kiri dengan jarak 5 mm dari koronal ke apikal. Jaringan tersebut kemudian dibersihkan dengan NaCl 0.9% fisiologis dan dimasukkan ke dalam botol organ yang sudah berisi larutan BNF (*Buffered Neutral Formalin*) 10% dengan pH 6.5-7.5 (Basuki dkk, 2015)

4.7.6. Sanitasi Hewan Coba

Semua sisa organ hewan coba yang sudah dibedah dan tidak terpakai dilakukan sanitasi. Tubuh tikus yang tersisa dibersihkan dan dilakukan aseptik dengan alkohol 70%. Semua sisa organ tikus yang sudah dibedah dan tidak terpakai kemudian dikubur dengan mengubur di halaman belakang laboratorium biokimia dengan membuat lubang sebesar 40 cm x 40 cm x 60 cm dan dibalut kain atau bahan yang mudah terurai. Sampah dari prosedur pembedahan yang tidak terpakai dibuang dalam satu kantong plastik, sampah medis dipisahkan tersendiri dan diserahkan ke Rumah Sakit Saiful Anwar untuk proses pembuangan. Area kerja sisa pembedahan dibersihkan dengan sabun dan jika perlu disemprot dengan alkohol.

4.7.7. Pembuatan Preparat dan Pengamatan Histologi Luka Gingiva

Pembuatan preparat dilakukan dengan estimasi setiap luka dengan 3 kali pembuatan preparat. Jika masing-masing diperlukan 3 preparat untuk setiap perlakuan, maka dengan 6 perlakuan, 3 pengulangan dan 3 hari pengamatan akan membutuhkan total 54 preparat.

Preparat jaringan yang akan diamati haruslah dalam keadaan segar dan harus segera difiksasi. Pembedahan untuk pengambilan jaringan gingiva yang telah dilakukan gingivektomi dengan menyertakan sedikit tulang rahang disekitarnya agar tidak terjadi pengerutan saat pembuatan preparat (Prasetyo dkk, 2010). Kemudian jaringan direndam dalam botol organ dengan larutan *Buffered Neutral Formalin* (BNF) 10%, lama fiksasi minimal 2 hari. Jika jaringan berupa tulang maka dilakukan dekalsifikasi jaringan

dengan perbandingan antara jaringan dan larutan 1 : 20 dengan waktu perendaman selama 24 jam. Proses pembuatan preparat histopatologi (Basuki dkk., 2015) :

a. Memotong jaringan organ

Setelah jaringan yang berada di dalam larutan fiksatif matang, jaringan ditiriskan pada saringan dan selanjutnya dipotong menggunakan *scalpel* denganketebalan 0,3-0,5 dan disusun dalam *tissue cassette*, kemudian sejumlah *tissue cassette* dimasukkan ke dalam keranjang khusus (*basket*).

b. Proses dehidrasi

Keranjang yang di dalamnya berisi jaringan organ, dimasukkan ke dalam mesin prosesor otomatis. Selanjutnya jaringan mengalami proses dehidrasi bertahap dengan putaran waktu sebagai berikut : ethanol 70% (2 jam), ethanol 80% (2 jam), ethanol 90% (2 jam), ethanol absolut (2 jam), xylol (2 jam), dan paraffin cair (2 jam). Selanjutnya keranjang yang berisi *tissue cassette* dikeluarkan untuk dilakukan proses berikutnya.

c. Vakum

Setelah proses dehidrasi dilakukan, kemudian dilanjutkan dengan penghilangan udara dari jaringan dengan menggunakan mesin vakum yang di dalamnya terdapat tabung untuk menyimoan keranjang yang diisi paraffin cair dengan temperatur (59-60°C) di vakum selama 30 menit. Keranjang diangkat, *tissue cassette* dikeluarkan dan disimpan pada temperature 60°C untuk sementara waktu sebelum percetakan dilakukan dengan paraffin cair.

d. Mencetak blok paraffin

Cetakan dari bahan *stainless steel* dihangatkan di atas api Bunsen, lalu ke dalam setiap cetakan dimasukkan jaringan sambil diatur dan sedikit ditekan.

Sementara itu ditempat lain telah disiapkan parafin cair dalam tempat khusus, sehingga dicapai suhu 60°C. Parafin cair tersebut dituangkan ke dalam jaringan sampai seluruh jaringan terendam parafin. Parafin dibiarkan membeku di atas mesin pendingin. Selanjutnya, blok parafin dilepas dari cetakan dan disimpan di *freezer* (-20°C) sebelum dilakukan pemotongan.

e. Memotong blok jaringan

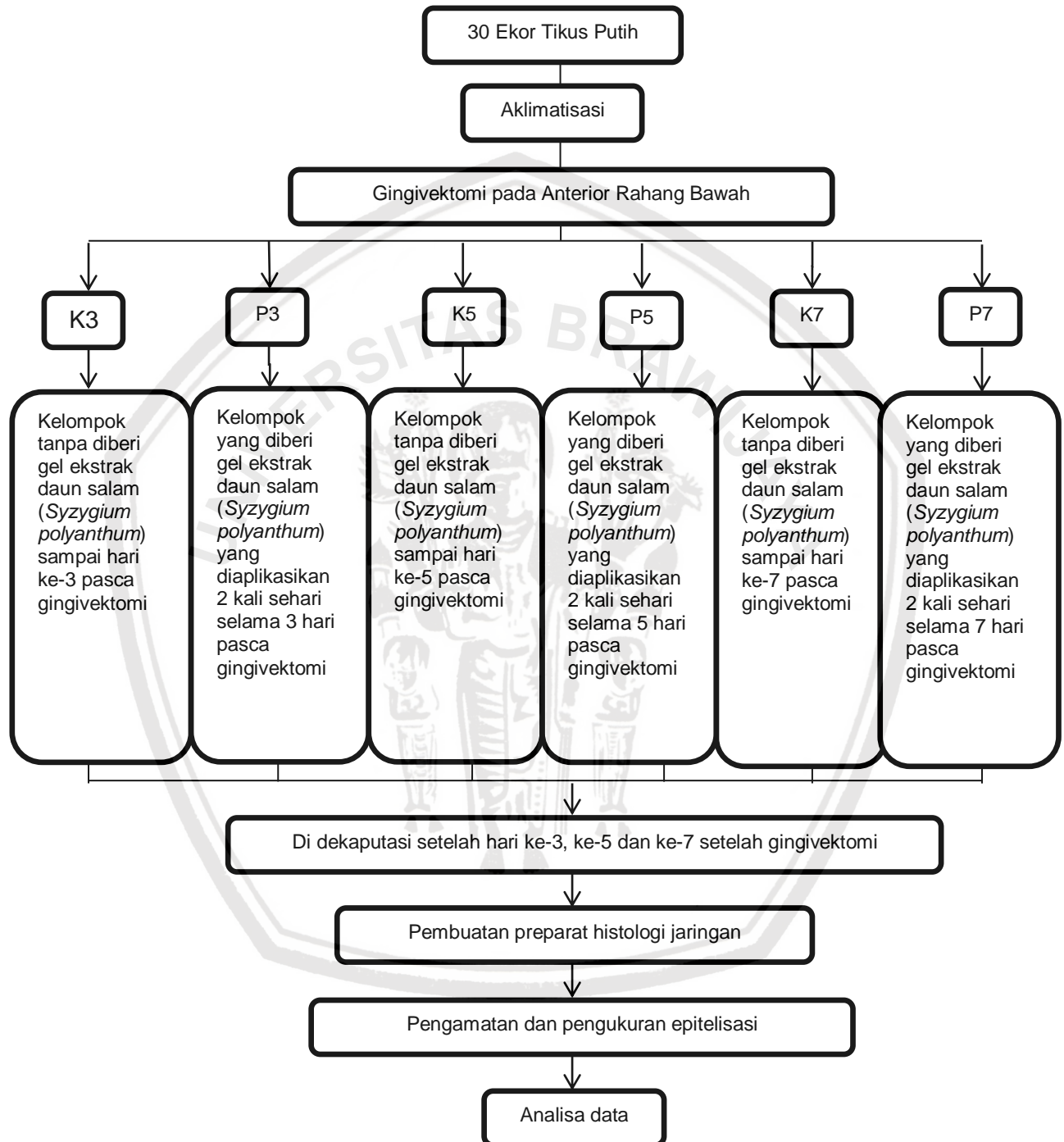
Blok parafin yang mengandung jaringan, kemudian dipotong dengan menggunakan mesin mikrotom dengan ketebalan berkisar 3-4 µm. Potongan tersebut diletakkan secara hati-hati di atas permukaan air dalam *waterbath* bersuhu 46°C. Pada kesempatan ini bentuk irisan dirapikan kemudian diletakkan di atas kaca obyek yang telah diolesi *ewith*, yang berfungsi sebagai bahan perekat. Kaca obyek dengan jaringan di atasnya disusun di dalam rak khusus dan dimasukkan ke dalam incubator bersuhu 60°C sampai preparat siap untuk diwarnai.

Preparat yang akan diwarnai diletakkan pada rak khusus dan dicelupkan secara berurutan ke dalam larutan dengan waktu sebagai berikut : xylol 3 menit, xylol 3 menit, ethanol absolute 3 menit, ethanol absolut 3 menit, ethanol 90% 3 menit, ethanol 80% 3 menit, bilas dengan air keran 1 menit, larutan hematoksilin 6-7 menit, bilas dengan air keran 1 menit, larutan pembiru 1 menit, air keran 1 menit, larutan eosin 1-5 menit, bilas dengan air keran 1 menit, ethanol 80% 10 celupan, ethanol 90% 10 celupan, ethanol absolut 1 menit, xylol 3 menit, xylol 3 menit. Kemudian preparat diangkat satu persatu dari larutan xylol dalam keadaan basah, diberi satu tetes cairan perekat (DPX) dan selanjutnya ditutup dengan kaca penutup. Hasil pewarnaan dapat dilihat di bawah mikroskop.

4.7.8. Pengukuran Epitelisasi dan Presentase Penyembuhan Luka

Pengukuran epitelisasi adalah pengukuran ketebalan epitel pada preparat eksisi biopsi jaringan sekitar gingivektomi pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7 pasca gingivektomi dengan pewarnaan *haematoxylin-eosin*, dimana warna epitelnya adalah keunguan. Ketebalan epitel diukur dengan menggunakan mikrometer okuler pada mikroskop digital dan aplikasi *software Olyvia-Olympus* dengan pembesaran 400 kali (Atik dan Iwan, 2012). Ujung luka satu dengan ujung luka yang lain ditandai dengan pemberian garis. Pemberian garis dalam perbesaran 100 kali agar seluruh area terlihat. Perbedaan daerah luka dengan daerah yang sehat ditandai dengan adanya sel dan jaringan inflamasi pada daerah luka. Kemudian ditentukan 5 garis pengukur dengan jarak yang sama. Selanjutnya perbesaran diubah menjadi 400 kali dan dengan mikrometer digital dibuat garis yang ditarik dari ujung epitel parakeratin hingga lamina basalis, dan secara otomatis akan menunjukkan besarnya ketebalan jaringan epitel hingga ke-5 titik terukur. Terakhir, diambil rata-rata dari data tersebut. Adanya peningkatan tebal epitel pada jaringan luka, dilihat dari perbedaan ketebalan epitel secara signifikan dibandingkan dengan kontrol (Saragih, 2013; Pastar *et al.*, 2013).

4.7.9 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 4.2 Kerangka Operasional Penelitian

4.8. Analisis Data

Hasil pengukuran ketebalan epitel pada tikus kontrol dan perlakuan dianalisa secara statistik dengan bantuan program SPSS 16.0 for windows XP dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$), berikut adalah langkah-langkah uji hipotesis komparatif dan korelatif :

a. Uji normalitas data

Menginterpretasikan data memiliki sebaran normal atau tidak karena pemilihan penyajian data dan uji hipotesis tergantung normal tidaknya distribusi data. Penyajian data yang terdistribusi normal digunakan *mean* dan *deviasi* sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Median dan minimum maksimum digunakan untuk penyajian data yang tidak terdistribusi normal. Sedangkan untuk uji hipotesis, jika sebaran data normal maka digunakan uji parametrik, sedangkan uji non parametrik digunakan jika sebaran data tidak normal. Dalam penelitian ini uji normalitas dilakukan dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* karena besar sampel < 50 .

b. Uji-T Tidak Berpasangan

Membandingkan nilai antar kelompok dan mengetahui apakah nilai dari tiap dua kelompok berbeda secara signifikan.

c. Uji Korelasi *Pearson* dan uji regresi

Mengetahui hubungan dan besar pengaruh antara variabel bebas dan variabel terikat.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

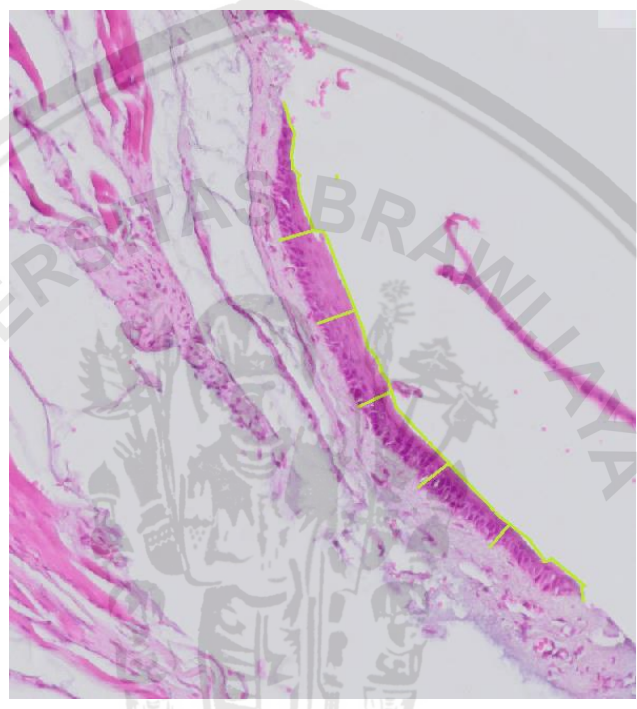
5.1 Hasil Penelitian

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap epitelisasi pada penyembuhan luka gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi. Penelitian ini membagi hewan coba menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol hari ketiga (K3), kelompok kontrol hari kelima (K5), kelompok kontrol hari ketujuh (K7), kelompok perlakuan hari ketiga (P3), kelompok perlakuan hari kelima (P5), kelompok perlakuan hari ketujuh (P7). Kelompok kontrol adalah kelompok hewan coba yang dilakukan gingivektomi tanpa diberikan gel ekstrak daun salam. Kelompok perlakuan adalah kelompok hewan coba yang dilakukan gingivektomi dan diberikan gel ekstrak daun salam sebanyak 2 kali sehari.

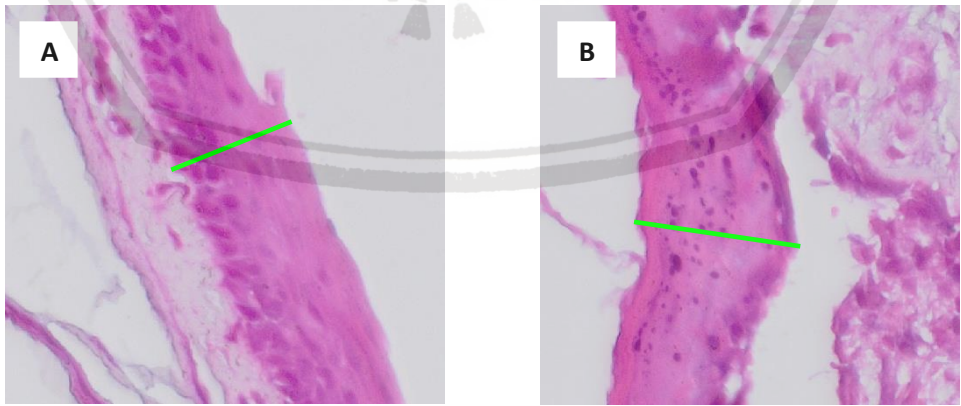
Sampel didapatkan dengan mengambil jaringan gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang didekapitasi setelah hari ketiga, kelima dan ketujuh pasca gingivektomi, kemudian dilakukan pembuatan preparat dengan dengan pengecatan *Haematoxylin-Eosin* (HE). Epitel yang terbentuk diamati dan diukur menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali dengan gambaran epitel yang didapatkan berwarna keunguan berbentuk pipih berlapis dan terdapat inti sel yang terletak ditengah dengan warna ungu kehitaman.

Ujung luka satu dengan ujung luka yang lain ditandai dengan pemberian garis. Pemberian garis dalam perbesaran 100 kali agar seluruh area terlihat. Perbedaan daerah luka dengan daerah yang sehat ditandai dengan adanya sel

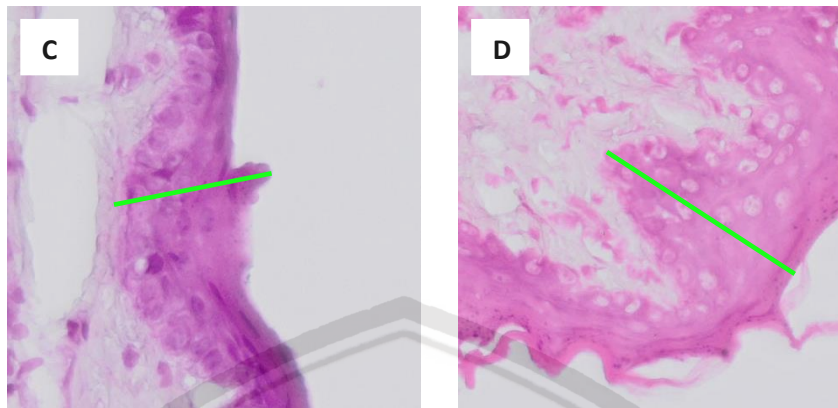
dan jaringan inflamasi pada daerah luka. Kemudian ditentukan 5 garis pengukur dengan jarak yang sama. Selanjutnya perbesaran diubah menjadi 400 kali dan dengan mikrometer digital dibuat garis yang ditarik dari ujung epitel parakeratin hingga lamina basalis yang paling tebal dan secara otomatis akan menunjukkan besarnya ketebalan jaringan epitel hingga ke-5 titik terukur.



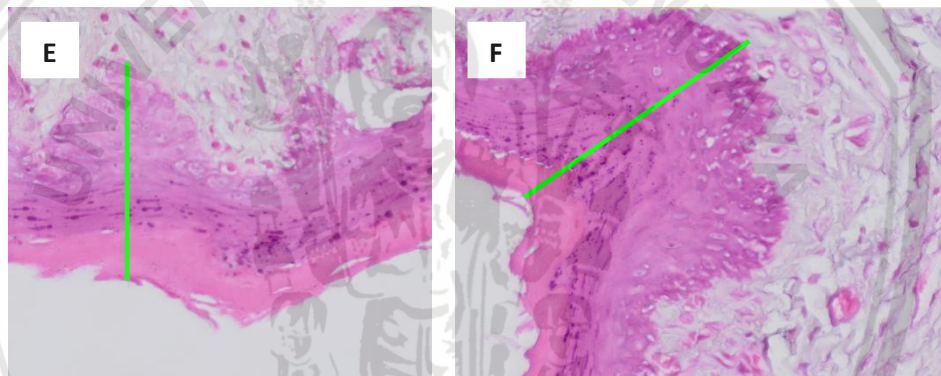
Gambar 5.1 Pemberian 5 garis pengukur dengan jarak yang sama pada preparat dengan perbesaran 100 kali.



Gambar 5.2 Gingiva tikus putih pasca gingivektomi setelah 3 hari perlakuan dengan pewarnaan HE pada perbesaran 400 kali. (A) Epitel kelompok K3 (B) Epitel kelompok P3



Gambar 5.3 Gingiva tikus putih pasca gingivektomi setelah 5 hari perlakuan dengan pewarnaan HE pada perbesaran 400 kali. (C) Epitel kelompok K5 (D) Epitel kelompok P5



Gambar 5.4 Gingiva tikus pasca gingivektomi setelah 7 hari perlakuan dengan pewarnaan HE pada perbesaran 400 kali. (E) Epitel kelompok K7 (F) Epitel kelompok P7

Gambar (A) yaitu kelompok kontrol 3 (K3), kelompok tikus yang dibedah hari ketiga pasca gingivektomi menunjukkan adanya ketebalan epitel yang rendah. Pada gambar (B) yaitu kelompok perlakuan 3 (P3), kelompok tikus yang dibedah hari ketiga pasca gingivektomi menunjukkan ketebalan epitel yang rendah, namun terlihat lebih tinggi daripada kelompok K3.

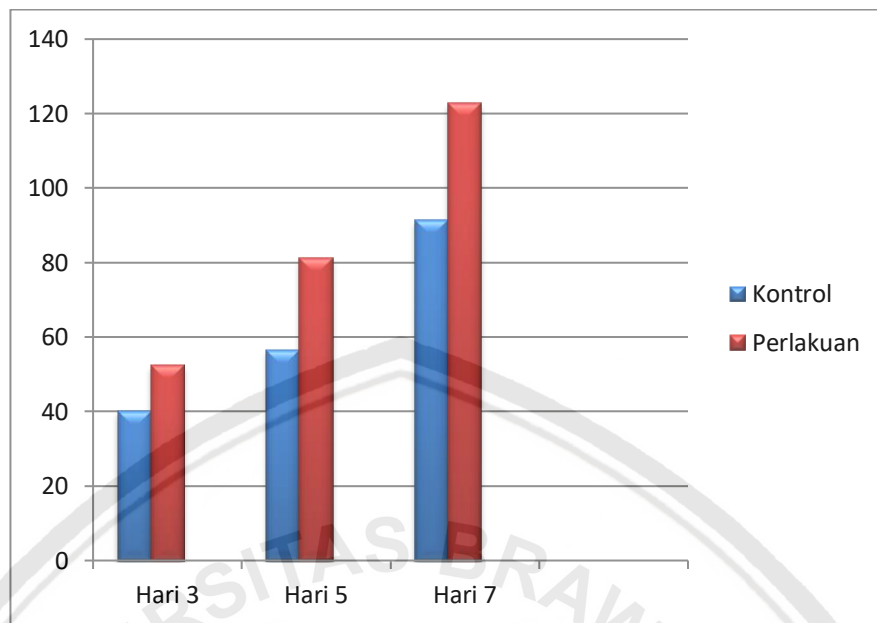
Gambar (C) yaitu kelompok kontrol 5 (K5), kelompok tikus yang dibedah hari kelima pasca gingivektomi menunjukkan peningkatan ketebalan epitel dibandingkan kelompok K3 dan P3. Gambar (D) yaitu kelompok perlakuan 5 (P5)

kelompok tikus yang dibedah hari kelima pasca gingivektomi menunjukkan peningkatan ketebalan epitel dibandingkan K5 serta ketebalan epitelnya jauh lebih tinggi daripada kelompok K3 dan P3.

Gambar (E) yaitu kelompok kontrol 7 (K7), kelompok tikus yang dibedah hari ketujuh pasca gingivektomi menunjukkan peningkatan ketebalan epitel yang tidak signifikan dibandingkan kelompok K5 serta menunjukkan peningkatan ketebalan epitel yang jauh lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok K3 dan P3. Gambar (F) yaitu kelompok perlakuan 7 (P7), kelompok tikus yang dibedah hari ketujuh pasca gingivektomi menunjukkan peningkatan ketebalan epitel yang tidak signifikan dibandingkan dengan K7. Ketebalan epitel kelompok P7 menunjukkan jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K3 dan P3.

Tabel 5.1 Hasil pengukuran ketebalan epitel dalam satuan mikron (μm)

Kelompok	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	Rata-rata
K3	32,65	47,478	-	-	40,06
P3	45,12	62,81	49,48	-	52,47
K5	56,52	56,51	-	-	56,52
P5	80,76	81,51	-	-	81,13
K7	86,49	96,29	-	-	91,39
P7	135,27	110,31	-	-	122,79



Gambar 5.5 Diagram hasil pengukuran rata-rata ketebalan epitel

Gambar 5.5 menunjukkan rata-rata ketebalan epitel paling tinggi yaitu pada hari ketujuh baik kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Secara keseluruhan, rata-rata ketebalan epitel kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol baik pada hari ketiga, kelima dan ketujuh.

5.2 Analisis Data

Data pengukuran epitel dianalisis terlebih dahulu dengan uji normalitas. Uji normalitas yang dipilih yaitu dengan *Shapiro-Wilk*. Selanjutnya digunakan uji-T apabila data yang didapat berdistribusi normal. Kemudian data diolah lebih lanjut dengan menggunakan uji korelasi *Pearson* dan uji regresi.

5.2.1 Uji Normalitas

Pengujian normalitas data dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena sampel yang dikumpulkan berjumlah kurang dari 50 sampel. Uji

normalitas terpenuhi apabila nilai signifikansi hasil penghitungan $p > 0,05$.

Didapatkan hasil pengujian normalitas sebagai berikut.

Tabel 5.2 Uji normalitas

Kelompok	Kolmogorov-Smimov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Ketebalan Sel	KH3	.190	10	.200*	.911	10	.285
	PH3	.169	15	.200*	.921	15	.201
	KH5	.103	10	.200*	.982	10	.975
	PH5	.144	10	.200*	.944	10	.595
	KH7	.135	10	.200*	.970	10	.888
	PH7	.366	10	.000	.881	10	.132

Berdasarkan pada tabel diatas, didapatkan nilai p tiap kelompok lebih besar dari 0,05. Sehingga dapat diketahui bahwa uji normalitas telah terpenuhi dan data telah berdistribusi normal.

5.2.2 Uji-T Tidak Berpasangan

Tabel 5.3 Uji-T Tidak Berpasangan

Kelompok	Kelompok Pembanding	Homogenitas (<i>Lavene's test</i>)	Sig.	Keterangan
K3	P3	0,259	.002	Signifikan
	K5	2,362	.004	Signifikan
	P5	0,248	.000	Signifikan
	K7	0,919	.000	Signifikan
	P7	0,014	.000	Signifikan
P3	K3	0,259	.002	Signifikan
	K5	0,072	.341	Tidak Signifikan
	P5	0,055	.000	Signifikan

	K7	0,405	.000	Signifikan
	P7	0,001	.000	Signifikan
K5	K3	2,362	.004	Signifikan
	P3	0,072	.341	Tidak Signifikan
	P5	0,631	.001	Signifikan
	K7	0,578	.000	Signifikan
	P7	0,154	.000	Signifikan
P5	K3	0,248	.000	Signifikan
	P3	0,055	.000	Signifikan
	K5	0,631	.001	Signifikan
	K7	0,377	.120	Tidak Signifikan
	P7	0,510	.000	Signifikan
K7	K3	0,919	.000	Signifikan
	P3	0,405	.000	Signifikan
	K5	0,578	.000	Signifikan
	P5	0,377	.120	Tidak Signifikan
	P7	0,079	.000	Signifikan
P7	K3	0,014	.000	Signifikan
	P3	0,001	.000	Signifikan
	K5	0,154	.000	Signifikan
	P5	0,510	.000	Signifikan
	K7	0,079	.000	Signifikan

Hasil Uji-T tidak berpasangan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok K3 dengan K5 dan antara kelompok K5 dengan K7.

terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok P3 dengan P5 dan antara kelompok P5 dengan P7. Jika dilakukan perbandingan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan didapatkan hasil yaitu P3 signifikan dengan K3 dan K7, tetapi tidak signifikan bila dibandingkan dengan K5. Kelompok P5 menunjukkan hasil yang signifikan bila dibandingkan dengan K3 dan K5, tetapi tidak signifikan bila dibandingkan dengan K7. Kelompok P7 menunjukkan hasil yang signifikan apabila dibandingkan dengan K3, K5, dan K7.

5.2.3 Uji Korelasi *Pearson* dan Uji Regresi

Tabel 5.4 Uji korelasi *Pearson* pada kelompok perlakuan

		Hari	Ketebalan Sel
Hari	Pearson Correlation	1	.911**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	35	35
Ketebalan Sel	Pearson Correlation	.911**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	35	35

Tabel 5.5 Uji regresi pada kelompok perlakuan

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.911 ^a	.831	.826	13.47073

Untuk mengetahui korelasi antara pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap terbentuknya epitel maka dilakukan uji korelasi *Pearson*. Pada tabel 5.4 didapatkan $p < 0,05$ dimana $p = 0,000$ sehingga dapat diketahui terdapat korelasi yang kuat antara pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan terhadap terbentuknya epitel. Sedangkan kekuatan korelasi didapatkan sebesar 0,911 dengan arah korelasi positif. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) maka semakin tebal epitel yang terbentuk.

Kemudian untuk melihat seberapa besar pengaruh variabel bebas dalam menyebabkan perubahan pada variabel terikat maka dilakukan uji regresi. Dalam penelitian ini uji regresi dilakukan untuk mengetahui seberapa besar pengaruh pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap ketebalan epitel yang terbentuk. Pada tabel 5.5 didapatkan koefisien determinasi *R square* (R) sebesar 0,831 yang menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) berpengaruh sebesar 83,1% terhadap ketebalan epitel yang terbentuk.



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap epitelisasi pada proses penyembuhan luka gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi. Pembuatan ekstrak daun salam dilakukan metode maserasi dengan larutan ethanol 96% yang dapat mengikat zat fitokimia dari daun salam (*Syzygium polyanthum*). Dalam pengerjaannya metode maserasi ini tidak menggunakan suhu yang tinggi sehingga tidak merusak senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun salam (*Syzygium polyanthum*) seperti flavonoid, saponin dan tanin (Mukhriani, 2014; Taroreh et al., 2015).

Pembuatan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) menggunakan carbopol sebagai basis gel karena memiliki stabilitas dan kompatibilitas yang tinggi serta toksisitas yang rendah. Dalam pembuatan gel juga ditambahkan propilen glikol untuk menjaga kelembapan gel serta metil paraben agar gel tidak mudah rusak (Sayuti, 2015). Kemudian gel dilakukan uji homogenitas dengan cara meletakkan gel diantara dua gelas preparat lalu ditekan dan diamati. Hasil uji homogenitas adalah gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) telah homogen dilihat dari tidak adanya gelembung udara dan gumpalan. Uji pH dengan menggunakan pH meter pada gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) menunjukkan pH 6,5 dan sesuai dengan pH normal pada rongga mulut yaitu berkisar antara 6,4-7,3. pH gel disesuaikan dengan pH normal rongga mulut agar tidak merusak membran mukosa. Selain itu

agar stabilitas obat tidak terganggu akibat adanya proses degradasi yang akan mempengaruhi maksimal kerja suatu obat (Lachman, 2010).

Penelitian ini dilakukan dengan membagi tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan secara acak menjadi enam kelompok yaitu kelompok kontrol (K3 kontrol hari ketiga, K5 kontrol hari kelima, dan K7 kontrol hari ketujuh) dan kelompok perlakuan (P3 perlakuan hari ketiga, P5 perlakuan hari kelima, dan P7 perlakuan hari ketujuh). Prosedur gingivektomi dilakukan dengan menggunakan bur bulat *handpiece low speed* nomor ½. Eksisi dengan bur dilakukan karena rahang tikus yang kecil dan tikus sering bergerak sehingga menyulitkan apabila menggunakan *blade*. Pada kelompok perlakuan diberikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dua kali sehari pagi dan sore pada area luka pasca gingivektomi sampai hari ketiga untuk kelompok P3, hari kelima untuk kelompok P5 dan hari ketujuh untuk kelompok P7.

Pada penelitian didapatkan data yang tidak lengkap, dari 4 tikus yang seharusnya digunakan hanya 2 sampai 3 tikus yang dapat diambil datanya. Hal ini mengakibatkan validitas penelitian menjadi berkurang akibat jumlah sampel yang digunakan tidak sesuai. Faktor-faktor yang mungkin menyebabkan antara lain kesalahan dalam penentuan pemotongan preparat, dalam penelitian ini arah pemotongan untuk preparat dilakukan dengan arah transversal, selain itu gingiva tikus yang tipis menyebabkan sulitnya pemotongan organ untuk pembuatan preparat.

Data hasil penelitian kemudian diolah dan dilakukan uji normalitas. Hasil uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai p sebesar 0,285 (K3), 0,201 (P3), 0,975 (K5), 0,595 (P5), 0,888 (K7) dan 0,132 (P7) ($p > 0,05$)

sehingga dapat disimpulkan bahwa data rata-rata ketebalan epitel telah berdistribusi normal.

Selanjutnya uji-T tidak berpasangan dilakukan untuk mengetahui perbedaan antara kelompok. Jika kelompok K3 dibandingkan dengan K5 dan K5 dibandingkan dengan K7 menunjukkan hasil yang signifikan, yaitu terdapat perbedaan ketebalan epitel yang bermakna antar kelompok tersebut. Berdasarkan hasil penelitian kelompok kontrol menunjukkan ketebalan epitel terus meningkat dari K3 menuju K5 dan K5 menuju K7. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi *self-healing* pada kelompok kontrol. Secara teori setelah 12-24 jam sel epitelial tepi luka akan migrasi dan menutupi jaringan granulasi dan mencapai puncak serelah 24-36 jam (Newman, 2015). Kemudian terjadi fase proliferasi yang dimulai dari hari ketiga setelah cedera dan berlangsung selama sekitar 2-4 minggu (Neck *et al.*, 2012). Sedangkan pada hari ketujuh peningkatan proliferasi epitel, pembuluh darah dan fibroblas terus terjadi disertai dimulainya fase maturasi jaringan (Robbins *et al.*, 2010).

Pada uji-T tidak berpasangan kelompok perlakuan, apabila P3 dibandingkan dengan P5 dan P5 dibandingkan dengan P7 menunjukkan hasil yang signifikan, dimana terdapat perbedaan ketebalan epitel yang bermakna pada kelompok tersebut. Berdasarkan hasil penelitian ketebalan epitel dari kelompok P3 menuju P5 dan P5 menuju P7 terus menunjukkan peningkatan. Peningkatan ketebalan epitel yang bermakna juga terlihat pada uji-T tidak berpasangan antara kelompok perlakuan dan kontrol antara P3 dengan K3, antara P5 dengan K5 serta antara P7 dengan K7. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dapat mempercepat pembentukan epitel.

Secara teori beberapa kandungan pada daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki peran dalam proses penyembuhan luka. Flavonoid yang terkandung dalam daun salam (*Syzygium polyanthum*) yang berperan meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Proliferasi limfosit akan mempengaruhi sel CD4+, kemudian menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Sel Th1 yang teraktivasi akan mengakibatkan aktivitas makrofag dapat meningkat. Meningkatnya aktivitas makrofag dapat meningkatkan proses epitelisasi dengan meningkatnya produksi *growth factor*, sehingga proses penyembuhan luka akan lebih cepat (Leong dan Philips, 2012). Kandungan saponin pada daun salam (*Syzygium polyanthum*) menstimulasi makrofag untuk memproduksi IL-1 yang berperan dalam fase proliferasi sehingga proses proliferasi dapat meningkat. Saponin juga dapat meningkatkan migrasi sel-sel epidermis termasuk keratinosit yang berperan dalam epitelisasi (Xiong, 2012).

Uji-T tidak berpasangan antara kelompok P3 dengan K5 dan P5 dengan K7 menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Hasil penelitian menunjukkan ketebalan epitel kelompok K5 lebih tinggi dibandingkan dengan P3 dan ketebalan epitel kelompok K7 lebih tinggi dibandingkan dengan P5. Sehingga dapat diketahui bahwa ketebalan epitel pada kelompok P3 secara statistik hampir sama dengan kelompok K5 begitu juga ketebalan epitel kelompok P5 secara statistik hampir sama dengan kelompok K7. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dapat mempercepat pembentukan epitel pada kelompok perlakuan.

Faktor yang mungkin dapat mempengaruhi hal tersebut yaitu konsentrasi ekstrak yang tidak tepat. Proses penyimpanan yang kurang steril dapat menyebabkan gel terkontaminasi oleh bakteri sehingga pengaplikasian gel

menjadi tidak efektif. Saliva pada rongga mulut tikus yang tidak dapat dikontrol juga dapat menyebabkan gel yang telah teraplikasi terhapus oleh saliva dan dapat mempengaruhi hasil penyembuhan luka. Selain itu kondisi kesehatan tikus yang berbeda-beda dapat mempengaruhi tingkat resorpsi kandungan dalam gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) menjadi tidak maksimal.

Uji Korelasi *Pearson* digunakan untuk mengukur kekuatan dan arah hubungan linier dari dua variabel. Pada penelitian ini uji korelasi *Pearson* digunakan untuk mengetahui korelasi antara pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai variabel bebas dengan ketebalan epitel sebagai variabel tergantung. Hasil uji korelasi *Pearson* menunjukkan kekuatan korelasi sebesar 0.911 dengan arah korelasi positif. Korelasi positif menunjukkan arah hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat searah yakni bermakna bahwa semakin lama pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) maka semakin tinggi ketebalan epitel yang terbentuk.

Uji regresi dilakukan untuk mengetahui besarnya pengaruh variabel bebas dalam menyebabkan perubahan pada variabel terikat. Hasil uji regresi didapatkan koefisien determinasi *R square* (R) sebesar 0,831. Hal ini menunjukkan pengaruh pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap peningkatan ketebalan epitel sebesar 83,1%. Sisanya 16,9% merupakan faktor-faktor lain yang tidak diteliti yang juga mempengaruhi hasil penelitian.

Keterbatasan pada penelitian ini yang pertama berkurangnya sampel pada saat prosedur pembuatan preparat, sebaiknya dilakukan pemotongan dengan arah sagital dan transversal untuk mengetahui arah pemotongan preparat yang tepat. Keterbatasan kedua yaitu penelitian ini hanya menggunakan

satu konsentrasi gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) yaitu sebesar 28,57%, sehingga diperlukan eksplorasi dosis untuk menentukan besar dosis yang efektif. Keterbatasan ketiga yaitu kesulitan dalam mengontrol keadaan rongga mulut tikus sehingga gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) mudah terhapus oleh saliva. Keterbatasan keempat yaitu tidak adanya kelompok K0 yaitu kelompok tikus yang tidak dilakukan gingivektomi yang digunakan sebagai acuan ketebalan epitel normal pada tikus. Keterbatasan kelima yaitu tidak dilakukannya uji toksisitas mengingat keterbatasan waktu peneliti sehingga belum diketahui toksisitas dan biokompatibilitas gel tersebut. Apabila akan dilakukan aplikasi secara *oral base* pada manusia maka diperlukan uji toksisitas.

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) berpengaruh dalam mempercepat epitelisasi pada proses penyembuhan luka gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi. Sehingga hipotesis dalam penelitian ini dapat diterima.

BAB 7

PENUTUP

7.1. Kesimpulan

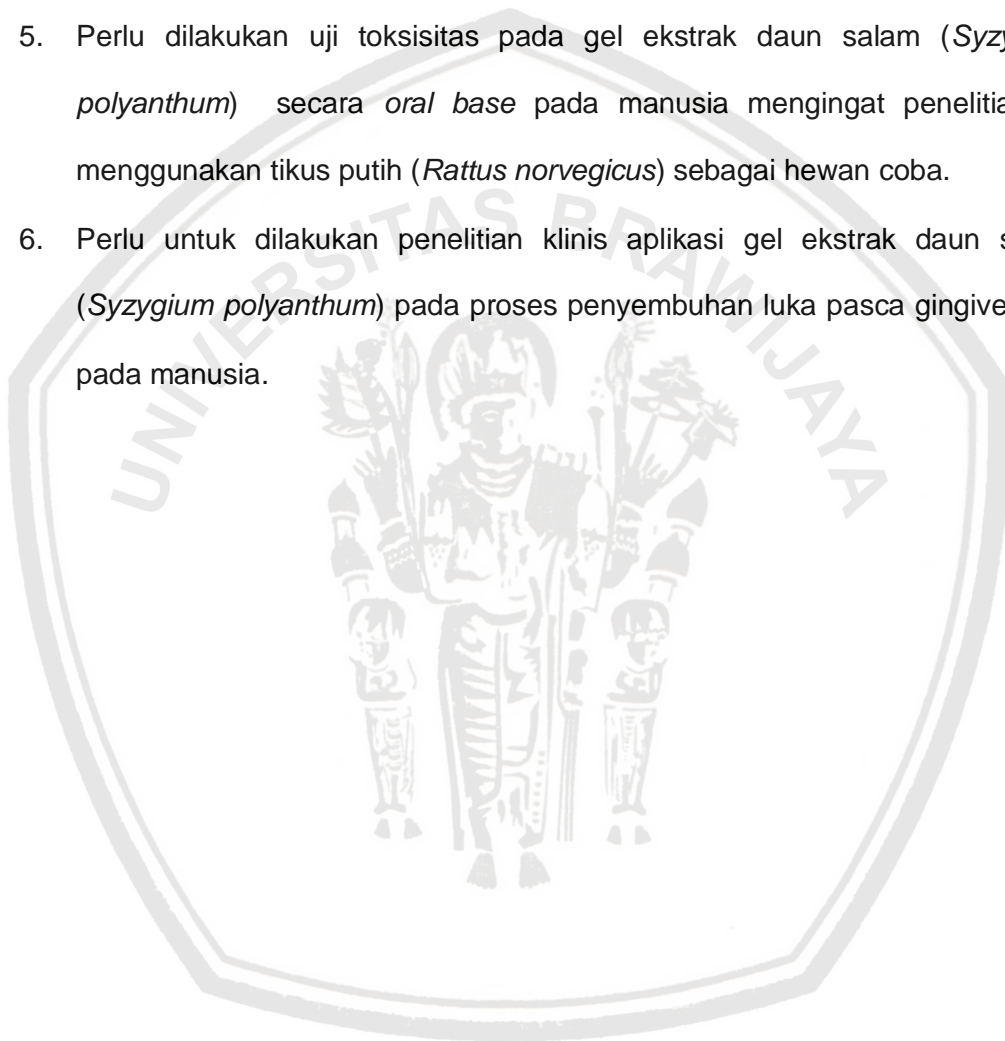
Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) memiliki pengaruh terhadap epitelisasi pada proses penyembuhan luka gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi.
2. Pengukuran dan perbandingan ketebalan epitel pada kelompok yang tidak diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) menunjukkan ketebalan epitel paling tinggi pada hari ketujuh, yaitu sebesar 91,39 μm .
3. Pengukuran dan perbandingan ketebalan epitel pada kelompok yang diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) menunjukkan ketebalan epitel paling tinggi pada hari ketujuh, yaitu sebesar 122,79 μm .
4. Analisis perbedaan ketebalan epitel yang terbentuk pada hari ke-3, 5, dan 7 secara keseluruhan menunjukkan kelompok yang diberikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) secara bermakna memiliki ketebalan epitel yang lebih tinggi daripada kelompok yang tidak diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*).

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan pembuatan preparat dengan arah sagital dan transversal untuk mengetahui arah pembedahan preparat yang tepat.
2. Perlu dilakukan penelitian dengan konsentrasi gel ekstrak daun salam yang berbeda-beda untuk mengetahui besar konsentrasi yang efektif.

3. Perlu dilakukan penelitian mengenai efek kondisi saliva pada rongga mulut tikus selama proses penyembuhan luka.
4. Perlu dilakukan penambahan kelompok K0 yaitu kelompok tikus yang tidak dilakukan gingivektomi sebagai acuan ketebalan epitel yang normal pada tikus.
5. Perlu dilakukan uji toksisitas pada gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) secara *oral base* pada manusia mengingat penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan coba.
6. Perlu untuk dilakukan penelitian klinis aplikasi gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada proses penyembuhan luka pasca gingivektomi pada manusia.



DAFTAR PUSTAKA

- Allen LV. 2011. The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding, 2nd Edition, 231-248, *American Pharmaceutical Association*, Washington D.C.
- Ansel HC. 2010. *Pengantar Bentuk sediaan Farmasi*. Edisi 4. UI Press. Jakarta. Halaman 96,147.
- Arvind K.S., Hardik J. S., Malika A.P., dan Komal N. 2010. Idiopathic Gingival Enlargement and Its Management. *Journal Indian Soc Periodontal*, 14(4):263-265.
- Atik N, Iwan JA.2012. *Perbedaan Efek Pemberian Topikal Gel Lidah Buaya (Aloe vera L) dengan Solusio Povidone Iodine Terhadap Penyembuhan Luka Sayat pada Kulit Mencit (Mus musculus)*. Bagian histologi, Fakultas Kedokteran Padjadjaran Bandung.
- Azlini, I., Amrah S.S., Mohamed M., dan Mohsin S.S.J. 2011. Hypotensive Effects Of Aqueous Extract Of *Eugenia polyantha* Leaves Are Partly Mediated Via Cholinergic Receptor. *16th National Conference on Medical and Health Sciences 2011*.
- Azwanida, N.N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4:3.
- Basuki, S., Mintaroem, K., Mudjiwiyono, Sarwono, I., Norahmawati, E., Anita, K. W., Becti, R.S., dkk. 2015. *Dasar-Dasar Patologi Umum dan Pemeriksaan Patologi*. Edisi 1. Malang: Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, hal. 24, 49-56.
- Campbell AN, Reece BJ, LG Mitchell.2010.*Biologi*.Jakarta: Erlangga
- Chandra, S. 2010. Textbook of Dental and Oral Histology and Embryology and Multiple Choiches Question, Jaypee Brothers Publisher, New Delhi, 97.
- Clerehugh V, Tugnait A, Genco RJ.2016.Periodontology at A Glance. Willey Blackwell; p. 10-1.
- Cohen, Edward, S. 2009. *Atlas of Cosmetic and Reconstrutive Periodontal Surgery, 3th Ed. Shelton, Connecticut* : People's Medical Publishing House.
- Dalimartha S. 2011. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jakarta : Puspa Swara
- David,K.,J Neetha,Shetty.,Swati,Pralhad. 2013. Periodontal Dressing : An Informed View. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Science*,26(26): 269-272
- Depkes RI, 2012.*Farmakolim Obat Herbal Asli Indonesia, Edisi IV, 7*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

- Fifendy, M. 2014. Inhibitory Power Test Of Medicinal Plants Extract Against Bacterial Growth Methicillin Resistant Strains Of *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proceeding Of International Conference On Research, Implementation And Education Of Mathematics And Science*.
- Hanafiah, K.A. 2014. Rancangan Percobaan Aplikatif. Jakarta: PT Grafindo Persada.
- Har, L. W., dan I. S. Safinar. 2012. Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoids of *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp Leaves. *Int. J. Med. Arom. Plant.*, 2 (2) : 219-228.
- Ismail, A., M. Mohamed, S. A. Sulaiman, dan W. A. N. W. Ahmad. 2013. Autonomic Nervous System Mediates the Hypotensive Effects of Aqueous and Residual Methanolic Extracts of *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. var. *polyanthum* Leaves in Anaesthetized Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.*, Vol. 2013.
- Joshi, U.H., T.H. Ganatra, P.N. Bhalodiya, T.R. Desai, dan P.R. Tirgar. 2012. Comparative Review on Harmless Herbs with Allopathic Remedies As Anti-Hypertensive. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. hlm: 679.
- Kim *et al.* 2011. Therapeutic Effect of Total Gingseng Saponin on Skin Wound Healing. *Journal of Gingseng Research*, Vol.35
- Kumar, P. and Sonowal, S. 2015. Idiopathic Gingival Enlargement and Its Management. *Journal of The International Clinical Dental Research Organization*, Vol 7(2) 146-150
- Kusuma, I. W., H. Kuspradini, E. T. Arung, F. Aryani, Y. Min, J. Kim, Y. Kim. 2011. Biological Activity and Phytochemical Analysis of Three Indonesian Medicinal Plants, *Murraya koenigii*, *Syzygium polyanthum* and *Zingiber purpurea*. *J Acupunct Meridian Stud.*, 4(1):75-79.
- Kusumawati D, 2016. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Lai. 2011. Potential Dermal Wound Healing Agent in *Blechnum Orientale* Linn. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11:62
- Lachman, C.L., Lieberman, H.A., Kanig, J.L., 2010. Teori dan Praktek Farmasi Industri. Edisi II. Diterjemahkan oleh Siti Suyatmi. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Leong, M., and Phillips, L.G., 2012, Wound Healing in Sabiston Textbook of Surgery, 19 th ed., Elsevier Saunders, Amsterdam, p. 984-992.

- Malik, A. & A. R. Ahmad. 2013. Antidiarrheal Activity of Etanolic Extract of Bay Leaves (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.). *Int. Res. J. Pharm*, 4(4)..
- Muafidah, N. 2009. Respon Pertumbuhan Stek Salam (*Eugenia polyantha*) Terhadap Lama Penyungkupan dan Pemberian Auksin. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. hal. 1.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemanasa Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan* Vo.l 7, P. 2.
- Neck JV, Tuk B, Barritault D, Tong M. 2012. *The book Tissue Regeneration - From Basic Biology to Clinical Application*. Heparan Sulfate Proteoglycan Mimetics Promote Tissue Regeneration: An Overview4:69-92.
- Newman. 2015. *Clinical Periodontology*, 12th Ed, Saunders Elsevier.
- Nurhalimah, H., N. Wijayanti, T. D. Widyaningsih. 2015. Efek Antidiare Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.) terhadap Mencit Jantan yang Diinduksi Bakteri *Salmonella thypimurium*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol 3 (3).
- Pastar I, Stojadinovic O, Yin NC, Ramirez H, Nusbaum AG, Sawaya A, et al., 2014. *Epithelialization in wound healing: a comprehensive review*. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 3:445–464.
- Paul D, et al. 2009. Chemical activation of cytochrome c proteins via crownether complexation: cold-active synzymes for enantiomer-selective sulfoxide oxidation in methanol. *J Am Chem Soc* 125(38):11478-9
- Peterson, C. and Seligman, M. E. P. 2010. Character strengths and virtues: A handbook of classification. Washington, DC: American Psychological Association/ New York: Oxford University Press.
- Prasetyo, B., Wlentarsih, I., Priosoeryanto, B. 2010. Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon dalam Proses Penyembuhan Luka pada Mencit. *Jurnal Veteriner*, Vol. 11 No.2 : 70-73
- Puspitawati, R. 2008. Struktur Makroskopik dan Mikroskopik Jaringan Lunak Mulut. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia*; 10 (Edisi Khusus) : 462-467.
- Robbins S. L., Kumar V., Cotran R. S. 2010. *Robbin's and Cotran Pathologic Basis of Disease*. 8 th Edition. USA: Elsevier Saunders.
- Saragih RAC. 2013. *Perbandingan histopatologis kolagen parut akne dengan terapi kombinasi microneedling dan subsisi antara yang disertai platelet rich plasma dengan disertai laruta salin fisiologis*. Tesis. Medan: Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Saraswaty, V. 2010. Alpha Glucosidase Inhibitory Activity From *Syzygium* Sp. *Jurnal Teknologi Indonesia*., 33 (1): 33–37.

- Sayuti, NA. 2015. Formulasi dan Uji Kestabilan Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata L.*). Jurnal Kefarmasian Indonesia Vol. 5. Poltekkes Kemenkes Surakarta, P. 78.
- Sinno H. Dan Satya P.2013. Complements and the Wound Healing Cascade: An Update Review. *Hindawi Journal*.Vol 2013.
- Studiawan, H., dan M. H. Santosa. 2010. Uji Aktivitas Penurun Kadar Glukosa Darah Ekstrak Daun *Eugenia polyantha* pada Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Media Kedokteran Hewan.*, 21 (2).
- Sulistiyani. Falah, S. Wahyuni, W. Sugahara, T. Tachibana, S. Syaefudin. 2014. Cellular Mechanism of the Cytotoxic Effect of Extracts from *Syzygium polyanthum* Leaves, *American Journal of Drug Discovery and Development*, 4: 90-101.
- Sumono, A. dan Wulan, S.D.A. 2009. Kemampuan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha W.*) dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus* sp. *Majalah Farmasi Indonesia*, 20(3), 112- 117.
- Taroreh, M., Raharjo, S., Pedji, H., Agnes, M. 2015. Ekstraksi Daun Gedi (*Abelmoschus manihot L*) secara Sekuensial dan Aktivitas Antioksidannya. *AgriTech*. 35(3): 280-287.
- Velnar T..Bailey., V Smrkolj. 2009. The Wound Healing Process: An Overview of The Cellular and Molecular Mechanism. *The Journal of International Medical Research*, 37: 1528-1542
- Voigt R.2009.*Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soendani NS, UGM Press, Yogyakarta.
- Wicaksono. 2013. Piperantha:Inovasi Terapi Kombinasi Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) dan Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap Aktivitas TERHADAP AKTIVITS FAS/FAS-L pada Regresi Pertumbuhan Kanker Serviks secara In Viro. Artikel.dikti.go.id/index.php/PKM-P/article/view/34/34. Diakses Februari 2017.
- Widharna, R. M., Ferawati, L. Hendriati, A. Surjadhana, A. Jonosewo, dan E.C Widjajakusuma. 2010. Antidiabetic properties of *Andrographis paniculata* and *Eugenia polyantha* Wight Leaves in Wistar Rats by Oral Glucose Tolerance Test. *The Journal of Indonesian Medicinal Plants* 3(2).
- Xiong J, LV Qin, Meng XF, He FF, Chen S, Su H., .2013.High seum uric acid and increased risk of type 2 diabetes: A systemic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *PLOS one*;8(2):e56-64.
- Young, A. and McNaught, C.E. 2011. The Physiology Of Wound Healing, Protein.*Surgery (Oxford)*. Vol. 13(1): 31-34.