



SKRIPSI

**Efek Gel *Nanoliposome* Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa L.*)
terhadap Ekspresi TGF- β pada Proses Penyembuhan Ulkus
Traumatik Mukosa Labial Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*)**

**Untuk Memenuhi Tugas
Mata Kuliah Metodologi
Penelitian Ilmiah 1**



**Oleh :
Novi Isnawati
NIM : 175160101111015**

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2020**



HALAMAN PENGESAHAN
SKRIPSI

**Efek Gel *Nanoliposome* Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa L*)
terhadap Ekspresi TGF- β pada Proses Penyembuhan Ulkus
Traumatik Mukosa Labial Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*)**

Oleh :

Novi Isnawati

175160101111015

Telah diujikan di depan Majelis Penguji

Pada tanggal 8 Januari 2021

Dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh

Gelar Sarjana dalam Bidang Kedokteran Gigi

Menyetujui,

Pembimbing

Dr. dr. Retty Ratnawati., M.Sc

NIP. 195502011985032001

Penguji I

drg. Diena Fuadiyah., M.Si

NIP 201 4058612292001

Penguji II

Dr. drg. Yuanita Lely R., M.Kes

NIP 197801282005012008

Malang,

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Gigi

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

drg. Citra Insany Irgananda, M.Med.Ed

NIP. 198606232015042001

**DAFTAR ISI**

Halaman Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	iv
Daftar Gambar	viii
Daftar Tabel	ix
Datar Singkatan dan Istilah	x
BAB I PENDAHULUAN	3
1.1 Latar Belakang	3
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan Umum	6
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat penelitian	6
1.4.1 Manfaat Akademik	6
1.4.2 Manfaat Praktisi	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Ulkus Traumatik	8
2.1.1 Definisi dan Etiologi	8
2.1.2 Gambaran Klinis Ulkus Traumatik	8
2.1.3 Gambaran Histopatologi Ulkus Traumatik	9
2.2 Penyembuhan Luka	9
2.3 Kortikosteroid Topikal	13
2.4 Rimpang Kunyit	13
2.4.1 Asal Tanaman	13
2.4.2 Taksonomi dan morfologi	14
2.4.3 Kandungan Kimia Kunyit	15
2.4.3.1 <i>Curcumine</i>	15
2.4.3.2 Minyak Atsiri	16
2.4.3.3 Flavonoid	16
2.4.3.4 Alkaloid	16
2.4.3.5 Saponin	16
2.4.3.6 Tannin	17



2.5 Ekstraksi.....	18
2.5.1 Definisi.....	17
2.5.2 Metode Maserasi.....	17
2.6 Gel.....	18
2.7 Nanopartikel.....	18
2.7.1 <i>Nanoliposome</i>	19
2.8 <i>Transmission Electron Microscopy</i> (TEM).....	20
2.9 <i>Particle Size Analyser</i> (PSA).....	21
2.10 Zeta Potensial.....	21
2.11 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	22

BAB III KERANGKA KONSEP PENELITIAN..... 23

3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	23
3.2 Hipotesis Penelitian.....	24

BAB IV METODE PENELITIAN..... 25

4.1 Rancangan Penelitian.....	25
4.2 Sampel Penelitian.....	25
4.3 Variabel Penelitian.....	26
4.3.1 Variabel Bebas.....	26
4.3.2 Variabel Terikat.....	26
4.3.3 Variabel Kontrol.....	26
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	26
4.5 Alat dan Bahan/Instrumen.....	27
4.5.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Kunyit.....	27
4.5.2 Alat dan Bahan Gel Nanoliposome Ekstrak.....	27
4.5.3 Alat dan Bahan Uji Karakterisasi.....	27
4.5.4 Alat dan Bahan Pemeliharaan Hewan Coba.....	27
4.5.5 Alat dan Bahan Induksi Termal.....	28
4.5.6 Alat dan Bahan Perlakuan Hewan Coba.....	28
4.5.7 Alat dan Bahan Pembedahan Hewan Coba.....	28
4.5.8 Alat dan Bahan Pembuatan Preparat.....	28
4.5.9 Alat dan Bahan Identifikasi TGF- β	28
4.6 Definisi Operasional.....	30
4.6.1 Gel Nanoliposome Ekstrak Kunyit.....	30
4.6.2 Ulkus Traumatik Mukosa Labial.....	30
4.6.3 Penghitungan TGF- β	30



4.7	Prosedur Penelitian	30
4.7.1	Pembuatan Ekstrak Kunyit	30
4.7.2	Pembuatan Gel Nanoliposome	31
4.7.2.1	Pembuatan Nanoliposome	31
4.7.2.2	Pembuatan Basis Gel	31
4.7.3	Uji Karakterisasi Nanoliposome	32
4.7.4	Persiapan Hewan Coba	32
4.7.5	Pembuatan Ulkus Traumatik	32
4.7.6	Pemberian Perlakuan Hewan Coba	32
4.7.7	Pembedahan Hewan Coba	32
4.7.8	Pembuatan dan Pengamatan Preparat	33
4.7.9	Penghitungan TGF- β	34
4.8	Analisa Data	34
4.9	Alur Penelitian	35
DAFTAR PUSTAKA		37



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kunyit (<i>Curcuma longa L.</i>)	6
Gambar 2.8 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	15
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	21
Gambar 4.1 Kerangka Rancangan Penelitian	23
Gambar 4.9 Kerangka Operasional Penelitian	36
Gambar 5.1 Hasil uji LC-MS kromatogram <i>curcumine</i>	39
Gambar 5.2 Diagram Kurva Kalibrasi Standar Quercetin	39
Gambar 5.3 Hasil Uji TEM	40
Gambar 5.4 Gambaran histologi TGF- β hari ke-3 dengan perbesaran 1000x	42
Gambar 5.5 Gambaran histologi TGF- β hari ke-5 dengan perbesaran 1000x	43
Gambar 5.6 Gambaran histologi TGF- β hari ke-7 dengan perbesaran 1000x	44

**DAFTAR TABEL**

Tabel 4.1 Rancangan Penelitian	25
Tabel 4.7.6 Pemberian Perlakuan Hewan Coba	32
Tabel 5.1 Hasil Uji PSA	40
Tabel 5.2 Hasil Uji Zeta Potensial	40
Tabel 5.7 Hasil Perhitungan Rata-rata TGF- β	46
Tabel 5.4 Hasil Uji Normalitas	47
Tabel 5.5 Hasil Uji Homogenitas	47
Tabel 5.6 Hasil Uji One Way ANOVA	48
Tabel 5.7 Hasil Uji Post Hoc Tukey Jumlah TGF- β	48



DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

TGF- β : *Transforming Growth Factor Beta*

TGF- α : *Transforming Growth Factor Alfa*

VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*

PDGF : *Platelet Derived Growth Factor*

EGF : *Epidermal Growth Factor*

FGF : *Fibroblast Growth Factor*

TNF- α : *Tumor Necrosis Faktor- α*

IL : *Interleukin*

Na-CMC : *Natrium Carboxymethyl Cellulose*

ANOVA : *Analysis of Variance*

**ABSTRAK**

Isnawati, Novi. 2020. Efek Gel Nanoliposome Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa L.*) terhadap Ekspresi TGF- β pada Proses Penyembuhan Ulkus Traumatik Mukosa Labial Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). Skripsi, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya, Malang. Pembimbing: Dr. dr Retty Ratnawati, M.Sc.

Ulser traumatik merupakan hilangnya seluruh epitel TGF- β berperan dalam proses inflamasi, reepitelisasi, dan *remodeling*. Ekstrak kunyit memiliki kandungan *curcumine*, minyak atsiri, flavonoid, saponin, dan tanin yang berperan dalam proses penyembuhan luka. *Nanoliposome* mampu memperlambat penetrasi obat sehingga paparan menjadi lebih efisien. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) terhadap ekspresi TGF- β pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus wistar (*Rattus norvegicus*). Metode penelitian *true experimental*. Objek penelitian adalah 36 ekor tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan dengan 9 kelompok yaitu 3 kelompok kontrol (K3, K5, K7) dan 6 kelompok eksperimen (P3A, P3B, P5A, P5B, P7A, P7B) dengan 3 *time series* yaitu hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7 setelah diinduksi panas. Variabel yang diteliti adalah jumlah TGF- β dari sediaan preparat histologis dengan pewarnaan Imunohistokimia. Analisis data menggunakan One way Anova menunjukkan perbedaan jumlah TGF- β antarkelompok signifikan pada hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7 ($p < 0,05$). Kesimpulan pada penelitian ini yaitu gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) memiliki efek terhadap peningkatan ekspresi TGF- β pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diamati pada hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7 pasca induksi panas.



ABSTRACT

Isnawati, Novi. 2020. The Effect of Turmeric (*Curcuma longa L.*) Extract Nanoliposome Gel on TGF- β Expression of Traumatic Ulcer Wound Healing Process of White Rats (*Rattus norvegicus*). Bachelor Thesis, Faculty of Dentistry, Brawijaya University, Malang. Supervisor: Dr. dr Retty Ratnawati, M.Sc.

Traumatic ulcer is a lesion of epithelium loss due to inflammation. TGF- β plays role in the inflammatory process, reepithelization, and remodeling. Turmeric extract contains of *curcumine*, essential oils, flavonoid, saponin, and tannin on the wound healing process. *Nanoliposome* is effective in drug penetration so that drug exposure to the target becomes ore efficient. The aim of this research is to understand the effectiveness of turmeric (*Curcuma longa L.*) extract *nanoliposome* gel on TGF- β expression of traumatic ulcer wound healing process of white rats (*Rattus norvegicus*). The method used in this research was *true experimental with randomized post test only control group design*. The objects are 36 male (*Rattus norvegicus*) rats divided into 9 groups; which are 3 control groups (K3, K5, K7) and 6 treatment groups (P3A, P3B, P5A, P5B, P7A, P7B) each on 3 time series, on day 3, day 5, and day 7 after heat induction. The variable tested were TGF- β total of traumatic ulcer in the inner lip mucosa measured by immunohistokimia stained histological slides. The data were analyzed using One Way Anova, showing that the TGF- β totals differs significantly between day 3, day 5, and day 7 groups ($p < 0,05$). It can be concluded from this research that turmeric (*Curcuma longa L.*) extract *nanoliposome* gel effects the TGF- β total expression of traumatic ulcer wound healing process of white rats (*Rattus norvegicus*) on day 3, day 5, and day 7 of heat induction



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mukosa oral merupakan suatu struktur yang beradaptasi dengan baik sehingga jaringan di bawahnya terlindung dari kerusakan mekanis dan masuknya mikroorganisme. Namun, struktur jaringan ini juga sangat rentan terjadinya ulkus yang disebabkan oleh trauma (Dehimi P *et al.*, 2016). Prevalensi ulkus traumatik di dunia relatif tinggi dibuktikan oleh beberapa peneliti yang menunjukkan hasil antara 3% dan 24% dalam populasi dan lokasi tertentu (Regezi JA, 2016). Selain itu, penelitian lain menunjukkan bahwa prevalensi ulkus traumatik mencapai 13,2% di Thailand dan 12,4% di Malaysia (Anura, 2014).

Menurut Harty dan Ogston (2013) ulkus merupakan keadaan kehilangan seluruh epitel sehingga jaringan ikat di bawahnya akan terbuka akibat suatu peradangan, sedangkan traumatik, adalah keadaan yang terjadi akibat suatu radang atau trauma. Ulkus traumatik sering terjadi pada mukosa mulut termasuk gingiva, pipi, langit-langit, lidah bibir dan dasar mulut (Swastirani A, *et al* 2019). Ulkus traumatik disebabkan oleh trauma baik secara fisik, termal, kimia, dan juga pemicu lainnya seperti infeksi (bakteri, virus, jamur), gangguan sistem imun, defisiensi zat makanan tertentu (Basri A. G *et al.*, 2015). Ulkus traumatik dapat menyebabkan rasa nyeri, kesulitan mulut untuk beraktifitas, dan dapat mengganggu proses mastikasi. Ulkus traumatik kronis disebabkan oleh tepi gigi tiruan yang tajam, restorasi, dan pemasangan gigi tiruan (Anura, 2014).

Proses penyembuhan luka merupakan proses yang sangat kompleks terdiri dari 4 fase yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan *remodeling*. Sel yang paling berperan dalam proses ini adalah makrofag, yang mensekresi sitokin proinflamasi dan antiinflamasi, serta *growth factors*, *fibroblast*, dan sekaligus



mensintesis kolagen yang mampu mengisi jaringan kembali seperti semula, kemudian diikuti sel-sel keratinosit yang membelah diri dan bermigrasi membentuk reepitelisasi dan menutup area luka (Khorsid, 2010). *Growth factor* seperti TGF- β yang dihasilkan oleh makrofag memiliki peran dalam proses inflamasi, pembentukan jaringan granulasi, reepitelisasi, pembentukan matriks, dan *remodeling* (Barrientos, 2008).

Penyembuhan ulkus traumatik umumnya menggunakan kortikosteroid topikal seperti *Triamcinolone acetonide* 0,1 % sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat fosfolipase A dan menekan IL- α sehingga mengurangi rasa sakit, mengurangi jumlah, dan mempersingkat durasi ulkus (Johan R, 2015). Tetapi kortikosteroid tidak berfungsi sebagai terapi kausal melainkan sebagai terapi paliatif yaitu hanya menghambat gejalanya (Levina L, 2013). Penggunaan *Triamcinolone acetonide* memiliki efek samping rasa gatal, bengkak, iritasi, kering, kemerahan, dan rasa terbakar (Budi, 2017). Selain itu, penggunaannya berefek kandidiasis oral dan mengubah kondisi flora normal pada rongga mulut. Obat kumur yang mengandung alkohol terbukti menimbulkan sensasi terbakar ketika berkontak dengan mukosa dan rasa kering pada mukosa mulut (Prasetyo A *et al*, 2019). Berdasarkan uraian mengenai efek samping dan kekurangan *Triamcinolone acetonide* tersebut, maka diperlukan bahan alami yang dapat merangsang percepatan penyembuhan ulkus traumatik, seperti kandungan yang terdapat dalam bahan herbal (*Curcuma longa L.*).

Seiring berkembangnya zaman, berbagai metode pengobatan tentunya juga ikut berkembang yang tidak lain bertujuan untuk mengoptimalkan serta mempercepat suatu penyembuhan. Salah satunya adalah dengan kemajuan penggunaan nanopartikel. Nanopartikel dikembangkan sebagai sarana yang digunakan dalam penyerapan obat dengan molekul kecil serta obat dan protein peptide dan asam nukleat. Karena ukurannya yang kecil inilah menyebabkan ekstrak mudah dan memiliki efisiensi penyerapan yang tinggi sehingga dapat menghantarkan obat lebih baik ke unit yang kecil dalam tubuh (Normani, 2016).



Salah satu metode untuk meningkatkan penetrasi dari obat dapat menggunakan sistem vesikular seperti *nanoliposome*, *transfersom*, *etosom*. *Nanoliposome* adalah vesikel lipid berskala nano ini merupakan teknologi baru untuk enkapsulasi dan pengiriman agen bioaktif. *Nanoliposome* memiliki sifat biokompabilitas dan biodegradabilitas yang baik didukung dengan ukurannya yang nano membuat *nanoliposome* memiliki aplikasi potensial dalam berbagai bidang termasuk nanoterapi. *Nanoliposome* mampu meningkatkan kinerja agen bioaktif dengan cara meningkatkan ketersediaan hayati, stabilitas *in vitro* dan *in vivo*, serta mencegah interaksi yang tidak diinginkan dengan molekul lain (Normani, 2016). *Nanoliposome* mampu memperlambat penetrasi dari obat yang dienkapsulasi sehingga menghasilkan paparan obat ke target menjadi lebih efisien.

Indonesia merupakan daerah tropis yang memiliki keanekaragaman tumbuhan. Tanaman herbal telah banyak digunakan oleh masyarakat sebagai alternatif untuk pengobatan dikarenakan bahan ini mudah didapat, relatif murah, dan efek sampingnya relatif rendah (Prasetyo A, *et al* 2018). Termasuk diantaranya adalah tanaman kunyit (*Curcuma longa L.*) yang mengandung zat aktif *curcumine* dan minyak atsiri sebagai antiinflamasi dan antibakteri, serta kaya kandungan kimia lainnya seperti flavonoid, saponon, dan tanin. Saponin akan mengaktifkan fungsi dari TGF- β , *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Epidermal Growth Factor* (EGF), dan *Fibroblas Growth Factor* (FGF). TGF- β dan FGF akan menstimulasi migrasi dan proliferasi fibroblas (Robbin 2007; Kimmura *et al.*, 2006). Tanin merupakan polifenol sebagai antibakteri dan antioksidan kuat, meningkatkan vaskularisasi dan proliferasi fibroblas, serta menginduksi TGF- β . Semakin banyak fibroblas yang terbentuk akan mempercepat penyembuhan ulkus traumatik dan metode ini dapat lebih dimaksimalkan efektivitasnya dengan merubah ukuran menjadi nanopartikel dalam bentuk *nanoliposome*.

Berdasarkan pemaparan diatas, penelitian ini bertujuan untuk menguji efek gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) dengan mengetahui bagaimana ekspresi TGF- β serta membandingkan aspek-aspek biomolekuler pada proses



penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus wistar (*Rattus norvegicus*) sehingga dapat memberikan informasi serta mengenai efek gel *nanoliposome* sebagai potensi dalam mekanisme terapi penyembuhan ulkus traumatik.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) memiliki efek terhadap peningkatan ekspresi TGF- β pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*).

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efek pemberian gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) terhadap peningkatan ekspresi TGF- β pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*).

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui kandungan ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) dengan menggunakan uji LC-MS.
2. Mengetahui uji karakterisasi gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) dengan menggunakan uji PSA, Zeta Potensial, dan TEM.
3. Menghitung rata-rata jumlah TGF- β pada mukosa labial tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang telah diinduksi termal antara, yang tidak diberikan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit maupun kortikosteroid topikal, yang diberikan kortikosteroid topikal, dan yang diberikan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7.
4. Menganalisa perbandingan jumlah TGF- β pada mukosa labial tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang telah diinduksi termal antara, yang tidak diberikan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit maupun kortikosteroid topikal, yang diberikan kortikosteroid topikal, dan yang diberikan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7.



1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat bagi akademik

1. Menambah ilmu pengetahuan baru di bidang kedokteran gigi.
2. Memperluas wawasan dan pengetahuan terhadap kegunaan tanaman obat kunyit (*Curcuma longa L.*) di bidang kedokteran gigi.
3. Menjadikan hasil penelitian ini sebagai referensi dalam ilmu pengetahuan yang berhubungan dengan proses penyembuhan ulkus traumatik dengan memanfaatkan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*).

1.4.2 Manfaat bagi praktisi

1. Dapat dijadikan pertimbangan dan dasar teori untuk menciptakan suatu inovasi baru dalam pemanfaatan *nanoliposome* ekstrak kunyit.
2. Bagi masyarakat, dapat memberikan informasi mengenai efek gel *nanoliposome* ekstrak kunyit sebagai potensi dalam mekanisme proses terapi pada penyembuhan ulkus traumatik.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ulkus Traumatik

2.1.1 Definisi dan Etiologi

Ulkus traumatik adalah lesi yang paling sering terjadi dan paling serius (Cahyati M *et al*, 2019), akibat cedera pada mukosa rongga mulut yang menyebabkan hilangnya permukaan epitelium kulit dan membran mukosa yang melibatkan jaringan ikat dibawahnya sehingga terbentuk ulserasi. Ulkus traumatik umumnya terjadi pada lidah, bibir, dan mukosa nukal (Ongole R, 2013).

Banyak faktor yang menyebabkan ulkus traumatik yaitu trauma mekanik, trauma kimia, trauma termal, dan trauma elektrik. Trauma mekanik biasanya disebabkan oleh bibir, pipi, dan lidah yang tergigit, malposisi, luka karena sikat gigi, tepi protesa yang tajam atau restorasi yang tajam, piranti ortodonti. Trauma kimia disebabkan oleh zat kimia meliputi etsa, hipoklorit dan nitrat silver, aspirin, fenol, TCA, formokresol, eugenol, *eucalyptus oil*, fosfor dan asetilsalisiklik dapat menyebabkan ulserasi mulut. Trauma termal dapat disebabkan oleh aplikasi instrumentasi yang panas, kontak dengan makanan atau minuman panas dan menyebabkan destruksi jaringan. Trauma elektrik aplikasi arus listrik pada jaringan mulut dapat menyebabkan destruksi dan ulserasi misalnya *galvanisme* (Ghon AG, 2014). *Electric burn* pada bibir dan komissura anak kecil yang tidak sengaja menggigit kabel listrik (Myers SL, 2014).

2.1.2 Gambaran Klinis Ulkus Traumatik

Ulkus traumatik dapat terjadi baik pada laki-laki maupun perempuan. Biasanya terjadi pada lidah, *mucobuccal fold*, gingiva, dan palatum. Gambaran ulkus lunak dan nyeri pada area lesi, ukurannya sedang dan berbentuk bulat, oval, elips, serta bisa datar atau sedikit cekung, margin lesi halo eritema. Permukaan terdiri dari



eksudat serosanginous atau serofibrinous keabu-abuan (Regezi, 2017).

2.1.3 Gambaran Histopatologi Ulkus Traumatik

Kehilangan kontinuitas pada permukaan epitelium. Permukaan ulkus ditutupi membran fibrinopurulen yang mengandung sel inflamatori akut bercampur dengan fibrin. *Stratified squamous epithelium* dari permukaan sekitar hiperplastik dan memperlihatkan area reaksi *aquamous atypia*. Dasar ulkus mendapat proliferasi jaringan granulasi dengan area edema dan infiltrasi sel inflamatori akut dan kronis (Blue CM, 2017).

2.2 Penyembuhan Luka

Luka adalah rusaknya jaringan oleh karena jejas atau sengaja dibuat karena tindakan medis (Mardiyantoro et al, 2018). Penyembuhan luka atau perbaikan jaringan merupakan suatu upaya tubuh untuk mengembalikan struktur dan fungsi jaringan setelah terjadi suatu jejas (Ningsih, 2018). Proses penyembuhan luka akibat jejas akan melalui beberapa fase, rangkaian fase penyembuhan luka akan diawali dengan proses hemostatis, dilanjutkan dengan inflamasi dan proliferasi, kemudian diakhiri dengan *remodeling*. Tahapan ini merupakan rangkaian yang saling tumpang tindih, yaitu memulai proses tanpa menunggu proses sebelumnya selesai (Mardiyantoro dkk, 2018).

Proses penyembuhan luka berperan penting untuk mencegah terjadinya invasi mikroorganisme dan agen infeksius lain ke dalam jaringan dan mencegah terjadinya inflamasi kronis berkepanjangan (Ningsih, 2018). Penyembuhan luka secara kompleks melibatkan banyak jalur rumit seperti jalur *growth factor*, interaksi epithelial dan mesenkimal, *hedgehog signaling pathway*, serta aspek molekuler lainnya (Mardiyantoro dkk, 2018).



Fase Hemostatis

Setelah terjadinya luka, maka sel endotel pada pembuluh darah akan mengalami kerusakan. Sekitar 5-10 menit awal akan terjadi intensitas vasokonstriksi diikuti vasodilatasi karena permeabilitas pembuluh darah meningkat (Mackay dan Miller, 2003). Keluarnya darah dari vaskuler dengan terjadinya vasokonstriksi pembuluh darah akan mulai terjadinya pembekuan darah (*coagulation cascade*) merupakan awal dari mekanisme hemostatis (Mardiyantoro dkk, 2018). Terjadinya pembentukan *platelet plug* di dalam matriks fibrin-fibrinogen yang berperan penting dalam fase ini, platelet berperan dalam melepaskan *growth factor*, sitokin dan kemokin di dalam granular interseluler yang dapat memicu migrasi dan proliferasi seluler yang akan terjadi pada fase selanjutnya (Ningsih, 2018).

Fase Inflamasi

Proses inflamasi merupakan bentuk pertahanan jaringan terhadap suatu jejas yang akan berlangsung kronis dimana terjadi peningkatan mediator proinflamatori dan menurunnya proliferasi fibroblas sebagai faktor kunci pada tahap pembentukan jaringan granulasi, yang berfungsi menjaga kekuatan jaringan pada tahap akhir penyembuhan (*remodeling*) melibatkan fungsi darah dan pembuluh darah, saraf, limfe, cairan interstisial serta sel-sel di sekitar daerah jejas (Hidayat dkk. 2018). Fase ini dimulai sejak terjadinya luka hingga hari ke lima (Perdanakusuma, 2015). Pada kondisi normal, inflamasi terjadi pada hari ke-1 sampai hari ke-3 setelah terjadinya luka (Mardiyantoro dkk, 2015). Sitokin proinflamasi akan mengaktifasi neutrophil keluar dari kapiler pembuluh darah pada hari ke-2, selanjutnya akan terjadi migrasi monosit ke area lesi dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Infiltrasi makrofag akan dipicu oleh limfosit yang berperan sebagai pelepasan sitokin yang mempengaruhi proses inflamasi dalam membantu agregasi dan kemotaksis makrofag ke tempat inflamasi (Arisa dkk, 2014).



Neutrofil yang sudah tidak berfungsi dieliminasi oleh makrofag sebagai fagositosis di area jejas. Saat proses inflamasi, makrofag memiliki daya fagositosis lebih tinggi dari neutrophil dan membersihkan jaringan nekrotik dan mikroorganisme patologis, sehingga pada fase ini jumlah makrofag akan meningkat (Sura dkk, 2015 dan Hidayati dkk, 2013). Makrofag memiliki 2 fenotip tergantung aktivasinya, fenotip pertama M1 yang bersifat proinflamatoris bersifat dominan ada awal penyembuhan luka. Sedangkan fenotip M2 sebagai aktivasi alternatif atau makrofag reparatif yang memiliki sifat dominan pada tahap selanjutnya. Makrofag juga akan melepaskan growth factor seperti PDGF, TGF- β , dan VEGF yang memicu jaringan baru (Ningsih, 2018).

Fase Proliferasi

Tahapan proliferasi jaringan luka terjadi saling tumpang tindih dengan fase inflamasi. Fase proliferasi bertujuan mengurangi area lesi dengan membentuk penghalang epitel untuk mengaktifkan keratinosit. Selama proliferasi akan terjadi angiogenesis, proliferasi epitel, migrasi fibroblas, serta pembentukan jaringan granulasi. Fase proliferasi dimula pada akhir fase inflamasi sekitar dan akan berlangsung rata-rata 2-4 minggu (Mardiyantoro dkk, 2018 dan Perdanakusuma, 2015). Rangsangan awal untuk proliferasi dan migrasi sel epidermis akan melibatkan EGF, TGF- α , IL-1 dan TNF- α yang dilepaskan oleh makrofag aktif (Mardiyantoro dkk, 2018). Dimulai dari terbentuknya jaringan granulasi yang terjadi setelah empat hari terjadinya jejas. Pada proses ini terjadi peningkatan proliferasi fibroblas dan biosintesis kolagen yang akan membentuk kerangka jaringan.

Fibroblas dirangsang oleh *growth factor* PDGF, TGF- β dan VEGF yang akan menghasilkan matriks ekstraseluler. Faktor pertumbuhan keratinosit KGFs dan IL-6 yang dilepaskan fibroblas berperan pula dalam migrasi keratinosit dan berdiferensiasi menjadi epitel. Migrasi keratinosit yang menyebabkan proses epitelisasi dalam menutupi permukaan luka (Mardiyantoro dkk, 2018 dan Perdanakusuma, 2015). Epitelisasi dimulai dari tepi luka yang



mengalami proses migrasi yang membentuk lapisan tipis dengan sel yang sangat rentan dan mudah rusak. Sel mengalami kontraksi sehingga tepi luka menyatu dan ukuran luka mengecil (Arisanty, 2013).

Migrasi sel epitel juga dikontrol oleh mediator terlarut lain meliputi sitokin dan kemokin serta *epidermal growth factor receptor* (EGFR) yang berperan dalam regulasi keratinosit. Setelah sel epitel bermigrasi menutupi area luka, keratinosit membentuk hemidesmosom ke lamina basalis dan terjadi regenerasi membran basalis yang melibatkan sel jaringan ikat (Ningsih, 2018). Pada fase proliferasi juga terjadi angiogenesis yaitu terjadi proses proliferasi endothelial seluler. Pembuluh darah yang rusak akan digantikan dengan pembuluh darah baru yang diawali dengan pembuluh darah kapiler.

Deposisi matriks membentuk sel endotelial akan mempengaruhi stabilitas pembuluh darah baru yang akan dibentuk (Mardiyantoro dkk, 2018). Beberapa faktor dapat menginduksi angiogenesis, beberapa diantaranya *basic fibroblast growth factor* (bFGF) dan *vascular endotel growth factor* (VEGF) (Perdanakusuma, 2015). Dengan akumulasi kolagen angiogenesis berhenti dan densitasnya jaringan mikrovaskuler berkurang. Bila homeostatis antara sintesis kolagen dan degradasi tercapai, *remodeling* jaringan akan dimulai.

Fase Remodeling

Tahapan terakhir penyembuhan luka yang akan dimulai sejak satu minggu setelah dan akan berlangsung satu tahun atau lebih (Kumar et al, 2013). Fase ini ditandai dengan terdapatnya remodeling jaringan dan kolagen, maturasi epidermis, dan pengerutan luka (Sabirin dkk, 2013). Fase remodeling berperan dalam mengendapkan kolagen dalam jaringan yang terorganisir. Selama fase ini, sel-sel makrofag, sel-sel endotel, fibroblas, myofibroblas akan mengalami apoptosis atau keluar dari area luka



dan meninggalkan massa yang terdiri sebagian kolagen dan protein matriks lainnya (Mardiyantoro dkk, 2018).

Myofibroblas berperan penting dengan menyekresikan dan mengorganisasi komponen matriks ekstraseluler melalui remodeling jaringan. Myofibroblas dapat berasal dari fibroblas dalam jaringan tersebut, dari *mesenchymal stem cell* yang terletak di lamina propria mukosa rongga mulut, perisit, fibrosit, serta dapat berasal dari sel epitel yang mengalami transformasi akibat pelepasan *growth factor* di area luka. Remodeling matriks ekstraseluler akan meningkatkan adhesi matriks sel dan kapabilitas kontraktil sel sehingga terjadi desposisi dan ikatan silang kolagen yang menyebabkan kekakuan luka dan secara berkepanjangan dapat terjadi fibrosis (Ningsih, 2018).

2.3 Kortikosteroid Topikal

Kortikosteroid topikal adalah obat yang sering diresepkan dan digunakan untuk pasien dermatologi. Kortikosteroid adalah hormon steroid yang diproduksi oleh korteks kelenjar adrenal atau secara sintetik. Hormon ini memainkan peran penting termasuk mengontrol respon inflamasi (Johan, 2015). Dengan berjalannya waktu, kortikosteroid ini dikembangkan menjadi kortikosteroid topikal, dimana kortikosteroid topikal yang pertama kali 1952 dalam bentuk hidrokortison berhasil dalam menangani kasus dermatitis. Pada tahun 1960 dikembangkan senyawa berfluorinasi yang lebih kuat dibandingkan hidrokortison yaitu flumetason, flurandenolon, dan triamsinolon. Triamsinolon berperan penting mengobati luka dalam rongga mulut, yaitu *triamsinolone acetone* yang merupakan derivat triamsinolon yang lebih kuat. Obat ini berperan sebagai antiinflamasi yang digunakan secara topikal untuk mengobati ulser dalam rongga mulut (Dym, 2016).

2.4 Rimpang Kunyit

2.4.1 Asal Tanaman

Kunyit (*Curcuma longa L.*) adalah tanaman yang berasal dari Asia Tenggara. Tanaman ini banyak dibudidayakan di Asia Tenggara khususnya India, Cina Selatan, Taiwan, Indonesia (Jawa),



dan Filipina (Hapsoh, 2011). Kunyit (*Curcuma longa L.*) dikenal juga dengan *Curcuma domestica val.* Kata *curcuma* berasal dari bahasa Arab *kurkum* dan bahasa Yunani *karkom*. Pada tahun 77-78 SM, Dioscorides menyebut tanaman ini sebagai *Cyperus* yang menyerupai jahe, tetapi pahit, kelat, dan sedikit pedas, tetapi tidak beracun. Kunyit termasuk golongan *zingiberaceae* dan bersifat tahunan (perennial) yang banyak ditemukan di wilayah tropis termasuk Indonesia. Kunyit memiliki banyak nama lokal seperti *hunik* (Batak), *kunir* (Jawa), *cahang* (Kalimantan), *kakunye* (Sumatera), *uinida* (Sulawesi), *kurlai* (Maluku), *kandefaihu* (Irian), *awahulu* (Gorontalo) (Portumuan, 2019).



Gambar 2.1.1 Kunyit (*Curcuma longa L.*)

2.4.2 Taksonomi dan Morfologi

Menurut Hapsoh dan Rahmawati 2008 taksonomi kunyit adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae* (tumbuh-tumbuhan)

Divisi : *Spermatophyta* (tumbuhan berbiji)

Subdivisi : *Angiospermae* (berbiji tertutup)

Kelas : *Monocotyledoniae* (biji berkeping satu)

Ordo : *Zingiberales*

Family : *Zingiberaceae*



Genus : *Curcuma*

Spesies : *Curcuma Longa Linn*

Tanaman kunyit tumbuh berumpun dengan tinggi 40-100 cm. batang merupakan batang semu, tegak bentuk bulat, tersusun dari pelepah daun. Daun tunggal, bentuk bulat terulur memanjang hingga 10-40 cm, lebar 8-12,5 cm dan pertulangan menyirip dengan warna hijau pucat. Ujung dan pangkal daun runcing tepi daun rata. Bunga majemuk berambut dan bersisik panjang 10-15 cm dengan mahkota panjang sekitar 3 cm dan lebar 1,5 cm, berwarna putih atau kekuningan, kulit luar rimpang berwarna jingga kecoklatan, daging buah merah jingga kekuning-kuningan (Hapsah, 2011).

Rimpang atau akar tunggal berbentuk bulat memanjang dan memiliki akar serabut. Rimpang kunyit memiliki dua bagian tanaman rimpang induk dan tunas atau rimpang cabang. Rimpang utama biasanya ditumbuhi tunas-tunas yang tumbuh ke arah samping. Kulit rimpang berwarna jingga kecoklatan. Warna daging jingga kekuningan dengan bau khas dan rasanya agak pahit. Rimpang cabang akan berkembang secara terus-menerus membentuk cabang-cabang baru dan batang semu sehingga pada akhirnya terbentuk rumpun.

2.4.3 Kandungan Kimia Kunyit

Tanaman kunyit (*Curcuma longa L.*) memiliki kandungan metabolit sekunder yang memiliki berbagai fungsi biologis yang bermanfaat bagi manusia (Duraiankrar & Ravindran, 2015). Kandungan kimia yang terdapat pada kunyit terdiri dari minyak atsiri 4,2-14%, minyak lemak 4,4-14,2%, dan senyawa kurkuminoid 60-70% (Simanjuntak, 2012). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari ekstrak kloroform dan metanol rimpang kunyit mengandung alkaloid, saponin, steroid, tanin, antosianin, emodins, flavonoid, diterpen, phistoterol, fenol, dan phlobatanin. Selain itu, rimpang kunyit juga mengandung senyawa gom, lemak, protein, kalsium, fosfor, dan besi (Kristina *et al.*, 2010).



2.4.3.1 Curcumine

Curcumine yang terkandung dalam kurkuminoid berpotensi sebagai antibakteri baik Gram positif maupun bakteri Gram negatif, seperti *Streptococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *E.coli*, *Salmonella typhi*, dan sebagainya (Aggarwa dan Harikumar, 2009). Menurut Çıkırıkcı et al (2008) kurkumin dapat menghambat bakteri *E. coli* dengan cara menghambat aktivitas enzim siklooksigenase-2 (cox-2) yang mengubah asam arakhidonat menjadi prostaglandin. *Curcumine* yang terkandung di dalam kunyit mampu mempercepat penyembuhan luka, reepitelisasi, menekan radang, meningkatkan densitas kolagen jaringan serta meningkatkan proliferasi dari fibroblas (Partomuan, 2009).

2.4.3.2 Minyak Atsiri

Minyak atsiri pada ekstrak kering kunyit berpotensi sebagai agen antibakteri terhadap *E.coli* sebesar 12,6-2,11 mm dibandingkan standar antibiotik. Minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak atau mengganggu terbentuknya membran sel sehingga membran sel tidak terbentuk atau terbentuk tetapi tidak sempurna (Priyanka et al., 2015).

2.4.3.3 Flavonoid

Kandungan senyawa kimia rimpang kunyit dengan pelarut air antara lain alkaloid, tanin, flavonoid, glikosida, dan karbohidrat (Gupta et al 2015). Flavonoid dapat mengganggu pembentukan dinding sel dan membran sel sehingga komponen penting seperti protein, asam nukleat, dan nukleotida akan lisis (Dewi 2015). Dari hasil studi klinik dan eksperimen, flavonoid dapat meningkatkan vaskularisasi dan menurunkan oedem (Marwati, 2014).



2.4.3.4 Alkaloid

Alkaloid berkhasiat sebagai anti diare, anti diabetes, anti mikroba, dan anti malaria (Apriliana, 2016). Alkaloid bersifat basa, sehingga dapat mengganti basa mineral dalam mempertahankan keseimbangan ion dalam tumbuhan, faktor pengatur pertumbuhan dan senyawa simpanan yang mampu menyuplai nitrogen dan unsur-unsur lain yang diperlukan tanaman (Wink, 2008).

2.4.3.5 Saponin

Menurut Gunawan (2004) dalam Damayanti (2018) saponin adalah senyawa glikosida yang hamper ada ppada banyak tumbuhan, saponin terdiri dari sapogenin yaitu bagian yang bebas dari glikosida disebut "*aglycone*" dan sapogenin yang mengikat sakarida. Saponin memiliki diversifikasi struktur sifat fisikokimia dan efek biologisnya. Senyawa-senyawa saponin tertentu dengan sifat surfaktan dapat menyebabkan lisis dinding sel protozoa sehingga dapat digunakan sebagai defaunasi protozoa (Cheeke, 2000). Saponin yang banyak terkandung dalam tumbuhan tingkat tinggi telah lama digunakan sebagai pengobatan tradisional (Deore *et al.*, 2009;Wink, 2015).

2.4.3.6 Tannin

Tannin merupakan golongan senyawa polifenol (Deaville *et al.*, 2010). Tanin merupakan polifenol yang memiliki kemampuan menginduksi TGF- β . Tanin memiliki sifat antiinflamasi dan antibakteri yang kuat, serta mampu meningkatkan vaskularisasi dan proliferasi fibroblast (Khan *et al.*, 2012). Semakin banyak fibroblast yang terbentuk akan mempercepat proses penyembuhan luka.

2.5 Ekstraksi

2.5.1 Definisi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan pelarut. Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan, dan kecuali ikatan lain berupa bahan yang telah dikeringkan (Ditjen



POM, 2000). Ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua hamper seluruh pelarut diuapkan (Ditjen POM, 2000).

2.5.2 Metode Maserasi

Dalam pemilihan metode ekstraksi perlu diperhatikannya sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Metode yang paling sederhana dan paling banyak digunakan adalah metode maserasi. Metode maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Rameserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan masert pertama dan seterusnya (Ditjen POM, 2000).

Proses ekstraksi dihentikan apabila sudah tercapai keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam tanaman. Setelah proses ekstraksi pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhriani, 2014). Keuntungan cara ini mudah dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak dan terurai (Susanty dkk, 2016). Adapun kerugian dari teknik ini adalah memakan banyak waktu dan pelarut yang digunakan cukup banyak dan besar kemungkinan beberapa senyawa akan hilang dan ada beberapa senyawa yang akan sulit diekstraksi pada suhu kamar (Mukhriani, 2014).

2.6 Gel

Gel dapat didefinisikan sebagai sediaan semi padat yang terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel organik kecil atau besar, berpenetrasi oleh suatu cairan. Gel adalah sistem semi padat yang pergerakan medium pendispersinya terbatas oleh sebuah jalinan jaringan tiga dimensi dari partikel-partikel atau makromolekul yang terlarut pada fase pendispersi (Allen *et al.*, 2002).



Zat-zat pembentuk gel digunakan sebagai pengikat dalam granulasi, koloid pelindung dalam suspensi, pengental untuk sediaan oral, dan sebagai basis supositoria. Sediaan gel secara luas banyak digunakan sebagai produk obat-obatan, kosmetik, makanan, dan beberapa proses industri (Herdiana, 2007).

2.7 Nanopartikel

Nanopartikel adalah partikel yang berukuran 10-1000 nm terdiri dari bahan polimer alami maupun sintetis, dapat digunakan sebagai pembawa obat dengan cara melarutkan, memerangkap, mengenkapsulasi, menjerap atau menempelkan zat aktif (Mohanraj & Chen, 2006). Pada sediaan farmasi, nanopartikel dapat berupa sistem obat dalam matriks seperti nanosfer dan nanokapsul, *nanoliposome*, nanoemulsi, dan sebagai sistem yang dikombinasikan dalam perancah (*scaffold*) dan penghantaran transdermal.

Beberapa dekade ini, penelitian dan perkembangan nanoteknologi berkembang sangat pesat. Dengan pemanfaatan nanopartikel obat dapat dimasukkan ke dalam sistem tanpa adanya reaksi kimia dan sistem nanopartikel dapat diterapkan untuk berbagai sasaran pengobatan karena nanopartikel masuk ke dalam sistem peredaran darah dan dibawa oleh darah menuju target pengobatan. Pengcilan ukuran pada nanopartikel menyebabkan peningkatan luas permukaan sehingga menyebabkan kelarutannya meningkat yang berakibat pula pada bioviabilitas dan efektivitasnya (Laili dkk, 2015).

Nanopartikel memiliki beberapa kelebihan yaitu adanya kemampuan untuk menembus ruang antar sel yang hanya dapat ditembus ukuran partikel koloidal (Buzea *et al.*, 2007), kemampuan untuk menembus dinding sel yang lebih tinggi baik melalui difusi maupun opsonifikasi dan fleksibilitasnya untuk dikombinasikan dengan berbagai teknologi lain sehingga membuka potensi luas untuk dikembangkan pada berbagai keperluan dan target. Kelebihan lainnya adalah adanya peningkatan afinitas dari sistem karena adanya peningkatan luas permukaan kontak pada jumlah yang sama (Kawashima, 2000).



2.7.1 *Nanoliposome*

Pada sistem penghantaran transdermal atau topikal untuk meningkatkan penetrasi dibutuhkan untuk obat yang memiliki sifat yang menyerupai kulit atau mukosa yang dituju. Salah satu caranya yaitu dengan menggunakan sistem vesikular yaitu liposome, transfersome, etosom. Liposome dikenal sebagai *carrier system* untuk pelindung dan sebagai sistem pembawa dari berbagai material yang berbeda. Liposome terdiri dari satu atau lebih lipid konsentris atau non-konsentris dan/atau fosfolipid dan dapat mengandung molekul lain seperti protein didalamnya. Mereka dapat tunggal atau multilamellar, berkenaan dengan jumlah bilayer yang dikandungnya dan dapat mengakomodasi senyawa hidrofilik, lipofilik, dan antifilik dalam kompartemen berair dan/atau lipid. Namun jika hanya memperbaiki dalam penghantaran obat transdermal, liposome konvensional tidak efisien, dalam penghantaran penetrasi yang lebih dalam ke kulit. Maka dari itu adanya perkembangan, penelitian elastis yang lebih mudah menembus ke dalam kulit yaitu *nanoliposome*.

Nanoliposome adalah vesikel lipid berskala nano yang merupakan teknologi baru untuk enkapsulasi dan pengiriman agen bioaktif. *Nanoliposome* mampu memperlambat penetrasi dari obat yang dienkapsulasi, sehingga menghasilkan paparan obat ke target menjadi lebih efisien. Hal tersebut terjadi karena adanya keterlibatan fosfolipid yang memiliki kemiripan dengan membran sel. Fosfolipid adalah molekul amfilitik yang terdiri dari kepala hidrofilik dan ekor yang hidrofobik. Karena sifatnya yang amfilitik memungkinkan penyegelan liposom yang menjadikannya sistem pengiriman yang ideal. Adanya penggabungan *nanoliposome* dan fosfolipid dapat menghasilkan molekul lain seperti sterol, dalam strukturnya sterol yang paling banyak digunakan dalam pembuatan vesikel lipid adalah kolesterol (Chol). Kolesterol digunakan dalam struktur yang bertujuan untuk meningkatkan stabilitas vesikel dengan memodulasi fluiditas lipid bilayer. Keuntungan *nanoliposome* sebagai yaitu dapat meningkatkan kelarutan dan stabilitas obat *in vivo* untuk meningkatkan karakteristik fisikokimia dan meningkatkan kinetika dan biodistribusi *in vivo*, menurunkan tingkat toksisitas obat,



dapat ditargetkan ke bagian tubuh lainnya dengan formulasi yang berbeda, dan dapat meningkatkan aktivitas terhadap patogen ekstraseluler untuk mengatasi terjadinya resistensi obat. *Nanoliposome* dapat dibuat dengan metode sonikasi, metode ini adalah metode sederhana untuk mengurangi ukuran liposom dan pembuatan *nanoliposome* (Jesorka Orwar, 2018).

2.8 *Transmission Electron Microscopy* (TEM)

(TEM) *Transmission Electron Microscopy* telah lama menjadi alat penting untuk menggambarkan dan memahami struktur material. Dalam TEM, berkas elektron berenergi tinggi ditransmisikan melalui specimen tipis. Berkas yang dihasilkan dapat disimpulkan dan dianalisis dengan cara yang berbeda. Seperti misalnya menggunakan detector medan gelap annular sudut tinggi (HAADF) untuk menghasilkan gambar sensitive nomor atom, atau jumlah kehilangan energy elektron untuk menghasilkan spektrum karakteristik (spektroskopi kehilangan energy elektron, EELS) terdapat dua persyaratan penting untuk teknik ini yaitu kolom TEM perlu dipertahankan pada vakum tinggi setidaknya 10^{-5} Pa untuk meminimalkan hamburan berkas elektron yang tidak diinginkan dan kontaminasi sampel. Syarat lain yaitu mengenai kebutuhan specimen menjadi cukup tipis untuk ditembus elektron, biasanya dalam ratusan nanometer untuk pencitraan skala nano. Untuk spesimen fase cair menggunakan cairan bertekanan uap rendah (Shengda Pu, *et al* 2015).

2.9 *Particel Size Analyzer* (PSA)

Particle Size Analyzer adalah alat yang digunakan untuk mengukur ukuran dan distribusi partikel dari bentuk sediaan larutan, suspensi, emulsi, dan bubuk kering (Horiba, 2010). Ukuran tersebut dinyatakan dalam jari-jari untuk partikel yang berbentuk bola dan juga partikel distribusi ukuran dapat dihitung sebagai angka atau volume distribusi massa (Horiba, 2014 dalam Abdassah, 2017). Metode yang sering digunakan dalam *Particle Size Analyzer* antara lain *Dynamic Light Scattering* (DLS), *Statis Light Scattering* (SLS),



NMR, turbidimetri, dan sebagainya (Abdassah, 2017). Metode yang dapat digunakan pada *Particle Size Analyzer* adalah metode yang menggunakan prinsip *Photon Correlation Spectroscopy* dan *Electrophoretic Light Scattering*. Rentang pengukuran dengan *Particle Size Analyzer* adalah yaitu $0,6 \mu\text{m}$ - 7nm (Abdassah, 2017). Konsepnya adalah partikel kecil dalam suspensi adalah bergerak dengan pola secara acak, kemudian disinari sinar laser (Abdassah, 2017).

2.10 Zeta Potensial

Zeta potensial adalah istilah ilmiah untuk potensi elektrokinetik dalam sistem koloid yang memiliki efek besar pada berbagai sifat sistem nano drug delivery. Istilah ini menunjukkan perbedaan potensial antara media dispersi dan lapisan stasioner cairan yang melekat pada partikel yang terdispersi. Meskipun zeta potensial tidak sama dengan *stern* potensial atau permukaan elektrik potensial pada lapisan ganda, hal ini sering menjadi satu - satunya jalan yang tersedia untuk karakterisasi sifat lapisan ganda (Honary dan Zahir, 2013).

2.11 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau biasa dikenal dengan nama lain *Norway rat* berasal dari wilayah cina dan menyebar ke Eropa bagian barat (Sirosis, 2005). Pada wilayah Asia Tenggara hewan ini berkembang biak di Indonesia, Filipina, Malaysia, Laos, dan Singapura (Adiyati, 2011).



Gambar 2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)



Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Animalia*

Filum : *Chordata*

Kelas : *Mamalia*

Ordo : *Rodentia*

Famili : *Muridae*

Genus : *Rattus*

Spesies : *Rattus norvegicus*

Galur/strain : *Wistar*

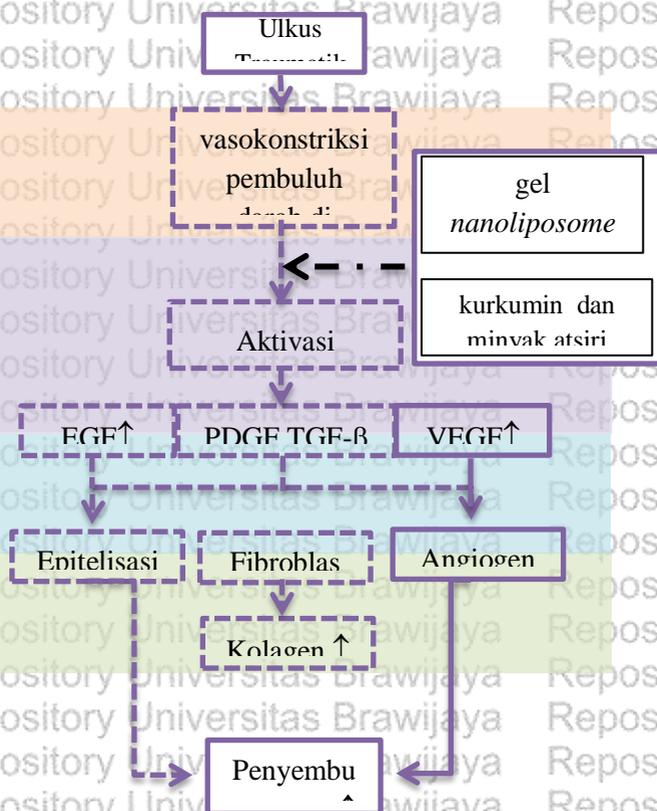
Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji coba penelitian diantaranya perkembangbiakan cepat, memiliki ukuran yang lebih besar dari mencit, mudah dipelihara dalam jumlah banyak. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri morfologis seperti pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap arsenik tetroksid (Akbar, 2010).



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan

: Variabel yang tidak diteliti

: Variabel yang diteliti

: Meningkat

: Fase Hemostatis

: Fase Inflamasi

: Fase Proliferasi

Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian

Proses penyembuhan luka terdiri dari beberapa tahap yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan *remodeling*. Pada saat jaringan terluka, akan terjadi pendarahan. Platelet mengalami agregasi sehingga terjadi proses hemostasis. Agregasi *platelet* mengeluarkan *adenosine diphosphate* sehingga terbentuk *thrombin* melalui jalur koagulasi. Agregasi *platelet* melekat pada dinding pembuluh darah sehingga mengakibatkan perdarahan terhenti. *Thrombin* akan menstimulasi pengeluaran mediator inflamasi yang kemudian terjadi fase inflamasi (Mardiyantoro dkk, 2018).

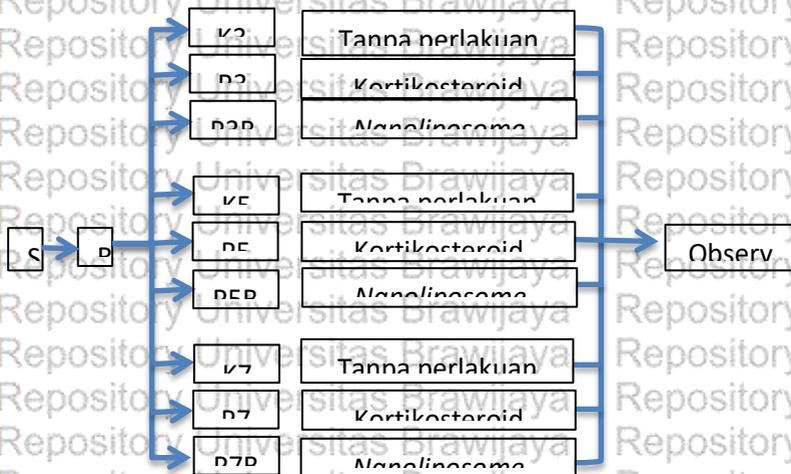
Kunyit (*Curcuma longa L*) mengandung beberapa senyawa kimia yang dapat berefek pada proses penyembuhan luka. Senyawa tersebut yaitu flavonoid, saponin, dan tanin. Flavonoid berfungsi sebagai antiinflamasi dengan menghambat sintesis dan aktivitas proinflamasi yang dapat membantu meningkatkan aktivitas makrofag. Tanin merupakan polifenol yang memiliki kemampuan untuk menginduksi TGF- β . Tanin memiliki fungsi sebagai antioksidan dan antibakterial yang kuat, serta meningkatkan vaskularisasi dan proliferasi fibroblas. Saponin dapat memacu pertumbuhan kolagen dalam proses penyembuhan luka. Cara kerja saponin yaitu dengan mengaktifkan fungsi dari TGF- β , *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Epidermal Growth Factor* (EGF), dan *Fibroblast Growth Factor* (FGF). TGF- β dan FGF akan menstimulasi migrasi serta proliferasi fibroblas. Selain itu, saponin juga memiliki kemampuan sebagai pembersih dan antiseptik yang berfungsi membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme (Barrientos, 2008).

3.2 Hipotesis

Terdapat efek gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L*) terhadap peningkatan ekspresi TGF- β pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*).

**BAB IV****METODE PENELITIAN****4.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan sesuai dengan metode *true experimental*, yaitu dengan melakukan penelitian laboratoris pada dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Rancangan ini dilakukan dengan *randomized post test only control group design* untuk mengetahui efek gel *nanoliposome* ekstrak kunyit berupa ekspresi *growth factor* TGF- β terhadap proses penyembuhan luka ulkus traumatik mukosa labial tikus wistar yang diinduksi termal.



Gambar 4.1 Tabel Rancangan Penelitian

Keterangan:

S : Sampel



R : Sampel dipilih secara random

K3 : Kelompok kontrol yang tidak diberi kortikosteroid topikal dan tidak diberi gel *nanoliposome* ekstrak kunyit selama 3 hari pasca terjadi ulkus traumatik mukosa labial kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-3

P3A : Kelompok perlakuan yang diberikan kortikosteroid topikal selama 3 hari pasca terjadi ulkus traumatik mukosa labial dan dilakukan pembedahan pada hari ke-3

P3B : Kelompok perlakuan yang diberikan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit selama 3 hari pasca ulkus traumatik mukosa labial dan dilakukan pembedahan pada hari ke-3.

K5 : Kelompok kontrol yang tidak diberikan kortikosteroid topikal dan tidak diberikan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit selama 5 hari pasca ulkus traumatik mukosa labial dan dilakukan pembedahan pada hari ke-5

P5A : Kelompok perlakuan yang diberikan kortikosteroid topikal selama 5 hari pasca terjadi ulkus traumatik mukosa labial kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-5

P5B : Kelompok perlakuan yang diberikan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit selama 5 hari pasca terjadi ulkus traumatik mukosa labial kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-5

K7 : Kelompok kontrol yang tidak diberikan kortikosteroid topikal dan tidak diberikan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit selama 7 hari pasca ulkus traumatik mukosa labial dan dilakukan pembedahan pada hari ke-7

P7A : Kelompok perlakuan yang diberikan kortikosteroid topikal selama 7 hari pasca terjadi ulkus traumatik mukosa labial kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-7



P7B : Kelompok perlakuan yang diberikan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit selama 7 hari pasca terjadi ulkus traumatik mukosa labial kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-7.

4.2 Sampel Penelitian

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) berjenis kelamin jantan berusia 10-16 minggu dengan berat badan 180-250 gram yang dipelihara di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya. Hewan coba dibagi menjadi 9 kelompok yaitu 3 kelompok kontrol (K3, K5, K7) dan 6 kelompok eksperimen (P3A, P3B, P5A, P5B, P7A, P7B).

Jumlah sampel penelitian dihitung menggunakan rumus *Federer* (Dahlan, 2018) adalah sebagai berikut:

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

$$(n-1)(9-1) \geq 15$$

$$(n-1) 8 \geq 15$$

$$8n - 8 \geq 15$$

$$8n \geq 23$$

$$n \geq 2,875$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok

n = jumlah sampel penelitian

Pada penelitian ini menggunakan 3 ekor tikus dengan 1 ekor tikus cadangan pada setiap kelompok untuk mengurangi *Lost Of Sample* ditengah-tengah penelitian karena tikus putih mati sehingga diperlukan 36 ekor tikus untuk penelitian ini.



Kriteria inklusi:

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) berjenis kelamin jantan (untuk menghindari pengaruh hormonal pada tikus betina)
2. Belum pernah digunakan untuk penelitian
3. Umur 10-16 minggu (dewasa)
4. Berat badan \pm 180-250 gram
5. Berbulu putih dan halus
6. Keadaan umum tikus sehat yang ditandai dengan bergerak aktif dan tingkah laku.

Kriteria eksklusi:

1. Tikus sakit selama masa adaptasi (tidak bergerak aktif)
2. Tikus mengalami penurunan berat badan $>10\%$ setelah masa adaptasi
3. Tikus mengalami infeksi di sekitar luka
4. Tikus mengalami diare
5. Tikus mati selama perlakuan berlangsung

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) yang diberikan pada 3 kelompok perlakuan.

4.3.2 Variabel Terikat

Jumlah growth factor TGF- β

4.3.3 Variabel Kontrol

Jenis kelamin, umur, berat badan, makanan, minuman, cara pembuatan ulkus traumatik, pengaplikasian gel *nanoliposome* kunyit (*Curcuma longa L.*).

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Pembuatan ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) dilakukan di Lab. Materia Medika, Batu dan Lab. Farmasi Universitas Brawijaya, Malang.



2. Pembuatan *Nanoliposome* dan pembentukan gel dilakukan di Lab Farmasi Universitas Muhammadiyah Malang.
3. Uji PSA nanopartikel ekstrak kunyit dilakukan di Laboratorium Jurusan Fisika Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya
4. Uji Karakterisasi TEM dilakukan di Laboratorium Departemen Kimia Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
5. Pemeliharaan dan perlakuan pada hewan coba dilakukan di Lab. Biosains Universitas Brawijaya, Malang.
6. Pembuatan preparat dan pengamatan histologi dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.5 Alat dan Bahan/Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Kunyit (*Curcuma Longa L*)

Serbuk kunyit (*Curcuma longa L*) , blender, pisau, wadah tertutup, kertas saring whatman no.1, *vacuum rotary operator*, neraca analitik Ohaus (timbangan), tabung reaksi, pipet, gelas ukur, kunyit 1000 gram, pelarut etanol 96%, air, *aquadest*, kapas.

4.5.2 Alat dan Bahan Pembuatan Gel *Nanoliposome* Ekstrak Kunyit (*Curcuma Longa L*)

Ekstrak kunyit (*Curcuma longa L*), etanol 96%, *aquadest*, toples tertutup, corong gelas, neraca analitik digital, gelas ukur, botol, waterbath, erlenmeyer, rotary evaporator, beaker glass, alkoholmeter, Na-CMC 5% (7,5 gram), penyaring, gliserin, propilenglikol 15 gram, metil paraben 0,2 gram, propilparaben, VCO, minyak zaitun, polietilin glikol 400, cremofor RH 40, tween 80, pengaduk magnetik, sonikator tipe bath, air deion, tube, batang pengaduk, masker dan sarung tangan.



4.5.3 Alat dan Bahan Uji Karakterisasi Nanopartikel Gel *Nanoliposome*

Particle Size Analyzer (PSA), Scanning Electron Microscopy (SEM), Zeta Potensial, formvar, coated cuprum grid, kuvet, ekstrak nanopartikel kunyit, air suling, pendispersi.

4.5.4 Alat dan Bahan Untuk Pemeliharaan Hewan Coba

Perawatan tikus menggunakan bak plastik sebanyak 10 buah berukuran 30 cm x 40 cm x 15 cm. Masing-masing bak plastik terdiri dari 1 tikus. Di dalam bak, disediakan botol air, *yellow tip*, sekam, tutup bak dari kawat serta pakan tikus. Pakan tikus berupa pakan pelet dengan jumlah 40 gram untuk masing-masing tikus yang diberikan satu kali sehari.

4.5.5 Alat dan Bahan Induksi Termal

Tikus putih jantan berumur 10-16 minggu dengan berat 180-250 gram, *semen stopper*, bunsen, pinset, kapas, *alcohol swab*, masker, sarung tangan, dan ketamine (10 mg/kgBB).

4.5.6 Alat dan Bahan Pemberian Perlakuan

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) umur 10-16 minggu dengan berat 180-250 gram yang diinduksi panas menggunakan ujung semen stopper kedokteran gigi sehingga terbentuk ulkus pada mukosa labial atas, Bunsen, tools tray, pinset bedah, syringe, kasa steril, *cotton roll*, *cotton pellet spuit*, *cotton bud*, masker dan sarung tangan.

4.5.7 Alat dan Bahan Pembedahan Hewan Coba

Mesin *Automatic Tissue Tex Processor*, *scalpel*, formalin 10 %, *tissue cassette*, handscoon, masker, kasa steril, *cotton roll*, pinset.

4.5.8 Alat dan Bahan Pengambilan Jaringan serta Pembuatan Preparat



Scapel, object glass, microtome, cover glass, mesin tissue tex processor, paraffin blok, tissue cassette, entellan, rak khusus pewarnaan, formalin 10%, alkohol (70%, 80%, 96%), alkohol absolut, alkohol asam 1%, xylol, parafin cair, larutan hematoksinilin dan eosin, lithium carbonat, dan oven 70-80o C.

4.5.9 Alat dan Bahan Analisis Histologi dengan Pewarnaan Imunohistokimia

Preparat, slide glass, minyak emersi, mikroskop cahaya, software *Image J*, xylene, etanol, peroxidase blocking solution, prediluted blocking serum, antibodi monoklonal (anti TGF- β), phospharingka te buffer saline, antibodi sekunder (*conjugated to horse radish peroxidase*), peroksidase, kromogen DAB (Diaminobenzinidine), hemotoxylin eosin, air, mounting, coverslip.

4.6 Definisi Operasional

4.6.1 Gel *Nanoliposome* Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa L*)

Pembuatan ekstrak kunyit menggunakan teknik maserasi dengan etanol 96% sebagai pelarutnya. Kemudian dilakukan pembuatan basis gel ekstrak kunyit, basis gel dan nanoemulsi ekstrak kunyit dicampur dan diaduk hingga homogen (Adnan, 2016).

4.6.2 Ulkus Traumatik

Ulkus dibuat menggunakan semen stopper kedokteran gigi yang telah dipanaskan di atas bunsen kemudian diletakkan pada mukosa labial bawah bagian depan median insisivus tikus yang sebelumnya sudah dianestesi menggunakan ketamin 0,2 ml (Mendrofa, 2015).

4.6.3 Pemberian Perlakuan

Pemberian perlakuan pada kelompok perlakuan yang sudah terbentuk ulkus traumatik menggunakan *micro brush* dan aplikasi daerah luka sebanyak 2 kali sehari sebanyak 1 ml setiap 8 jam sekali. Dengan kelompok P3A, P5A, dan P7A diberikan kortikosteroid



topikal berupa Triamcinolone acetonide 0,1 % dan kelompok P3B, P5B, dan P7B diberikan gel nanoliposome ekstrak kunyit.

4.6.4 Perhitungan Ekspresi TGF- β

Perhitungan ini bertujuan untuk mengetahui jumlah sel yang mengekspresikan TGF- β dengan cara dilakukan pemeriksaan Histologi dengan prosedur pengecatan imunohistokimia. Sediaan imunohistokimia yang telah dilabel diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran hingga 1000x untuk melihat distribusi ekspresi dari TGF- β , dalam lima lapang pandang agar memudahkan membaca dan mencegah duplikasi sel. Data diperoleh dari hitungan rata-rata dalam lima lapang pandang (Chasanah *et al.*, 2018).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa L.*)

1. Kunyit (*Curcuma longa L.*) didapatkan dari Balai Materia Medika Batu dalam bentuk serbuk 1000 gram.
2. Kunyit dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dengan oven suhu 40-50°C
3. Kunyit dihaluskan hingga menjadi serbuk dan direndam atau dimaserasi selama 24 jam dengan pelarut etanol 96 %.
4. Serbuk dan pelarut etanol 96% sebanyak 100 ml dikeringkan dengan rotary evaporator lalu dimasukkan ke dalam gelas ukur sebanyak 400 gram selama 24 jam sampai mengendap dengan suhu 35-40°C selama \pm 5 jam untuk memisahkan pelarut dan zat aktif. Larutan etanol akan menguap dan terpisah dengan zat aktif.
5. Hasil ekstrak diuapkan diatas waterbath selama 2 jam untuk dibuat gel *nanoliposome* (Susanty dkk, 2016).

4.7.2 Pembuatan Gel *Nanoliposome* Ekstrak Kunyit

4.7.2.1 Pembuatan *Nanoliposome* Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa L.*)

Pembuatan nanopartikel dapat menggunakan metode sonikasi:

- a. Melarutkan ekstrak kunyit dengan pelarut organik yang mudah menguap seperti kloroform, eter, dan metanol untuk



melarutkan lipid.

- b. Melakukan tahapan penguapan menggunakan *rotary evaporation* hingga membentuk lapisan tipis di bawah dindingnya.
- c. Melanjutkan dengan penambahan *buffer* pada suhu diatas titik leleh, campurkan hingga terbentuk liposom dengan *multi lamellar vesicle* (MLV) (Arain M.S dkk, 2017).
- d. Dilakukan metode tambahan sonikasi atau ekstrusi yaitu memanfaatkan gelombang ultrasonik dengan frekuensi 42 kHz yang dapat menghancurkan dinding sel sehingga mempercepat proses perpindahan senyawa bioaktif dari dalam sel ke pelarut (Utami, 2012). Sumber magnetic yang digunakan merupakan *magnetic fluid* atau dikenal dengan istilah *ferrofluid* bersifat stabil karena terlapis oleh asam oleat dalam pembuatannya (Hapsari, 2009).

4.7.2.2 Pembuatan Basis Gel

- a. Pembuatan *nanoliposome* ekstrak kunyit diawali dari pembuatan basis gel dengan mencampurkan gelling agent (Na-CMC) dalam 210 ml aquadest pada suhu 70°C selama 15 menit.
- b. Diaduk hingga membentuk gel dan jangan sampai ada yang menggumpal.
- c. Metil paraben dan propil paraben dilarutkan dalam gliserin kemudian ditambahkan ekstrak kunyit kemudian ditambahkan propilenglikol sedikit demi sedikit kemudian aduk hingga homogen.
- d. Terakhir dicelupkan aquadest diaduk hingga homogen (Adnan, 2016).

4.7.3 Uji Karakterisasi *Nanoliposome* Ekstrak Kunyit (*Curcuma Longa L.*)

Particle Size Analyzer digunakan dalam mengukur distribusi ukuran partikel dan indeks polidispersi dengan mendispersikan sampel dalam air suling dengan perbandingan 1:15 (v/v) pada suhu 25°C Amalia dkk, 2015). Uji TEM untuk melihat morfologi dan



karakteristik dari nanopartikel, mengacu Lubis 2015, prosedur penggunaan TEM terdiri atas, mensuspensikan sampel kedalam EtOH yang kemudian diteteskan dengan pita karbon hingga menempel dan mengering, lalu melapisi sampel dengan emas. Hasil akhir dapat dilihat dari alat sem dengan mengatur lensa hingga terfokuskan pada sampel. Uji zeta potensial untuk mengetahui muatan nanopartikel menggunakan zetasizer dengan cara sampel diencerkan dengan pengenceran 1 tetes dalam 10 ml larutan pendispersi, yaitu fosfat 7,4. Sampel dimasukkan ke dalam kuvet dan dianalisis pada suhu 25°C (Abdassah, 2017).

4.7.4 Persiapan Hewan Coba

Tikus diadaptasikan selama 7 hari di dalam bak plastik berukuran 30 cm x 40 cm x 15 cm dan disediakan botol air, sekam serta tutup bak dari kawat. Kebutuhan makan tikus berupa pakan pelet dan kebutuhan minum berupa air harus dijaga selama masa adaptasi. Masing-masing tikus ditimbang berat badannya dan dikelompokkan menjadi 9 kelompok secara acak dengan jumlah masing-masing kelompok yaitu 3 ekor. Berat badan ideal tikus yaitu 180-250 gram (Mendrofa, 2015).

4.7.5 Pembuatan Ulkus Traumatik pada Mukosa Labial Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Panas

Penelitian ini menggunakan 36 ekor tikus putih jantan berusia 10-16 minggu yang dibagi dalam 9 kelompok yaitu K3, P3, K5, P5, K7, dan P7. Tikus diadaptasikan di laboratorium serta diberi pakan selama 7 hari. Setelah masa adaptasi, tikus diusap dengan *alcohol swab* kemudian dilakukan anestesi menggunakan ketamin sebanyak 0,2 ml (10 mg/kgBB) secara intramuscular. Pembuatan lesi menggunakan semen stopper dengan diameter \pm 1-1,5 mm yang telah dipanaskan di atas bunsen sampai merah membara kemudian diletakkan pada mukosa labial bawah bagian depan median insisivus tikus tanpa penekanan hingga mencapai kedalaman \pm 0,5 mm (Mendrofa, 2015).



4.7.6 Pemberian Perlakuan

Kelompok	Perlakuan
K3, K5 dan K7	Tanpa diberi perlakuan
P3A, P5A dan P7A	Diberikan <i>Triamcinolone acetonide 0,1%</i>
P3B, P5B dan P7B	Pemberian Gel Nanoliposome Ekstrak Kunyit

4.7.7 Pembedahan Hewan Coba dan Pengambilan Sampel Jaringan

Pengambilan jaringan dilakukan pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7 setelah diberi perlakuan. Sebelum jaringan diambil, dilakukan pendislokasian leher tikus dengan dislokasi cervical di bawah pengaruh anestesi (AVMA, 2013) ketamin 0,2 ml (100 mg/kgBB) dan xylazine 5-13 mg/kgBB dalam *syringe* yang sama untuk mendapatkan durasi anestesi 60-80 menit (Widhiastuti, S dkk 2018). Teknik ini dilakukan oleh petugas yang telah terlatih dan dengan peralatan yang tepat. Teknik dislokasi cervical ini hanya dilakukan untuk tikus dengan berat badan <200g (IACUC Guidelines, 2018). Tikus dipastikan tidak bergerak dan tidak bernapas, kemudian dilakukan pengambilan jaringan ulkus menggunakan *scalpel* dengan ketebalan \pm 2-3 mm. Jaringan kemudian dimasukkan dalam *tissue cassette* yang sudah diberi label dan berisi larutan formalin 10% minimal 7 jam sebelum dilakukan tahapan berikutnya. Jaringan diproses menggunakan mesin *Automatic Tissue Tex Processor* sampai alarm berbunyi. Setelah dilakukan pengambilan jaringan, tikus dikuburkan dengan layak oleh petugas Laboratorium Bosains ke dalam lubang berukuran 100 cm x 30 cm x 50 cm.



4.7.8 Pembuatan Sediaan Histologis

- a. Proses Pengeblokan dan pemotongan jaringan
 1. Setelah jaringan ulkus diambil, jaringan diangkat dari mesin *Automatic Tissue Tex Processor*.
 2. Jaringan diblok/dicetak dengan *parafin* sesuai dengan label jaringan.
 3. Jaringan dipotong menggunakan alat *microtome* dengan ketebalan 3-5 mikron.
- b. Proses Deparafinisasi
Setelah jaringan disayat/dipotong dengan ketebalan 3-5 mikron, jaringan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 70-80°C selama 30 menit. Jaringan dimasukkan ke dalam 2 tabung yang berisi larutan *xylol* masing-masing selama 20 menit kemudian dimasukkan ke dalam 4 tabung berisi alkohol masing-masing selama 3 menit (hidrasi) dan yang terakhir dicuci dengan air mengalir selama 15 menit.
- c. Proses Pewarnaan Imunohistokimia
 1. Rehidrasi preparat dengan menggunakan etanol 100%, etanol 95 % dan etanol 70% masing-masing selama dua menit, satu menit dan terakhir dengan air selama satu menit.
 2. Rendam dalam *peroxidase blocking solution* pada suhu kamar selama 10 menit.
 3. Inkubasi preparat dalam *prediluted blocking serum* 25°C selama 10 menit.
 4. Rendam preparat di dalam antibodi monoklonal 25°C selama 10 menit.
 5. Cuci preparat dengan *Phosphate Buffer Saline (PBS)* selama 5 menit.
 6. Inkubasi preparat dengan antibodi sekunder (*conjugated to horse radish peroxidase*) 25°C selama 10 menit.
 7. Cuci preparat dengan PBS selama 5 menit.
 8. Inkubasi preparat dengan *peroksidase* 25°C selama 10 menit.
 9. Cuci preparat dengan PBS selama 5 menit.
 10. Inkubasi preparat dengan kromogen DAB (*Diaminobenzinidine*) 25°C selama 10 menit.
 11. Inkubasi preparat dengan *hematoxylin eosin* selama 3 menit



d. Penjernihan (*Clearing*) Cuci preparat dengan air mengalir

e. *Mounting*

Object glass ditutup dengan *cover glass* dengan menggunakan perekat dan dibiarkan kering pada suhu ruangan kemudian dilakukan pengamatan di bawah mikroskop cahaya (Chen *et al.*, 2017)

4.7.9 Identifikasi TGF- β

Data diperoleh dengan cara menghitung banyaknya jumlah sel yang mengekspresikan TGF- β yang diamati pada preparat biopsi eksisi jaringan pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7 setelah pembuatan ulkus dengan perwarnaan imunohistokimia. Perhitungan dilakukan dengan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya yang dilengkapi *camera/optilab*, TGF- β akan tampak dengan gambaran spot-spot berwarna kecoklatan pada inti sel preparat. Spot kecoklatan tersebut diakibatkan karena adanya ikatan antara antigen yang berada pada jaringan dengan antibodi yang diberikan. Presentasi ekspresi TGF- β yang dilihat dari 20 lapang pandang dengan perbesaran 1000 kali (Chen *et al.*, 2017).

4.8 Analisa Data Statistika

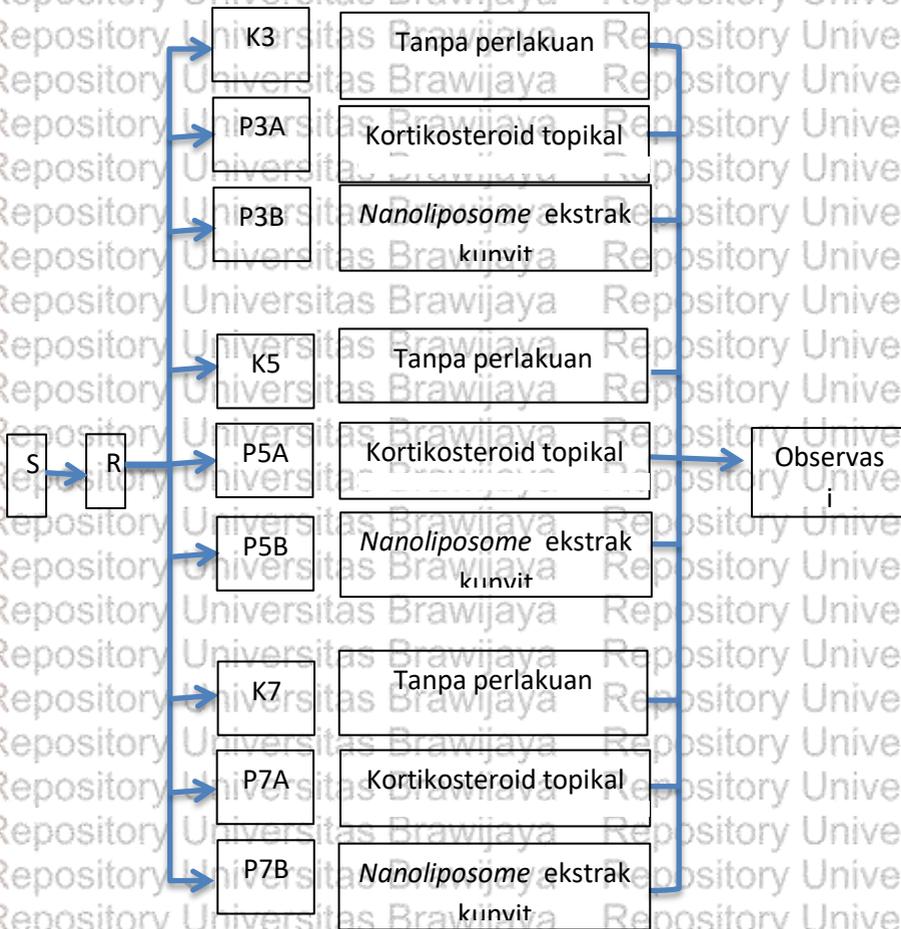
Data yang diperoleh berdasarkan jumlah ekspresi TGF- β dilakukan analisis statistika menggunakan program *Statistical Product of Service Solution* (SPSS). Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena besar sampel penelitian ≤ 50 . Apabila data berdistribusi normal (signifikansi $> 0,05$) maka menggunakan uji one way ANOVA untuk mengetahui perbedaan jumlah sel yang mengekspresikan TGF- β pada kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan dengan kelompok perlakuan pada penyembuhan luka ulkus traumatik tikus putih (*Rattus norvegicus*). Kemudian dilanjutkan uji *Post Hoc Tukey* untuk mengetahui perbandingan mean kelompok satu dengan kelompok lainnya. Apabila data penelitian tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, maka dilakukan uji non parametrik menggunakan uji



Kruskal-Wallis, kemudian untuk mengetahui rata-rata perbedaan antar kelompok menggunakan uji *Mann Whitney* (Dahlan, 2011).



4.9 Alur penelitian



Gambar 4.9 Alur Penelitian



BAB V

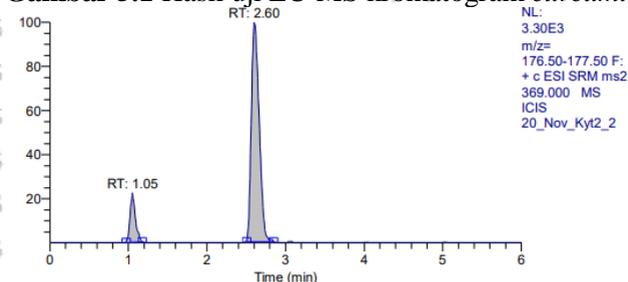
HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan pembuatan ekstrak kunyit yang dilanjutkan dengan uji LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) untuk mengetahui kadar *curcumine*, minyak atsiri, dan flavonoid dalam ekstrak. Dilanjutkan dengan uji karakterisasi yaitu uji PSA, Zeta Potensial, dan uji TEM.

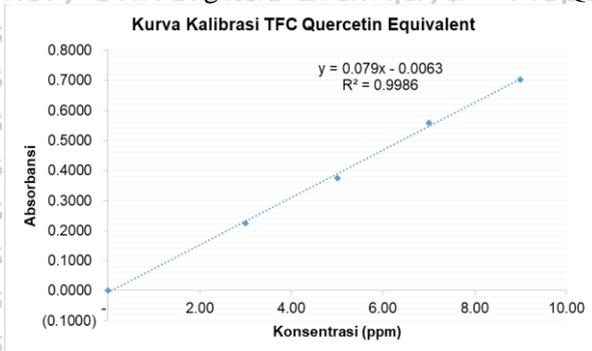
5.1.1 Uji LCMS

Gambar 5.1 Hasil uji LC-MS kromatogram *curcumine*



Hasil kualitatif uji LC-MS menunjukkan ekstrak kunyit mengandung senyawa *curcumine*.

Gambar 5.2 Diagram Kurva Kalibrasi Standar Quercetin





Hasil kuantitatif uji LC-MS didapatkan kadar flavonoid yang terkandung dalam kunyit (*Curcuma longa L.*) sebesar 2,58%.

5.1.2 Uji PSA (*Particle Size Analyzer*)

Tabel 5.1 Hasil uji PSA *Nanoliposome* ekstrak kunyit

No	Formulasi	Nama	Perbandingan Lesitin&Tween	Ukuran	Rata-rata
1	Formulasi 1	Uji 1	1:2	286,0 nm	313,43 nm
2		Uji 2	1:2	296,1 nm	313,43 nm
3		Uji 3	1:2	358,2 nm	313,43 nm

Berdasarkan tabel 5.3 dapat disimpulkan bahwa rata-rata ukuran *nanoliposome* ekstrak kunyit adalah 313,43 nm.

5.1.3 Uji Zeta Potensial

Tabel 5.2 Hasil uji Zeta Potensial *Nanoliposome* ekstrak kunyit

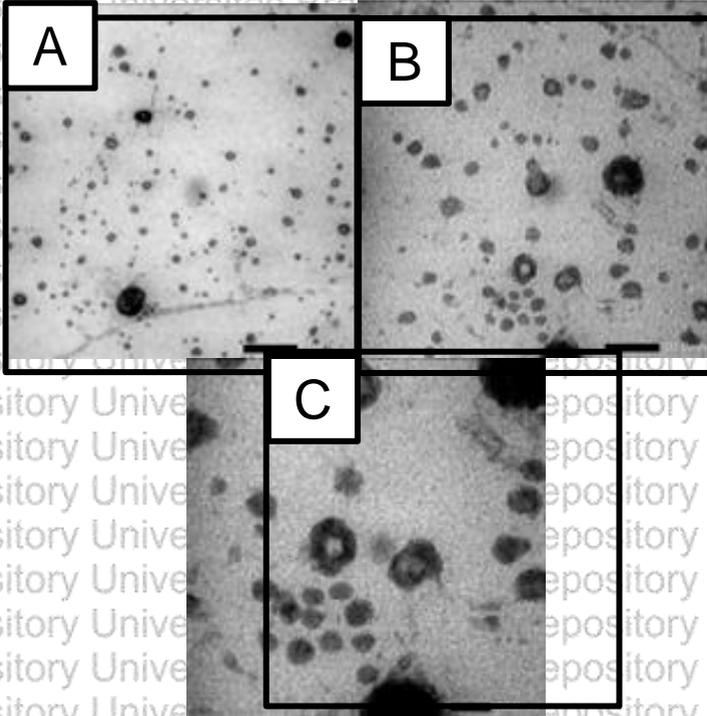
No	Formulasi	Nama	Perbandingan Lesitin&Tween	Ukuran	Rata-rata
1	Formulasi 1	Uji 1	1:2	-7,39	-8,76
2		Uji 2	1:2	-8,61	-8,76
3		Uji 3	1:2	-10,3	-8,76

Berdasarkan tabel 5.4 dapat disimpulkan bahwa rata-rata muatan *nanoliposome* ekstrak kunyit adalah -8,76 dan dari ketiga uji yang dilakukan semua bermuatan stabil karena menjauihi nol.



5.1.4 Uji TEM

Gambar 5.3 Hasil Uji TEM *nanoliposome* ekstrak kunyit



Gambar (A) Hasil uji TEM dengan perbesaran 59000x (100nm),
gambar (B) Hasil uji TEM dengan perbesaran 97000x (50nm),
dan gambar (C) hasil uji TEM dengan perbesaran 97000x

Berdasarkan gambar diatas hasil uji TEM *nanoliposome* memiliki bentuk oval atau bulat dan memiliki ukuran yang beragam. Selain itu, dapat dilihat juga mengenai bentuk vesikel liposom yang terbentuk, berdasarkan gambar diatas vesikel yang terbentuk adalah MVV (*Multi Vesicullar Vesicle*) dikarenakan terbentuknya vesikel

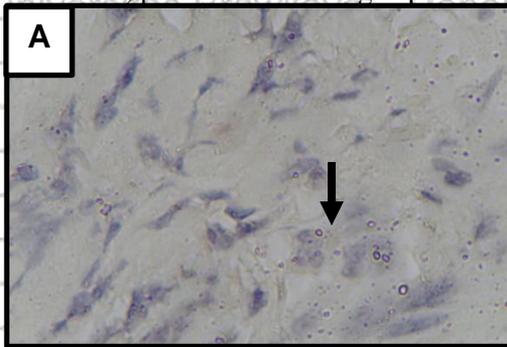


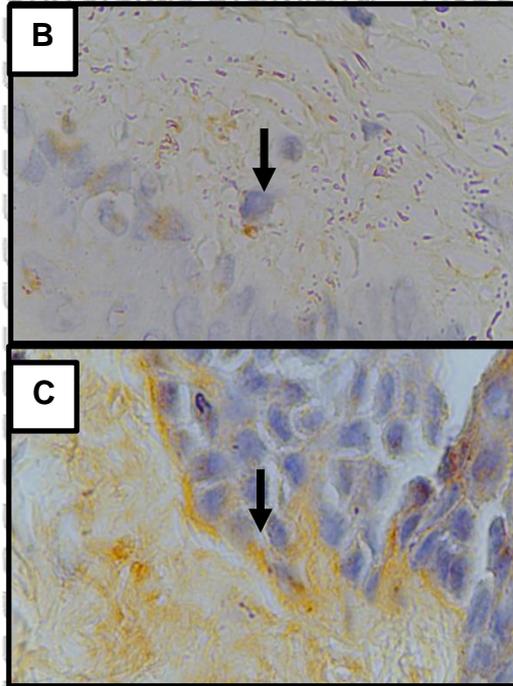
yang lebih kecil di dalam vesikel utama yang lebih besar (Laouini, Jaafar-Maalej, Limayem-Blouza, Sfar, & Char, 2012).

5.1.5 Hasil Pengamatan

Sampel penelitian diperoleh dari pengambilan jaringan area ulkus traumatik mukosa labial bawah tikus wistar disertai dengan jaringan sehat sekitarnya pada tikus yang telah didekaputasi dengan teknik *cervical dislocation* pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7 setelah terbentuknya ulkus traumatik. Selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan IHK (Immunohistokimia), kemudian dilanjutkan dengan pengamatan jumlah menggunakan mikroskop cahaya yang dilengkapi *camera/optilab*. TGF- β akan tampak dengan gambaran spot-spot berwarna kecoklatan pada inti sel preparat. Spot kecoklatan tersebut diakibatkan karena adanya ikatan antara antigen yang berada pada jaringan dengan antibodi yang diberikan. Presentasi ekspresi TGF- β yang dilihat dari 20 lapang pandang dengan perbesaran 1000 kali (Chen *et al.*, 2017).

Gambar 5.4 Gambaran histologi TGF- β dengan Immunohistokimia, pada hari ke-3 dengan perbesaran 1000x





Keterangan: tanda panah hitam (→) menunjukkan sel TGF- β dari:

(A) : Kelompok kontrol (K3)

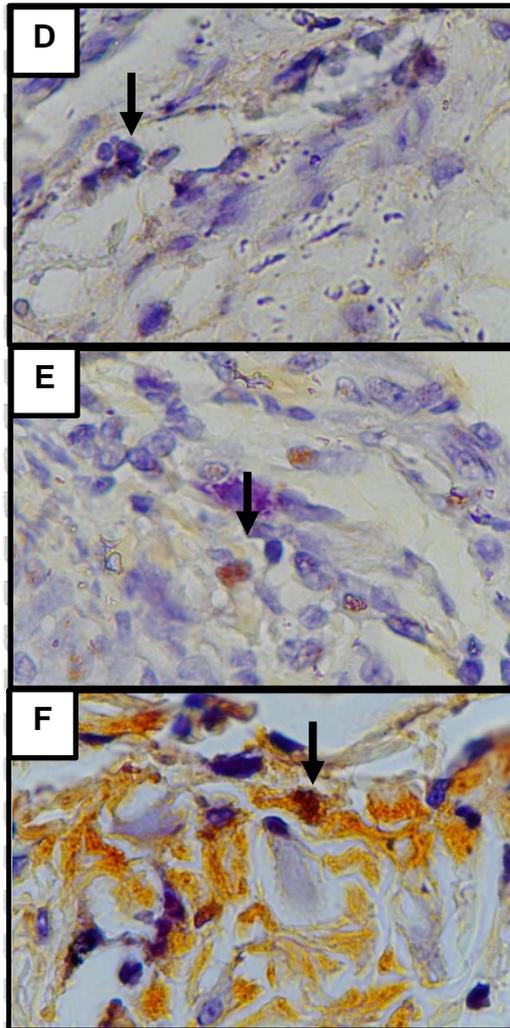
(B) : Kelompok perlakuan Triamcinolone (P3A)

(C) : Kelompok perlakuan Gel *nanoliposome* (P3B)

Berdasarkan gambar 5.3 pada hari ke-3 tampak perbedaan TGF- β antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Gambar tersebut menunjukkan jumlah TGF- β yang lebih banyak pada kelompok perlakuan (P3A, P3B) dibandingkan dengan kelompok kontrol (K3).



Gambar 5.5 Gambaran histologi TGF- β dengan Immunohistokimia, pada hari ke-5 dengan perbesaran 1000x



Keterangan: tanda panah hitam (—) menunjukkan sel TGF- β dari:

(D) : Kelompok kontrol (K5)

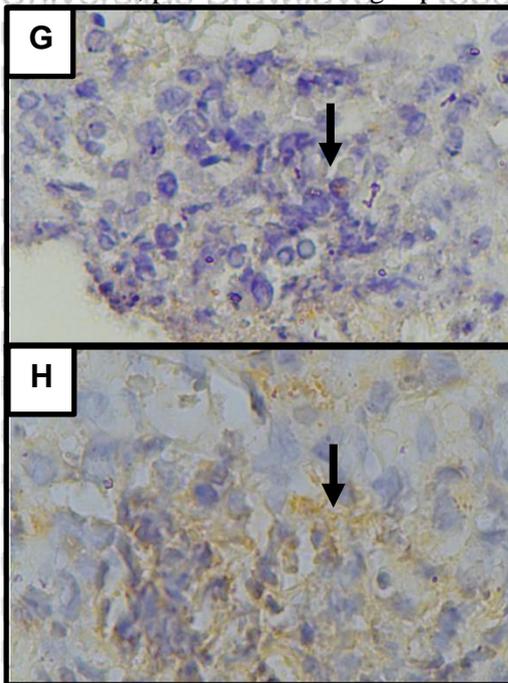
(E) : Kelompok perlakuan Triamcinolone (P5A)

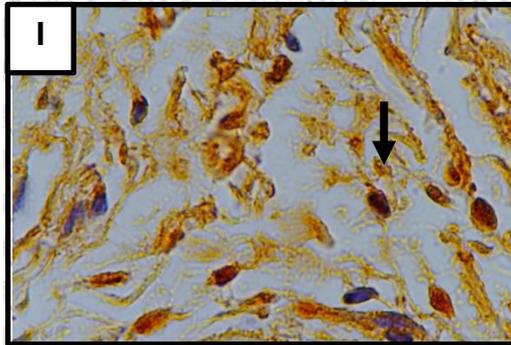


(F) : Kelompok perlakuan Gel *nanoliposome* (P5B)

Berdasarkan gambar 5.4 pada hari ke-5 tampak perbedaan TGF- β antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Gambar tersebut menunjukkan jumlah TGF- β yang lebih banyak pada kelompok perlakuan (P5A, P5B) dibandingkan dengan kelompok kontrol (K5).

Gambar 5.6 Gambaran histologi TGF- β dengan Immunohistokimia, pada hari ke-5 dengan perbesaran 1000x





Keterangan: tanda panah hitam (→) menunjukkan sel TGF-β dari:

- (G) : Kelompok kontrol (K7)
- (H) : Kelompok perlakuan Triamcinolone (P7A)
- (I) : Kelompok perlakuan Gel *nanoliposome* (P7B)

Berdasarkan gambar 5.5 pada hari ke-7 pasca ulkus terdapat perbedaan jumlah TGF-β kelompok perlakuan (P7A,P7B) lebih banyak daripada kelompok kontrol (K7) serta jumlah TGF-β pada hari ke-7 mengalami peningkatan dari hari ke-3 dan hari ke-5.

Tabel 5.7 Rata-rata jumlah TGF-β hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7

Waktu		Rata-rata	Standar Deviasi
Hari ke-3	K3	4	2,082
	P3A	6	1,508
	P3B	9	1,528
Hari ke-5	K5	6	2,082
	P5A	7	1,528
	P5B	13	2,000
Hari ke-7	K7	8	1,528
	P7A	9	1,528



P7B

16

1,528

Berdasarkan tabel di atas, terlihat adanya trend rata-rata jumlah TGF- β yang meningkat dari hari ke-3 ke hari ke-7 pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan kortikosteroid topikal dan kelompok perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit. Kelompok gel *nanoliposome* ekstrak kunyit menghasilkan rerata paling tinggi pada masing-masing waktu pengamatan.

5.2 Analisis Data

Data hasil penelitian berupa perhitungan TGF- β dianalisis menggunakan *software* analisis statistik. Dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-wilk*. Data penelitian yang normal dan homogen selanjutnya akan dianalisis dengan uji *One-way ANOVA* sekaligus uji homogenitas untuk mengetahui perbedaan TGF- β pada tiap kelompok penelitian. Data kemudian dianalisis dengan uji lanjutan *Post-Hoc Tukey* untuk melihat kelompok mana yang paling berbeda diantara 3 kelompok pada hari ke-3, 3 kelompok pada hari ke-5, dan 3 kelompok pada hari ke-7.

5.2.1 Uji Normalitas

Data dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-wilk* karena besar sampel ≤ 50 untuk mengetahui sebaran data berdistribusi normal atau tidak. Data dikatakan berdistribusi normal apabila signifikansi lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$).

Tabel 5.4 Hasil Uji Normalitas

Waktu Pengamatan	Signifikansi
Hari ke-3	0,903
Hari ke-5	0,747
Hari ke-7	0,271

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa data penelitian hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7 **berdistribusi normal**.



5.2.2 Uji Homogenitas

Dari hasil penelitian selanjutnya dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui sebaran data homogen atau tidak homogen. Data dikatakan homogen apabila signifikansi lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$).

Tabel 5.5 Hasil Uji Homogenitas

Waktu Pengamatan	Levene's Test	
	Signifikansi	Keterangan
Hari ke-3	0,715	Homogen
Hari ke-5	0,842	Homogen
Hari ke-7	1,000	Homogen

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa data penelitian hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7 bersifat **homogen**. Karena data berdistribusi normal dan homogen, maka perhitungan statistik dapat dilanjutkan dengan uji statistik parametrik.

5.2.3 Uji One-way ANOVA dan Post Hoc Tukey

Uji One-way ANOVA dilakukan untuk mengetahui perbedaan nilai rata-rata jumlah TGF- β pada setiap kelompok. Perbedaan jumlah TGF- β dikatakan bermakna apabila nilai yang diperoleh $< 0,05$. Uji *Post Hoc* Tukey menggunakan Tukey HSD untuk mengetahui kelompok mana yang paling berbeda secara signifikan diantara ketiga kelompok pada hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7 tersebut. Pada uji ini data dikatakan berbeda secara bermakna apabila nilai signifikansi $< 0,05$ ($p < 0,05$). Berdasarkan uji tersebut didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 5.6 Hasil Uji One-way ANOVA Jumlah TGF- β hari ke-3

Hari	Kelompok	Mean	SD	P-value
Hari ke-3	Kontrol	3,67	2,082	0,034*
	Kortikosteroid Topikal	6,33	1,528	
	Gel nanoliposome ekstrak kunyit	8,67	1,528	

*Signifikansi jika $p < 0,05$



Tabel 5.7 Hasil Uji *Post Hoc* Tukey Perbedaan K3, P3A, dan P3B pada Hari ke-3

Kelompok Pemanding vs Kelompok Perlakuan	Mean Difference	95% Confidence Interval		P-value
		Minimum	Maksimum	
K3 vs P3A	-2,667	-7,01	1,67	0,233
K3 vs P3B	-5,000	-9,34	-66	0,28
P3A vs P3B	-2,333	-6,67	2,01	0,298

***Signifikansi jika $p < 0,05$**

Berdasarkan hasil uji One-way ANOVA pada tabel 5.6 menunjukkan pada hari ke-3 diperoleh sig $< 0,05$ sehingga terdapat perbedaan jumlah TGF- β yang signifikan pada penyembuhan luka ulkus traumatik mukosa labial tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi panas antara kelompok kontrol, kelompok kortikosteroid topikal, dan kelompok gel nanoliposome ekstrak kunyit (*Curcuma longa L*).

Hasil uji *Post Hoc* Tukey pada tabel 5.7 menunjukkan bahwa pada hari ke-3 antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan kortikosteroid topikal dan kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit, serta antara kelompok kortikosteroid topikal dengan kelompok perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit menghasilkan sig masing-masing $> 0,05$, sehingga pada hari ke-3 antar kelompok tidak memiliki perbedaan jumlah TGF- β yang signifikan.

Tabel 5.8 Hasil Uji One-way ANOVA Jumlah TGF- β hari ke-5

Hari	Kelompok	Mean	SD	P-value
Hari ke-5	Kontrol	5,67	2,082	0,007*
	Kortikosteroid Topikal	7,33	1,528	
	Gel nanoliposome ekstrak kunyit	13,00	2,000	



***Signifikansi jika $p < 0,05$**

Tabel 5.9 Hasil Uji *Post Hoc* Tukey Perbedaan K5, P5A, dan P5B pada Hari ke-5

Kelompok Pembanding vs Kelompok Perlakuan	Mean Difference	95% Confidence Interval		P-value
		Minimum	Maksimum	
K5 vs P5A	-1,667	-6,39	3,06	0,558
K5 vs P5B	-7,333	-12,06	-2,61	0,007*
P5A vs P5B	-5,667	-10,39	-94	0,24

***Signifikansi jika $p < 0,05$**

Berdasarkan hasil uji One-way ANOVA pada tabel 5.8 menunjukkan pada hari ke-5 diperoleh sig $< 0,05$ sehingga terdapat perbedaan jumlah TGF- β yang signifikan pada proses penyembuhan luka ulkus traumatik mukosa labial tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi panas antara kelompok kontrol, kelompok kortikosteroid topikal, dan kelompok gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*)

Hasil uji *Post Hoc* Tukey pada tabel 5.9 pada hari ke-5 menunjukkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit menghasilkan sig $< 0,05$ sehingga terdapat perbedaan jumlah TGF- β yang signifikan antara kedua kelompok tersebut. Sedangkan pada kelompok yang lainnya tidak ditemukan perbedaan yang signifikan.

Tabel 5.10 Hasil Uji One-way ANOVA Jumlah TGF- β hari ke-7

Hari	Kelompok	Mean	SD	P-value
Hari ke-7	Kontrol	7,67	1,528	0,002*
	Kortikosteroid Topikal	9,33	1,528	
	Gel <i>nanoliposome</i> ekstrak kunyit	15,67	1,528	

***Signifikansi jika $p < 0,05$**

**Tabel 5.11** Hasil Uji *Post Hoc* Tukey Perbedaan K7, P7A, dan P7B pada Hari ke-7

Kelompok Pemanding vs Kelompok Perlakuan	Mean Difference	95% Confidence Interval		P-value
		Minimum	Maksimum	
K7 vs P7A	-1,667	-5,49	2,16	0,428
K7 vs P7B	-8,000	-11,83	-4,17	0,002*
P7A vs P7B	-6,333	-10,16	-2,51	0,005*

***Signifikansi jika $p < 0,05$**

Berdasarkan hasil uji One-way ANOVA pada tabel 5.10 menunjukkan pada hari ke-7 diperoleh sig $< 0,05$ sehingga terdapat perbedaan jumlah TGF- β yang signifikan pada proses penyembuhan luka ulkus traumatik mukosa labial tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi panas antara kelompok kontrol, kelompok kortikosteroid topikal, dan kelompok gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*).

Hasil uji *Post Hoc* Tukey pada tabel 5.11 pada hari ke-7 menunjukkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan Triamcinolone acetone 0,1% dan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit menghasilkan sig $< 0,05$ sehingga terdapat perbedaan jumlah TGF- β yang signifikan antara kedua kelompok tersebut. Sedangkan pada kelompok yang lainnya tidak ditemukan perbedaan yang signifikan.

5.3 Pembahasan Penelitian

Penelitian ini dilakukan sesuai metode *true experimental* dengan tujuan untuk mengetahui efek gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) terhadap peningkatan ekspresi TGF- β pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan cara menghitung jumlah TGF- β pada masing-masing preparat. Hasil dari uji LC-MS ekstrak kunyit yang telah dilakukan menunjukkan bahwa dalam ekstrak kunyit sebagian besar mengandung *curcumine* dan minyak atsiri, selain itu juga



terdapat kandungan *quercetin*, salah satu golongan dari flavonoid dengan kadar 2,5%.

Pada penelitian ini ekstrak kunyit dibuat dalam bentuk *nanoliposome* dalam penghantaran obat transdermal dengan penetrasi yang lebih dalam ke kulit dan mampu memperlambat penetrasi dari obat yang dienkapsulasi, sehingga menghasilkan paparan obat ke target menjadi lebih efisien (Jesorka Orwar, 2018). Penelitian ini menggunakan 1 formula *nanoliposome*, dengan perbandingan *lecithin* dan *tween* 1:2 kemudian diujikan pada hewan uji (Verawaty, 2016).

Ekstrak kunyit kemudian dilakukan beberapa uji karakterisasi, yaitu uji PSA (*Particle Size Analyzer*), Zeta Potensial, dan uji TEM (*Transmission Electron Microscopy*). Hasil uji PSA menunjukkan hasil uji rata-rata yaitu 313,43 nm. Hal ini sesuai dengan teori ukuran nanopartikel yang berukuran 10-1000 nm. Hasil uji Zeta Potensial juga menunjukkan *nanoliposome* memiliki muatan yang stabil yaitu -8,67. Hal ini sesuai dengan teori bahwa nilai zeta dikatakan stabil bila menjauhi titik isoelektrik yaitu 0, sedangkan sistem dispersi dengan nilai zeta potensial yang rendah lebih mudah membentuk agregat seiring dengan gaya Van Der Waals dalam interaksi partikel (Abdassah, 2017). Permukaan nanopartikel yang bulat akan lebih mudah memasuki target (Suryani, 2016).

Berdasarkan hasil uji statistik menggunakan One-way ANOVA didapatkan hasil sig <0,05 yaitu hari ke-3 0,034, hari ke-5 0,007, dan hari ke-7 0,002 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah TGF- β yang signifikan pada proses penyembuhan luka ulkus traumatik mukosa labial tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi panas antara kelompok kontrol, kelompok *Triamcinolone acetonide* 0,1%, dan kelompok gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa* L).

Hasil uji Post Hoc Tukey menunjukkan bahwa pada waktu pengamatan hari ke-3, antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan kortikosteroid topikal dan kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit, serta antara kelompok kortikosteroid topikal dengan kelompok perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit menghasilkan sig masing-masing >0,05, sehingga pada hari ke-3 antar kelompok tidak memiliki



perbedaan jumlah TGF- β yang signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada hari ke-3 pemberian gel *nanoliposome* ekstrak kunyit tidak berefek terhadap peningkatan ekspresi TGF- β karena *growth factor* TGF- β , PDGF, dan VEGF yang merangsang fibroblas sehingga menghasilkan matriks ekstraseluler baru akan muncul pada hari ke-3 setelah fase inflamasi sehingga masih sedikit ditemukan TGF- β pada hari tersebut (Adi Prasetyo dkk, 2019).

Hasil uji Post Hoc Tukey pada hari ke-5 menunjukkan diantara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan kortikosteroid topikal dan kelompok kortikosteroid topikal dengan kelompok perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit menunjukkan sig $>0,05$, antar kelompok tidak memiliki perbedaan jumlah TGF- β yang signifikan. Sedangkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit menghasilkan sig $<0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada hari ke-5 gel *nanoliposome* ekstrak kunyit memiliki efek terhadap peningkatan ekspresi TGF- β pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus wistar. Pada hari ke-5 terjadi peningkatan sekresi TGF- β hal ini disebabkan karena TGF- β diproduksi oleh hampir semua sel yang ada di dalam tubuh, terutama platelet, neutrofil, dan makrofag (monosit) (Suharto IPS, 2019). Oleh karena itu bila TGF- β meningkat maka akan terjadi peningkatan proliferasi fibroblas yang pada akhirnya akan menyebabkan peningkatan fibroblas untuk memproduksi kolagen dalam jumlah yang besar (Novriansyah, 2008). Peningkatan jumlah fibroblas pada luka merupakan kombinasi proliferasi dan migrasi, rongga insisi terisi penuh jaringan granulasi, dan neovaskularisasi mencapai puncak. Serat kolagen bertambah, ketebalan epidermis mencapai normal disertai keratinisasi permukaan kulit (Adi Prasetyo dkk, 2019).

Hasil uji Post Hoc Tukey pada hari ke-7 menunjukkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan kortikosteroid topikal menghasilkan sig $>0,05$, sehingga tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Sedangkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit, serta antara kelompok kortikosteroid topikal dengan kelompok perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit menghasilkan sig masing-masing



<0.05 , sehingga terdapat perbedaan jumlah TGF- β yang signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada hari ke-7 gel *nanoliposome* ekstrak kunyit memiliki efek terhadap peningkatan ekspresi TGF- β pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus wistar. Hal tersebut sesuai dengan teori bahwa pada hari ke-7 merupakan puncak proses penyembuhan dimana proliferasi sangat mendominasi proses penyembuhan. Fibroblas dirangsang oleh *growth factor* TGF- β , PDGF, dan VEGF yang akan menghasilkan matriks ekstraseluler. Faktor pertumbuhan keratinosit KGFs dan IL-6 yang dilepaskan fibroblas berperan pula dalam migrasi keratinosit yang berdiferensiasi menjadi epitel. Migrasi keratinosit yang menyebabkan proses epitelisasi dalam menutup permukaan luka (Mardiyantoro dkk, 2018 dan Perdanakusuma, 2015).

Berdasarkan hasil pembahasan diperoleh kesimpulan bahwa *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) memiliki efek terhadap peningkatan ekspresi TGF- β pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus wistar (*Rattus norvegicus*), sehingga hipotesis penelitian ini dapat diterima. Hal tersebut dibuktikan dengan peningkatan ekspresi TGF- β pada gel *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) pada masing-masing waktu pengamatan.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, uji kandungan senyawa dengan LC-MS hanya melihat beberapa kandungan dalam kunyit seperti *curcumine*, minyak atsiri, dan *flavonoid*. Penelitian ini baru menggunakan 3 *time series* yaitu hari ke-3, hari ke-5, dan hari ke-7. Formula *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) pada penelitian ini hanya menggunakan 1 formula sehingga diharapkan dilakukan penelitian lanjutan dengan formula lebih banyak agar mengetahui formula yang paling efektif untuk penghantaran obat. Pada penelitian ini belum mencantumkan mengenai dosis pemberian *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus wistar, dan perlu dilakukan uji toksisitas *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) sebelum dilakukan uji klinis pada manusia sebagai potensi dalam mekanisme proses terapi pengobatan medis.



BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, analisis data, dan pembahasan mengenai efek gel *nanoliposome* ekstrak kunyit terhadap ekspresi TGF- β pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus wistar, dapat disimpulkan bahwa:

1. Rata-rata jumlah TGF- β pada kelompok dengan diberikan perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit pada hari ke-3 pasca dilakukan induksi termal menunjukkan hasil paling tinggi dibandingkan dengan kelompok yang lain.
2. Rata-rata jumlah TGF- β pada kelompok dengan diberikan perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit pada hari ke-5 pasca dilakukan induksi termal menunjukkan hasil paling tinggi dibandingkan dengan kelompok yang lain.
3. Rata-rata jumlah TGF- β pada kelompok dengan diberikan perlakuan gel *nanoliposome* ekstrak kunyit pada hari ke-7 pasca dilakukan induksi termal menunjukkan hasil paling tinggi dibandingkan dengan kelompok yang lain.
4. Terdapat perbedaan rata-rata pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan hari ke-3, kelompok kontrol dan perlakuan hari ke-5, kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dan hari ke-7.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan pada bab sebelumnya, penulis memberikan saran untuk:

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan time series yang lebih banyak yaitu hari ke-7, hari ke-10, dan hari ke-14.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan formula *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) yang lebih banyak agar mengetahui formula yang paling efektif untuk penghantaran obat.



3. Perlu dilakukan uji kandungan kunyit yang lain sehingga lebih mengetahui kandungan kunyit secara lengkap.
4. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai dosis pemberian *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus wistar.
5. Perlu dilakukan uji toksisitas *nanoliposome* ekstrak kunyit (*Curcuma longa L.*) sebelum dilakukan uji klinis pada manusia sebagai alternatif pengobatan medis.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah M. 2017. Nanopartikel dengan Gelasi Ionik. *Journal Farmaka*, vol 15 (1), Hal. 50-81.
- Adiyati, P.N., 2011, Ragam jenis ektoparasit pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague dawley, Skripsi, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian, Bogor
- Adi P, dkk. 2019. Jumlah Fibroblas dan Angiogenesis setelah Pemberian Gel Getah Jarak Cina pada Ulserasi Tikus Wistar. *E-Prodentia Journal of Denyostroy*. 2019. 3 (1):180-186
- Adnan, J. (2016). Formulasi Gel Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less) Dengan Basis Na-CMC Sebagai Basis Gel. *Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology*, Vol. 1 No.1 Juni 2016.
- Agus A. 2010. Tanaman Obat Indonesia. Salemba Medika. Jakarta. Hal. 67-70.
- Akbar. B. 2010. Pengaruh Mangostin Terhadap Fertilitas Tikus Wistar Betina. Bandung: Tesis Magister, Program Pasca Sarjana ITB
- Anura, A. 2014. *Traumatic Oral Mucosal Lesions: A Mini Review and Clinical Update*. OHDM, 8, pp. 255.
- Barrientos, 2008. *Growth Factors and Cytokines Wound Healing*. *Wound Repair Regen*, 16(5), pp. 585-601
- Basri AG, Abdilah IN, Nazarudin, Lidya S, Rahmat KA. 2015. Potential of *Jatropha multifida* against traumatic ulcer. *Dental Journal*. 48(3):119-125.
- Blue CM. 2017. *Darby's Comprehensive Review of Dental Hygiene*. 8th ed. AS: Elsevier



Budi, D.T. 2017. Efek Salep Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) dibandingkan dengan *Triamcinolone acetonide topical* 0,1% terhadap Proses Penyembuhan Luka Sayat Mukosa Rongga Mulut Tikus Wistar Jantan secara Histopatologi. *Skripsi*. Bandung: Fakultas Kedokteran Gigi Kristen Maranatha

Cahyati M, Prasetyaningrum N, Mardiyantoro F. 2019. Pangasius djambal Gelatin Effects on Angiogenesis and Remodelling by MMP13 in Traumatic Ulcer Healing. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences* Vol.15 Supp 7, November 2019 (eISSN 2636-9346)

Cawson RA, Odell EW. *Cawson's Essentials of Oral Pathology and Oral Medicine*. 9th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier.

Cavalcante GM, de Paula RJS, de Souza LP, Sousa FB, Mota MRL, Alves APNN. Experimental model of traumatic ulcer in the cheek mucosa of rats. *Acta Cirúrgica Bras.* 2011; 26(3): 227–34.

Chen, Y, Yu Q, and Xu C.B, 2017. A convenient method for quantifying collagen fibers in atherosclerotic lesions by ImageJ software. *Int J Clin Exp Med* 2017;10(10):14904-14910

Cheeke, P. R. 2010. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. *J. Anim. Sci.* 77: 1-10

Çikrikçi, S., Mozioglu, E., & Yılmaz, H. (2008). Biological Activity of Curcuminoids from *Curcuma longa*. *Rec. Nat. Prod.* 2(1), 19-24.

Dahlan MS. 2011. *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Edisi 5. Jakarta: Salemba Medika.



Damayanti, E. dkk. 2014. Jurnal Efektivitas Kunyit (*Curcuma longa* Linn.) Sebagai Pereduksi Formalin Pada Udang Putih (*Penaeus merguensis*) Selama Penyimpanan Suhu Dingin. 3(1). Universitas Diponegoro. Semarang

De, R., Kundu, P., Swarnakar, S., Ramamurthy, T., Chowdhury, A., Nair, G.B., dan Mukhopadhyay, A.K., 2009. Antimicrobial Activity of Curcumin Against *Helicobacter pylori* Isolates from India and During Infections in Mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 5(4):1592-7

Dewi, Z.Y., Nur, A., Hertriani, T. (2015). Efek Antibakteri dan Penghambatan Biofilm Ekstrak Sereh (*Cymbopogon nardus* L) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Maj Ked Gi Ind*, 1(2), 136-141.

Deyhimi P, Khademi H, Birang R, Akhoondzadeh M. Histological evaluation of wound healing process after photodynamic therapy of rat oral mucosal ulcer. *J Dent* 2016; 17(1): 43-8.

Dym H. 2016. *Clinical Pharmacology for Dentists*. Philadelphia: Elsevier.

Francis, G., Z. Kerem, H. P. S. Makkar, K. Becker. 2002. The biological action of saponins in animal system: a review. *Br. J. Nutr.* 88 :587-605

Ghom AG, Anil S. 2014. *Textbook of Oral Medicine*. 3th ed. USA: Jaypee.

Guidelines for the Use of Cervical Dislocation for Rodent Euthanasia. The University of Texas at Austin Institutional Animal Care and Use Committee. Guideline # 004 Revised: May 13, 2013, April 9, 2018 Page 1 of 2

Gupta, A., Mahajan, S., & Sharma, R. (2015). Evaluation of Antimicrobial Activity of *Curcuma Longa* Rhizome Extract



Ilmu Kesehatan, 7(1), 27-36. Retrieved from <https://jurnal.unitri.ac.id/index.php/care/article/view/1106>

Johan R. 2015. Penggunaan Kortikosteroid Topikal yang Tepat. Jurnal Continuing Professional Development

Jayanegara, A. and A. Sofyan. 2008. Penentuan aktivitas biologis tanin beberapa hijauan secara in vitro menggunakan 'hohenheim gas test' dengan polietilen glikol sebagai determinan. Media Peternakan 31(1): 44-52

Khorshid, F., S. S. 2010. *Plectranthus tenuiflorus (Shara) Promotes Wound Healing: In vitro and in vivo Studies. Int. J. of Botany*, 69-80

Kristina N.N, Noveriza R, Syahid R.S, Rizal M, 2007. "Peluang Peningkatan Kadar Kurkumin pada Tanaman Kunyit dan Temulawak". Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. 2007_01/edisikhusus2007_01_01.pdf hal 1,2-5.

Levina, L. 2013. Kortikosteroid. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana.

Lubis, Khairiza. 2015. Metoda—metoda Karakterisasi Nanopartikel Perak. Jurnal Pengabdian Masyarakat. 21(79). Hal 53

L. Rosmaniar et al. Penentuan kadar vitamin c beberapa jenis cabai (capsicum sp.) Dengan spektrofotometri uv-vis. 2018. Jurnal Kimia Riset, Volume 3 No. 1. Hal. 1-5.

Maksum, Radji, 2011. Buku Ajar Mikrobiologi (Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran), EGC, Jakarta.

Martien,R. Adhyatmika . Irianto,I,D.K. Farida,V. Sari,D.P. 2012. Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat. Vol.8 No.1.

Mardiyantoro F.,dkk. 2018. Penyembuhan luka rongga mulut. UB Press. Malang. Hal. 5-11.



Arvian Novanolo Mendrofa, Isidora Karsini S, Dian Mulawarmanti. Ekstrakdaunmangrove (*A.marina*) mempercepat kesembuhan ulkus traumatikus (Extract of mangrove leaf (*A.marina*) accelerates the healing of traumatic ulcer). Jurnal Dentofasial, Vol.14, No.1, Februari 2015:11-14

Natsir, N., Tanumihardja, M., Mattulada, IK., Sanusi, V. 2014. *Pemanfaatan Akar Sidaguri (Sida rhombifolia) Sebagai Bahan Analgesik*. Jurnal PDGI. 63 (2); 66-69.

Normani,S.Md. Samy,G,J. 2016. Nanoliposome : An alternative approach for drug delivery system. Vol.2016,Article ID 92,1-1

Nugroho, N.A. (2010).Manfaat dan Prospek Pengembangan Kunyit. Yogyakarta: Penerbit Trubus Agriwidya. Hal. 6-7.

Ongole R, Praveen BN. 2013. Textbook of Oral Medicine, Oral Diagnosis and Oral Radiology, 2nd ed. India; Elsevier.

Pasaribu G, Iskandarsyah, Sagita E. 2016. Uji Aktifitas Antiproliferasi Formula Liposom Etanol Kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap Sel Kanker Payudara T47D. Pharmateutical Science And Resecarh.

Patil, A., Susmitha, H. R., Basappa, S. & Mahesh, M. S. 2016. *Drug-induced Oral Candidiasis: A Case Report*. Case Report and Review, 2(12).

Portomuan, S., 2009, studi kimia dan farmakologi tanaman kunyit sebagai tumbuhan obat serbaguna. Agrium.17:103-107

Prasetyo, Y. 2011. Scanning Electron Microscope (SEM) dan Optical Emission Spectroscopy (OES). (Diakses 1 November 2014)

Prasetyo A, Fidya, Noviana F S. 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) terhadap



Jumlah IL-6 pada Gingiva Tikus Wistar yang diinduksi *Actinobacillus*.

Pu S, Gong C, Robertson AW. Liquid cell transmission electron microscopy and its applications. *R Soc Open Sci*. 2020;7(1):191204. Published 2020 Jan 15. doi:10.1098/rsos.191204

R. Ningrum et al. 2016. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Batang Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) sebagai Bahan Ajar Biologi untuk SMA Kelas X. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. Volume 2 nomor 3 tahun 2016

Raditya Weka N, Dwi S, Helmy Y. Physical Characteristics of Liposomal Formulation Dispersed in HPMC Matrix and Freeze-Dried Using Maltodextrin and Mannitol as Lyoprotectant. 2017;23(4):285-292. doi:10.15171/PS.2017.42

Regezi JA, Sciubba J, Jordan RCK. 2017. *Oral Pathology: Clinical Pathologic Correlations*. 7th ed. AS: Elsevier

Sawarkar, HA., Khadabadi, SS., Mankar, DM., Farooqui, IA., Jagtap, NS. 2010, *Development and Biological Evaluation of Herbal AntiAne Gel*. 2(3): 2028-2029.

Sumanto J., 2016, hubungan antara asypan vitamin C dan zinc dengan proses penyembuhan luka pasca caesarean section di instalasi rawat jalan di rumah sakit PKU muhammadiyah Surakarta skripsi. FIK UMS, universitas Muhammadiyah surakarta, surakarta.

Susanty.,Bachdim F. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*) Vol 5 No.2



Shahiduzzaman, M.D., dan Dauguschies, A., 2011, Curcumin: A Natural Herb Extract with Antiparasitic Properties, Parasitology Research Monographs.1:141-152.

Sholihah M.et.al. 2017 . Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksidan Kulit Manggis . Vol 5 No.2,p 161-16

Scully C., Porter S., Porter S. R. 2003. Orofacial Disease: update for the dental clinical team. Barcelona: Churchill Livingstone. Hal 11-2.

S. Toda, T. Miyase, H. Arichi, et al., Natural antioxidant. III. Antioxidative components isolated from rhizome of Curcuma Longa L., Chem. Pharm. Bull. 33 (1985) 1725-1728.

Stefani dkk. Pengaruh Media Terkondisi Sel Punca Mesensimal (MT-SPM) terhadap Histopatologi Pankreas Tikus Model DM Tipe 2. Biota Vol. 3 (3): 11

Swastirani A, Arifin Z, Adi P. 2019. Difference Number of Fibroblast in Healing Traumatic Ulcer of Wistar Mice (*Rattus novergicus*) After Giving the Latex of Nanogel Jarak Cina (*Jatropha multifida* L). Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences Vol.15 Supp 7 (eISSN 2636-9346)

Winarti, L. 2013. Diktat Kuliah Formulasi Sediaan Semisolid (Formulasi Salep, Krim, Gel, Pasta dan Suppositoria) Semester IV. Jember: Universitas Jember.

Wink, M. (2008). Ecological Roles of Alkaloids. Wink, M. (Eds.) Modern Alkaloids, Structure, Isolation Synthesis and Biology, Wiley, Jerman: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Pernyataan Keaslian Tulisan

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Novi Isnawati

NIM : 175160101111015

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter Gigi

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas
Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Skripsi yang saya tulis ini benar-benar hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa Skripsi ini adalah jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, November 2020

Yang membuat pernyataan,

(Novi Isnawati)

NIM. 175160101111015

Lampiran 2. Ethical Clearance



KOMISI ETIK PENELITIAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK "ETHICAL CLEARANCE"

No: 069-KEP-UB-2020

KOMISI ETIK PENELITIAN (*ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE*)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH GEL NANOLIPOSOME EKSTRAK KUNYIT
(*Curcuma longa* L) TERHADAP PROSES
PENYEMBUHAN ULKUS TRAUMATIK MUKOSA LABIAL
TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*)

PENELITI : DIENA FUADIAH
ANGGOTA : ASTIKA SWASTIRANI FRIESCA Y A
 : AMBAR PUSPITASARI IZATANNISA N R
 : ALMETA PANDORA D NOVI ISNAWATI
 : ARETHA INTAN M
UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA
DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 30 Juni 2020
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



Prof.Dr.drh. AUFANN'AM, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 3. Surat Keterangan Ekstrak Kunyit



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU**
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu 65313
KOTA BATU

SURAT KETERANGAN EKSTRAK

No. 074 / 078C / 102.7 / 2020

Bersama ini kami sampaikan hasil ekstraksi berikut ini :

1. Identitas Pemohon

Nama : drg. Diena Fuadiyah, M. Si
NIK : 201458612292001
Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang

2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Kunyit
Nama latin : *Curcuma domestica*
Bagian sampel : Rimpang
Bentuk sampel : Serbuk
Jumlah sampel : 1000 gram

3. Hasil

No.	Parameter	Hasil
1	Proses	
	a. Metode	Maserasi
	b. Jumlah perlakuan	1 Kali
	c. Pelarut	Etanol 90%
	d. Jumlah pelarut	7 liter
	e. Waktu evaporasi	4 jam
2	Hasil	
	f. Bentuk sediaan	Cair
	g. Bahan tambahan	-
	h. Jumlah bahan tambahan	-
	i. Berat	110 gram
	j. Rendemen	11%

4. Pustaka

- Ditjen POM, 1986. "Sediaan Galenik", Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Sudjadi, 1986. "Metode Pemisahan", UGM Press, Yogyakarta.
- Nugroho, Agung. 2017. "Teknologi Bahan Alam". Lambung Mangkurat University Press. Banjarmasin.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 7 September 2020



Kepala UPT Laboratorium Herbal
Materia Medica Batu,

A. BERNY MABRUR, SKM, M.Kes.

NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 4. Surat Keterangan PSA

Size Distribution Report by Number

v2.2



Sample Details

Sample Name: Sampel 1.1
 SOP Name: mansettings.nano
 General Notes:

File Name: Novi 2020.dts Dispersant Name: Water
 Record Number: 1 Dispersant RI: 1,330
 Material RI: 1,30 Viscosity (cP): 0,8872
 Material Absorption: 0,100 Measurement Date and Time: 05 Oktober 2020 11:14:20

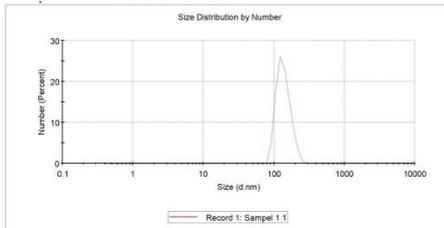
System

Temperature (°C): 25,0 Duration Used (s): 70
 Count Rate (kcps): 412,7 Measurement Position (mm): 1,05
 Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 6

Results

	Size (d.n...)	% Number:	St Dev (d.n...)
Z-Average (d.nm): 286,0	Peak 1: 138,3	100,0	31,88
PdI: 0,650	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,811	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality **Refer to quality report**



Malvern Instruments Ltd
www.malvern.com

Software Ver: 7.01
Serial Number: 16631081025

File name: Novi 2020.dts
Record Number: 1
08 Oct 2020 7:44:55

Malvern Instruments Ltd
www.malvern.com

Software Ver: 7.01
Serial Number: 16631081025

Size Distribution Report by Number

v2.2

Sample Details

Sample Name: Sampel 1.2
 SOP Name: mansettings.nano
 General Notes:

File Name: Novi 2020.dts Dispersant Name: Water
 Record Number: 2 Dispersant RI: 1,330
 Material RI: 1,30 Viscosity (cP): 0,8872
 Material Absorption: 0,100 Measurement Date and Time: 05 Oktober 2020 11:14:20

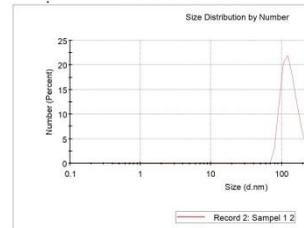
System

Temperature (°C): 25,0 Duration Used (s): 70
 Count Rate (kcps): 514,3 Measurement Position (mm): 1,05
 Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 6

Results

	Size (d.n...)	% Number:	St Dev (d.n...)
Z-Average (d.nm): 296,1	Peak 1: 133,2	100,0	31,88
PdI: 0,520	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,830	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality **Refer to quality report**



Malvern Instruments Ltd
www.malvern.com

Software Ver: 7.01
Serial Number: 16631081025

Size Distribution Report by Number

v2.2



Sample Details

Sample Name: Sampel 1.3
 SOP Name: mansettings.nano
 General Notes:

File Name: Novi 2020.dts Dispersant Name: Water
 Record Number: 3 Dispersant RI: 1,330
 Material RI: 1,30 Viscosity (cP): 0,8872
 Material Absorption: 0,100 Measurement Date and Time: 05 Oktober 2020 11:19:09

System

Temperature (°C): 25,0 Duration Used (s): 70
 Count Rate (kcps): 442,2 Measurement Position (mm): 1,05
 Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 6

Results

Size (d.n...)	% Number:	St Dev (d.n...)



Lampiran 5. Surat Keterangan Zeta Potensial

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd. - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: Sampel 1 1
SOP Name: mansettings.nano
General Notes:

File Name: Novi 2020.dts Dispersant Name: Water
Record Number: 4 Dispersant RI: 1,330
Date and Time: 05 Oktober 2020 11:20:55 Viscosity (cP): 0,8872
Dispersant Dielectric Constant: 78,5

System

Temperature (°C): 25,0 Zeta Runs: 27
Count Rate (kcps): 399,3 Measurement Position (mm): 4,50
Cell Description: Zeta dip cell Attenuator: 8

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -7,39	0,00	0,00	0,00
Zeta Deviation (mV): 0,00	0,00	0,00	0,00
Conductivity (mS/cm): 13,1	0,00	0,00	0,00

Result quality **Good**

Malvern Instruments Ltd.
www.malvern.comZetaSizer Ver: 7.91
Serial Number: MIA1581025File name: Novi 2020.dts
Record Number: 4
06 Oct 2020 7:49:51Malvern Instruments Ltd.
www.malvern.comZetaSizer Ver: 7.91
Serial Number: MIA1581025

Zeta Potential Report

v2.3

Malvern Instruments Ltd. - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: Sampel 1 2
SOP Name: mansettings.nano
General Notes:

File Name: Novi 2020.dts Dispersant Name: Water
Record Number: 5 Dispersant RI: 1,330
Date and Time: 05 Oktober 2020 11:24:04 Viscosity (cP): 0,8872
Dispersant Dielectric Constant: 78,5

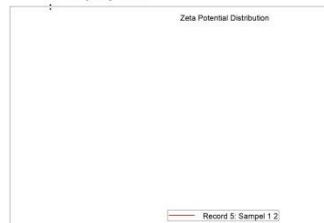
System

Temperature (°C): 25,0 Zeta Runs: 27
Count Rate (kcps): 543,9 Measurement Position (mm): 4,50
Cell Description: Zeta dip cell Attenuator: 8

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -8,61	0,00	0,00	0,00
Zeta Deviation (mV): 0,00	0,00	0,00	0,00
Conductivity (mS/cm): 15,8	0,00	0,00	0,00

Result quality **Good**

Malvern Instruments Ltd.
www.malvern.comZetaSizer Ver: 7.91
Serial Number: MIA1581025

Zeta Potential Report

v2.3



Malvern Instruments Ltd. - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: Sampel 1 3
SOP Name: mansettings.nano
General Notes:

File Name: Novi 2020.dts Dispersant Name: Water
Record Number: 6 Dispersant RI: 1,330
Date and Time: 05 Oktober 2020 11:24:37 Viscosity (cP): 0,8872
Dispersant Dielectric Constant: 78,5

System

Temperature (°C): 25,0 Zeta Runs: 46
Count Rate (kcps): 1004,2 Measurement Position (mm): 4,50
Cell Description: Zeta dip cell Attenuator: 8

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -10,3	0,00	0,00	0,00

Malvern Instruments Ltd.
www.malvern.comZetaSizer Ver: 7.91
Serial Number: MIA1581025



Lampiran 6. Foto Penelitian



Hasil Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa L.*)



Hasil Gel Nanoliposome Kunyit



Adaptasi Tikus selama 7 hari



Proses penimbangan BB tikus



Proses pergantian sekam



Proses pemberian makan tikus



Proses pembuatan Ulkus traumatik dengan sonde dipanaskan selama 1 menit



Proses pembuatan ulkus traumatik pada mukosa labial bawah tikus



Hasil Ulkus traumatik sebelum diberi perlakuan.



Pengaplikasian Triamcinolone acetonide 0,1%



Pengaplikasian Gel *Nanoliposome* ekstrak kunyit.



Hasil perlakuan triamcinolone acetonide 0,1 % hari ke-3



Hasil Perlakuan Gel *Nanoliposome* Kunyit Hari ke-3



Dekaputasi Hewan Coba dengan teknik dislokasi leher



Proses pembedahan hewan coba hari ke - 3,5,7





Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya



Hasil perlakuan triamcinolone acetonide
0,1 % hari ke-5

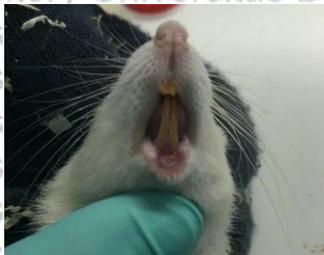
Repository Universitas Brawijaya

Fiksasi Mukosa labial tikus
menggunakan formalin 10%



Hasil Perlakuan Gel *Nanolipos*
Kunyit Hari ke-5

Repository Universitas Brawijaya



Hasil perlakuan triamcinolone acetonide
0,1 % hari ke-7

Repository Universitas Brawijaya



Sampel mukosa labial tikus putih



Hasil preparat pewarnaan H
(Haematoxylin-Eosin)



Lampiran 7. Hasil Perhitungan TGF- β

		Tikus	TGF	
kontrol	3	1	3	4
		2	2	
		3	6	
	5	1	4	6
		2	5	
		3	8	
	7	1	6	8
		2	8	
		3	9	
Triamcinol	3	1	6	6
		2	8	
		3	5	
	5	1	9	7
		2	6	
		3	7	
	7	1	9	9
		2	8	
		3	11	
Nanolipos	3	1	9	9
		2	10	
		3	7	
	5	1	11	13
		2	15	
		3	13	
	7	1	17	16
		2	14	
		3	16	



Lampiran 8. Hasil Analisis Data

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk	
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df
Jumlah Sel Hari Ke 3	.133	9	.200*	.971	9
jumlah Sel Hari Ke 5	.131	9	.200*	.955	9
Jumlah Sel Hari Ke 7	.242	9	.137	.903	9

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Sel Hari Ke 3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.356	2	6	.715

Test of Homogeneity of Variances

jumlah Sel Hari Ke 5

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.176	2	6	.842

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Sel Hari Ke 7

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.000	2	6	1.000



3. Statistik Deskriptif

Descriptives

Jumlah Sel Hari Ke 3

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	3	3.67	2.082	1.202	-1.50	8.84
Triamcinolone 0,1% Gel nanoliposome	3	6.33	1.528	.882	2.54	10.13
Ekstrak Kunyit	3	8.67	1.528	.882	4.87	12.46
Total	9	6.22	2.635	.878	4.20	8.25

Descriptives

Jumlah Sel Hari Ke 5

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	3	5.67	2.082	1.202	.50	10.84
Triamcinolone 0,1% Gel Nanoliposome	3	7.33	1.528	.882	3.54	11.13
Ekstrak Kunyit	3	13.00	2.000	1.155	8.03	17.97
Total	9	8.67	3.708	1.236	5.82	11.52

**Descriptives**

Jumlah Sel Hari Ke 7

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	3	7.67	1.528	.882	3.87	11.46
Triamcinolone 0,1%	3	9.33	1.528	.882	5.54	13.13
Gel Nanoliposome Ekstrak Kunyit	3	15.67	1.528	.882	11.87	19.46
Total	9	10.89	3.887	1.296	7.90	13.88

4. Uji ANOVA**ANOVA**

Jumlah Sel Hari Ke 3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	37.556	2	18.778	6.259	
Within Groups	18.000	6	3.000		
Total	55.556	8			



ANOVA

jumlah Sel Hari Ke 5

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	S
Between Groups	88.667	2	44.333	12.469	
Within Groups	21.333	6	3.556		
Total	110.000	8			

ANOVA

Jumlah Sel Hari Ke 7

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	S
Between Groups	106.889	2	53.444	22.905	
Within Groups	14.000	6	2.333		
Total	120.889	8			

5. Post Hoc Tukey HSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Sel Hari Ke 3

Tukey HSD

(I) Hari Ke -3	(J) Hari Ke -3	Mean Difference (I-J)	Std. Error
Kontrol	Triamcinolone 0,1%	-2.667	1.414
	Gel nanoliposome Ekstrak Kunyit	-5.000*	1.414
Triamcinolone 0,1%	Kontrol	2.667	1.414



	Gel nanoliposome Ekstrak Kunyit	-2.333	1.414
Gel nanoliposome Ekstrak Kunyit	Kontrol	5.000*	1.414
	Triamcinolone 0,1%	2.333	1.414

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jumlah Sel Hari Ke 5

Tukey HSD

(I) Hari Ke 5	(J) Hari Ke 5	Mean Difference (I-J)	Std. Error
Kontrol	Triamcinolone 0,1%	-1.667	1.540
	Gel Nanoliposome Ekstrak Kunyit	-7.333*	1.540
Triamcinolone 0,1%	Kontrol	1.667	1.540
	Gel Nanoliposome Ekstrak Kunyit	-5.667*	1.540
Gel Nanoliposome Ekstrak Kunyit	Kontrol	7.333*	1.540
	Triamcinolone 0,1%	5.667*	1.540

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Sel Hari Ke 7

Tukey HSD

(I) Hari ke 7	(J) Hari ke 7	Mean Difference (I-J)	Std. Error

