

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT JERUK NIPIS (*Citrus
aurantifolia*) TERHADAP JUMLAH TNF α PADA GINGIVA TIKUS JANTAN
GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI *Actinobacillus actinomycetemcomitans***

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Gigi



Oleh :

Ainun Nurika Assa'idah

(0910740001)

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

MALANG

2013

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP JUMLAH TNF α PADA GINGIVA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI *Actinobacillusactinomycetemcomitans*

Oleh:

AinunNurikaAssa'idah

NIM : 0910740001

Telahdiujipada

Hari : Selasa

Tanggal : 22 Januari 2013

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

drg. RannyRachmawatiSp.Perio

NIP. 820827 07 1 2 0148

Penguji II/Pembimbing I

drg. PrasetyoAdi M.S.

NIP. 19560416 198303 1 003

Penguji III/Pembimbing II

drg. RudhantonSidhartaSp.Perio

NIP. 631108 07 1 1 0011

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Gigi

Dr. drg. M. Chair Effendi, SU, Sp.KGA

NIP. 19530618 197912 1 005



Tugas Akhir ini saya persembahkan untuk bapak dan ibu tercinta yang selalu memberikan semangat dan kasih sayang.

KATA PENGANTAR

Puji syukur bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan Judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Ethanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Jumlah TNF α Pada Gingiva Tikus Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*”.

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh fakta bahwa gingivitis adalah salah satu penyakit periodontal yang mempunyai prevalensi tinggi dalam masyarakat Indonesia, sedangkan obat untuk penyakit ini belum banyak yang berupa produk herbal. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa TNF α yang merupakan salah satu mediator inflamasi dapat dihambat oleh ekstrak etanol kulit jeruk nipis yang merupakan produk herbal.

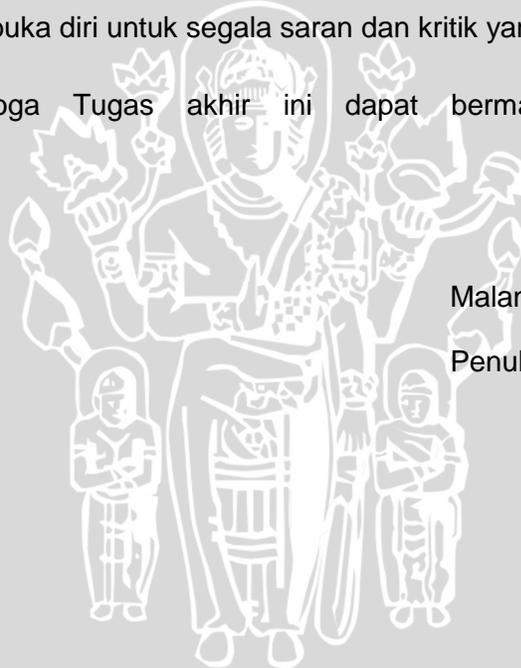
Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem Sp.PA, dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
2. drg. Prasetyo Adi M.S. sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bantuan reagens, yang dengan sabar membimbing untuk bisa menulis dengan baik, dan senantiasa memberi semangat, sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. drg. Rudhanton Sidharta Sp.Perio sebagai pembimbing kedua yang dengan sabar telah membimbing penulisan dan analisis data, dan senantiasa memberi semangat, sehingga saya dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. drg. Ranny Rachmawati Sp.Perio sebagai dosen penguji Tugas Akhir.
5. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, khususnya bagian pendidikan dokter gigi.
6. Petugas Laboratorium Farmakologi, Mikrobiologi, Biokimia FK UB dan Laboratorium Patologi Anatomi UNAIR yang telah membantu saya dalam menyelesaikan penelitian ini.

7. Yang tecinta ibunda Ummi Kulsum dan ayahanda Hamim Mubham serta adik Barqi Muhammad Babullah dan Gabrillah Mullah Sandra atas segala pengertian dan kasih sayangnya.
8. Teman-teman seperjuangan Dilla, Rissa, Demitra, Putri dan Dewi atas kerjasamanya saat penelitian, konsultasi, masukan, dan saran yang sangat mencerahkan.
9. Sahabat-sahabat tercinta iin, icha, novita, dita yang telah membantu saya disaat terpuruk dan memberi semangat dikala sedih.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga Tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.



Malang, 15 Januari 2013

Penulis



ABSTRAK

Assaidah, Ainun Nurika. 2013. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) Terhadap Jumlah TNF α Pada Gingiva Tikus Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) drg. Prasetyo Adi M.S. (2) drg. Rudhanton Sidharta Sp.Perio.

Inflamasi yang ditemukan pada bidang kedokteran gigi adalah gingivitis, yaitu radang pada gingiva. Gingivitis ditandai dengan warna merah di margin gingiva, pembengkakan dan perdarahan namun tidak disertai dengan hilangnya perlekatan. Apabila terjadi inflamasi maka sitokin inflamasi akan meningkat, salah satunya adalah TNF α . Flavonoid telah diketahui dapat menimbulkan efek antiinflamasi, dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah salah satu tumbuhan yang sering dijumpai di Indonesia yang mempunyai banyak kandungan flavonoid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol kulit jeruk nipis terhadap perubahan jumlah TNF α pada tikus jantan yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Metode penelitian ini adalah dengan membagi tikus dalam 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif yakni tidak diberi perlakuan, kelompok kontrol positif dengan menginduksi 0,1 ml bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* pada gingiva tikus jantan galur wistar dan kelompok perlakuan dengan memberikan dosis 1,26mg/100g BB; 2,52mg/100g BB; 5,04mg/100g BB ekstrak etanol kulit jeruk nipis setelah sebelumnya diinduksi dengan *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Pembedahan mandibula tikus dilakukan sehari setelahnya dan pewarnaan preparat menggunakan metode imunohistokimia. Hasil uji statistik menunjukkan terdapat perbedaan jumlah TNF α antara lima kelompok perlakuan (ANOVA, $p < 0,05$) dan terdapat hubungan yang erat antara dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan jumlah ekspresi TNF α ($R = 0,914$; $p < 0,05$), namun dalam uji post hoc antara dosis 2,52mg/100g BB dan 5,04mg/100g BB tidak ditemukan adanya perbedaan yang signifikan. Sebagai kesimpulan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol kulit jeruk nipis dapat menurunkan jumlah ekspresi TNF α .

Kata kunci: Ekstrak etanol kulit jeruk nipis, flavonoid, TNF α , antiinflamasi.

ABSTRACT

Assaidah, Ainun Nurika. 2013. *Effect Of Ethanol Extract Citrus aurantifolia Peel In The Total Of TNF α At Wistar Strain Male Rats Gingival Induced By Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Final Assignment, Dentistry Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisor: (1) drg. Prasetyo Adi M.S. (2) drg. Rudhanton Sidharta Sp.Perio.

The inflammation which is found in dentistry is gingivitis, that is inflammation in gingival. Gingivitis is signed by red colors at the gingival margin, swelling and bleeding but there is no attachment loss. When inflammation occurs the cytokines of inflammation will increase, one of them is TNF α . Flavonoid has been known to have anti inflammation effect, and *Citrus aurantifolia* is one of common plants in Indonesia which has many flavonoid content. The aim of this research is to determine changes in the total of TNF α at wistar strain male rats gingival induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. This experiment method is dividing rats into 5 groups, that are negative control (no treatment), positive control (induce 0,1 ml by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* at the gingival of wistar strain male rats) and the treatment groups with 1,26mg/100g BB; 2,52mg/100g BB; 5,04mg/100g BB doses of ethanol extract *Citrus aurantifolia* peel which have been induced by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* before. Scission of mandible is done one day after and coloration is done by immunohistochemical method. Result of the statistic test proves that there are differences of TNF α total between five different groups of experiment (ANOVA, $p < 0,05$) and there is a great correlation between ethanol extract *Citrus aurantifolia* peel with the total of TNF α expression ($R = 0,914$; $p < 0,05$), but in Post Hoc test there is no significant difference between 2,52mg/100g BB and 5,04mg/100g BB dose. On conclusion of this research, ethanol extract *Citrus aurantifolia* peel can decrease the total of TNF α expression.

Keywords: Ethanol extract *Citrus aurantifolia* peel, flavonoid, TNF α , anti inflammation

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Halaman Peruntukan.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak.....	vi
Abstract.....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Tabel.....	xii
Daftar Lampiran.....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Gingiva.....	5
2.2 Inflamasi.....	7
2.2.1 Definisi.....	7
2.2.2 Komponen Seluler dan Molekuler Inflamasi.....	8
2.2.3 Proses.....	9
2.2.4 TNF α	10
2.3 Gingivitis.....	11
2.3.1 Definisi.....	11
2.3.2 Etiologi.....	12
2.3.3 Terapi.....	13
2.4 Periodontitis.....	14
2.4.1 Definisi.....	14
2.4.2 Etiologi.....	14
2.4.3 Terapi.....	14
2.5 Jeruk Nipis.....	15
2.5.1 Jeruk Secara Umum.....	15
2.5.2 Klasifikasi.....	16
2.5.3 Nama Tanaman.....	16
2.5.4 Botani.....	17
2.5.5 Manfaat dan Khasiat.....	18
2.5.6 Kandungan Jeruk Nipis.....	19
2.6 Flavonoid Pada Jeruk Nipis.....	19
2.7 <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	21
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	23
3.2 Hipotesis Penelitian.....	24

BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian.....	25
4.2 Populasi dan Sampel.....	27
4.2.1 Kriteria Eksklusi dan Inklusi.....	27
4.2.2 Jumlah Sampel.....	27
4.3 Variabel Penelitian.....	28
4.3.1 Variabel Bebas.....	28
4.3.2 Variabel Tergantung.....	28
4.3.3 Variabel Kendali	28
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	28
4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian.....	28
4.5.1 Alat.....	28
4.5.1.1 Alat Ekstraksi Kulit Jeruk Nipis.....	28
4.5.1.2 Alat Penginduksi <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> ..	28
4.5.1.3 Alat Pengambilan Gingiva.....	29
4.5.1.4 Alat Pemeliharaan Tikus.....	29
4.5.1.5 Alat Pewarnaan Imunohistokimia.....	29
4.5.2 Bahan.....	29
4.5.2.1 Hewan Coba.....	29
4.5.2.2 Bahan Ekstraksi Kulit Jeruk Nipis.....	29
4.5.2.3 Bahan Pewarnaan Imunohistokimia.....	29
4.5.2.4 <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	30
4.5.2.5 Bahan Makanan Tikus.....	30
4.6 Definisi Istilah/Operasional.....	30
4.7 Prosedur Penelitian.....	31
4.7.1 Pembagian Kelompok Tikus.....	31
4.7.2 Prosedur Cara Ekstraksi Kulit Jeruk Nipis.....	32
4.7.3 Induksi <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	33
4.7.4 Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis.....	33
4.7.5 Prosedur Pewarnaan Ekspresi TNF α	34
4.8 Analisis Data.....	35
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	
5.1 Hasil Penelitian.....	36
5.2 Analisis Data.....	39
5.2.1 Uji Normalitas Data.....	40
5.2.2 Uji Homogenitas Varian.....	40
5.2.3 Uji One Way ANOVA.....	40
5.2.4 Uji Post Hoc Multiple Comparison	41
5.2.5 Uji Korelasi Pearson.....	43
BAB 6 PEMBAHASAN.....	46

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan.....	50
7.2 Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51
LAMPIRAN.....	54



DAFTAR GAMBAR

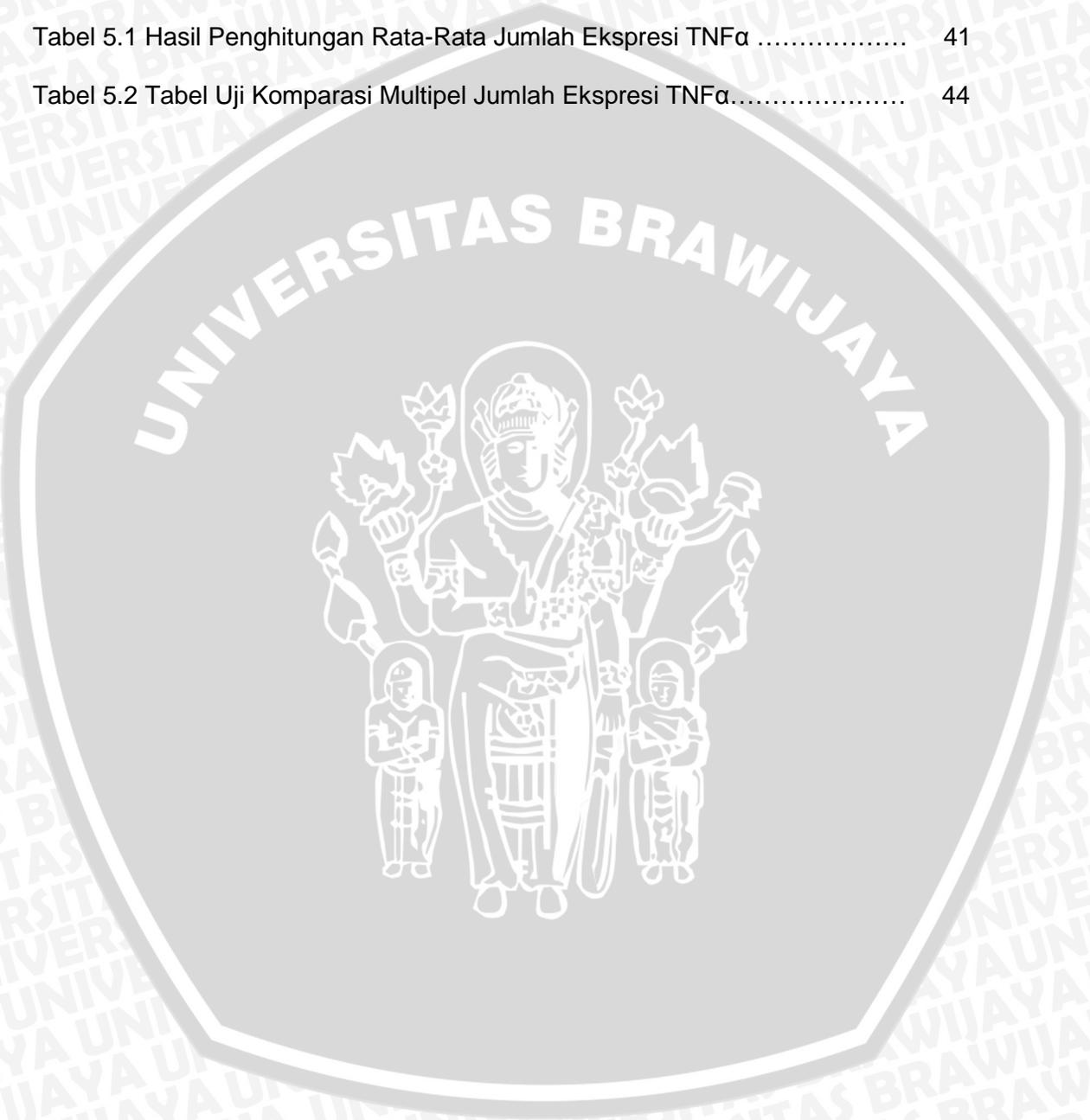
Halaman

Gambar 2.2 Struktur Periodontal	10
Gambar 2.2 Bakteri <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	25
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	26
Gambar 4.1 Rancangan Penelitian	28
Gambar 5.1 Potongan Gingiva Mandibula Tikus dengan Pengecatan Immunohistokimia	40
Gambar 5.2 Diagram Rata-rata dan Standar Deviasi Jumlah TNF α	42



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Rata-Rata Jumlah Ekspresi TNF α	41
Tabel 5.2 Tabel Uji Komparasi Multipel Jumlah Ekspresi TNF α	44



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Data Hasil Penelitian.....	54
Lampiran 2 Uji Normalitas.....	54
Lampiran 3 Uji Homogenitas.....	54
Lampiran 4 Uji One Way ANOVA.....	55
Lampiran 5 Uji Post Hoc Multiple Comparison.....	56
Lampiran 6 Uji Korelasi Pearson.....	57
Lampiran 7 Uji Regresi.....	58
Lampiran 8 Garis Linier Persamaan Regresi.....	59
Lampiran 9 Dokumentasi.....	60
Lampiran 10 Pernyataan Keaslian Tulisan.....	67
Lampiran 11 Form Kelaikan Etik.....	68
Lampiran 12 Keterangan Identifikasi Citrus aurantifolia.....	69
Lampiran 13 Keterangan Identifikasi Tikus.....	70



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi secara klinis didefinisikan sebagai proses patofisiologis yang dikarakteristikan dengan kemerahan, edema, panas, nyeri atau sakit dan kehilangan fungsi (Kim *et al*, 2004). Dalam bidang kedokteran gigi salah satu contohnya adalah inflamasi gingiva, yang disebut gingivitis. Gingiva yang normal mempunyai kedalaman sulkus gingiva sedalam 2-3 mm sedangkan pada gingiva yang mengalami inflamasi kedalaman sulkusnya bisa mencapai lebih dari 2-3 mm (Newman *et al*, 2006). Pada kondisi gingivitis tidak terjadi kehilangan perlekatan, tetapi pada pemeriksaan klinis terdapat gambaran kemerahan di margin gingiva, pembengkakan dengan tingkat yang bervariasi, perdarahan saat probing dengan tekanan ringan dan perubahan bentuk gingiva (fisiologik). Terdapat penambahan kedalaman probing (*pseudopocket/poket* semu) namun biasanya pada gingivitis tidak ada rasa sakit (Fedi dkk, 2005).

Menurut penelitian prevalensi gingivitis yang terjadi pada anak usia 3 tahun dibawah 5%, sedangkan pada usia 6 tahun 50%, dan angka yang tertinggi adalah 90% pada anak dengan usia 11 tahun, sedangkan pada anak dengan usia diantara 11 sampai 17 tahun mengalami sedikit penurunan yaitu antara 80% dan 90% (Hafsari, 2008). Etiologi gingivitis adalah karena paparan plak gigi, faktor yang mendukung akumulasi plak dan retensi termasuk kebersihan mulut yang buruk, serta iritasi oleh kelainan anatomi, alat ortodontik dan restorasi yang tidak tepat

(Newman *et al*, 2006). Selain itu ada pula yang membedakan etiologi gingivitis menjadi 2; yaitu faktor lokal meliputi bakteri plak yang menghasilkan enzim toksin dan berinvansi melalui epitel ulkus gingival kemudian menimbulkan radang gingiva. Dan faktor sistemik meliputi : pengaruh obat (*phenytoin*), idiopatik, hamil, pubertas, defisiensi vitamin c, plasma cel, granuloma pyogenik, leukemia, tumor jinak dan tumor ganas. (Pramono dkk, 2008). Menurut etiologi yang telah disebutkan maka perawatan utama yang dilakukan untuk gingivitis adalah menghilangkan faktor etiologi serta faktor lokal, pemeliharaan kebersihan gigi dan mulut serta melakukan tindakan profilaksis (Ryanti, 2008).

Mediator proinflamasi akan datang pada area dimana terbentuk inflamasi. $TNF\alpha$, IL-1, IL-6, histamin, PGE2, NGF muncul jika jaringan secara langsung kontak atau terpapar dengan antigen berupa mikroorganism, toksin, bahan kimia, yang mengaktifkan inflamasi. Dan secara khusus $TNF\alpha$ adalah mediator proinflamasi yang berperan dalam terjadinya nyeri neuropatik (Purba, 2009). Antiinflamasi dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan, salah satunya yang telah terbukti adalah jeruk yang bisa menyembuhkan gingivitis (AAK, 1994). Diantara nutrisi dari jeruk nipis yang telah disebutkan, flavonoid telah diketahui banyak mempunyai manfaat medis yang meliputi antioksidan, antimikrobal, antiinflamasi dan anti kanker (Lee *et al*, 2011). Kandungan flavonoid pada buah jeruk meningkat sampai maksimum pada pertumbuhan awal jeruk dan kemudian tetap konstan, sedangkan konsentrasi flavonoid berkurang dengan meningkatnya ukuran buah jeruk tersebut (Ladaniya,2008).

Banyak bahan yang dapat digunakan untuk menginduksi inflamasi salah satunya adalah bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Pemberian *Actinobacillus actinomycetemcomitans* pada ginggiva tikus sudah cukup menyebabkan inflamasi. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* merupakan bakteri gram negatif fakultatif anaerob yang dapat mengaktifasi peradangan.

Menurut penjelasan di atas ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) yang mengandung flavonoid dapat bekerja sebagai anti-inflamasi yang bisa dikatakan akan menghambat TNF α sebagai mediator proinflamasi. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang pemanfaatan ekstrak etanol kulit jeruk nipis yang mengandung flavonoid sebagai alternatif penghambat sintesis TNF α pada ginggiva tikus yang telah diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat menurunkan kadar TNF α pada gingiva tikus jantan galur wistar yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis pada gingiva tikus putih galur wistar yang mengalami inflamasi.

1.3.1 Tujuan Khusus

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis terhadap perubahan jumlah TNF α setelah induksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan dan Penulis

1.4.1.1 Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan sebagai dasar bagi penelitian selanjutnya dalam pengembangan manfaat ekstrak etanol kulit jeruk nipis sebagai obat antiinflamasi.

1.4.1.2 Menambah pengetahuan dalam bidang kedokteran gigi yang berkaitan dengan pemanfaatan ekstrak etanol kulit jeruk nipis sebagai alternatif obat antiinflamasi gingiva.

1.4.1.3 Menjadi bahan pertimbangan penelitian atau karya ilmiah selanjutnya.

1.4.2 Bagi Masyarakat

1.4.2.1 Meningkatkan pelayanan kesehatan rongga mulut pada masyarakat dengan menggunakan bahan alami, mudah didapat, dan dengan harga yang terjangkau.

1.4.2.2 Masyarakat dapat mengembangkan budidaya jeruk nipis sebagai tanaman obat dan dapat meningkatkan pendapatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gingiva

Mukosa oral terdiri dari tiga zona, yaitu: gingiva dan pelapis palatum keras yang disebut *masticatory mucosa*; badan pelapis badan lidah yang disebut *specialized mucosa*; dan membran mukosa pada dasar rongga mulut. Gingiva adalah bagian dari mukosa oral yang melapisi prosesus alveolaris pada rahang dan mengelilingi leher gigi (Newman *et al*, 2006).

Gingiva tersusun dari epitel berkeratin dan jaringan ikat. Beberapa bagian pada gingiva antara lain adalah *marginal gingival*, *free gingival*, *groove free gingival*, *attached gingival*, *mucogingival junction*, mukosa alveolar, sulkus gingiva, dan papilla interdental (Fedi dkk, 2005).

1. *Marginal Gingival* dan *Free gingival*

Bagian gingiva yang mengelilingi leher gigi, tidak melekat secara langsung pada gigi dan membentuk dinding jaringan lunak sulkus gingiva (Fedi dkk, 2005). *Marginal gingival* biasanya mempunyai lebar sekitar 1 mm membentuk dinding jaringan lunak dari sulkus gingiva dan terpisah dengan permukaan gigi dengan menggunakan periodontal probe (Newman *et al*, 2006).

2. *Free gingival groove*

Merupakan garis dangkal atau lekukan pada permukaan gingiva yang memisahkan *free gingival* dan *attached gingival*. Biasanya *free gingival groove* dikaitkan dengan lokasi dasar sulkus gingiva dan *groove* ini tidak selalu ada pada setiap orang (Fedi dkk, 2005).

3. *Attached Gingival*

Attached Gingival adalah bagian gusi yang meluas ke apikal dari daerah *free gingival groove* ke arah *mucogingival junctional*. Pada kondisi tidak ada inflamasi, *attached gingival* dapat dibedakan dengan jelas. Secara normal, *attached gingival* dilapisi oleh epitel berkeratin atau berparakeratin yang mempunyai *rete ridge* yang meluas ke jaringan ikat. Tidak terdapat submukosa di *attached gingival*. *Attached gingival* melekat erat pada gigi dan tulang dibawahnya untuk menahan kekuatan mastikasi, penyikatan gigi maupun stres fungsional lain (Fedi dkk, 2005). *Attached gingival* mempunyai permukaan yang lunak, licin dan terikat erat pada *underlying periosteum* dari tulang alveolar. bagian fasialnya terlihat seperti mukosa alveolar yang longgar dan dapat digerakkan namun dibatasi oleh *mucogingival junction* (Newman *et al*, 2006).

4. *Mucogingival Junction*

Garis berlekuk lekuk yang memisahkan gingiva berkeratin dan mukosa alveolar (Fedi dkk, 2005).

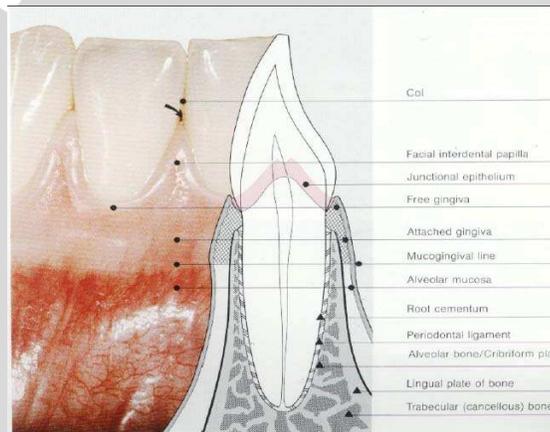
5. Papilla Interdental

Bagian gingiva yang mengisi ruang interproksimal antara dua gigi yang bersebelahan. Dari arah fasio lingual, bagian ini berbentuk konkaf, melekok seperti sadel dan dinamakan *col* (Fedi dkk, 2005).

6. Sulkus gingiva

Sulkus gingiva merupakan ruang atau celah yang dibatasi oleh gigi dan *free gingival* serta didasari *epithelium junctional* (Fedi dkk, 2005). Di dalam sulkus gingiva terdapat suatu cairan yaitu *Gingival Crevicular Fluid*. *Gingival Crevicular Fluid* (GCF) adalah suatu produk filtrasi fisiologis dari

pembuluh darah yang termodifikasi. *GCF* juga merupakan campuran substansi yang kompleks yang berasal dari serum darah, leukosit, sel periodonsium, dan bakteri mulut yang terdapat dalam sulkus gingiva baik yang sehat maupun yang mengalami inflamasi. *GCF* dapat juga menjadi indikator suatu keadaan jaringan periodontal baik mengenai macamnya, progresifitas suatu penyakit periodontal, hasil terapi dari penyakit periodontal, dan juga mengenai kelainan-kelainan sistemik (Ekaputri dan Masulili, 2010).



Gambar 2.1 Struktur Periodontal

2.2 Inflamasi

2.2.1 Definisi

Inflamasi adalah suatu rangkaian peristiwa yang teratur, yang terjadi sebagai respon terhadap cedera atau infeksi, karena itu dianggap sebagai respon nonspesifik (Fedi dkk, 2005). Inflamasi adalah suatu perubahan pada jaringan yang berhubungan dengan perubahan pada permeabilitas dan pelebaran pembuluh darah, hal ini sering terjadi dengan adanya leukosit yang masuk ke dalam jaringan terinfeksi. Perubahan ini mengakibatkan eritema,

edema, panas, sakit dan hilangnya fungsi yang merupakan tanda utama dari peradangan (Newman *et al*, 2006).

Inflamasi adalah suatu perlindungan di mana tubuh berusaha untuk menetralkan dan memusnahkan agen-agen yang berbahaya pada tempat cedera dan untuk mempersiapkan keadaan dalam perbaikan jaringan (Kee dan Hayes, 1996).

2.2.2 Komponen Seluler Dan Molekuler Inflamasi

Sel yang paling bertanggung jawab atas terjadinya inflamasi adalah leukosit (PMN) yang dibentuk pada sumsum tulang dan berasal dari sel stem yang juga membentuk monosit. Bertambahnya jumlah PMN menandakan dibangkitkannya pertahanan tubuh. PMN adalah sel fagosit yang menyusun sekitar 70 % sel darah putih. Sitoplasma sel PMN mengandung elemen yang bertanggung jawab dalam pergerakan seluler selama kemotaksis, dan juga mengandung lisosom yang bertugas membunuh bakteri yang masuk. Selanjutnya sel yang terlibat dalam inflamasi adalah makrofag, yang berasal dari monosit dalam sirkulasi dan tiba di tempat inflamasi setelah datangnya sel PMN. Makrofag adalah sebuah sel besar dengan kemampuan fagosit yang sama dengan PMN. Sel yang tiba terakhir kali di daerah inflamasi adalah limfosit dan sel ini dikaitkan dengan inflamasi kronis. Sel mast memiliki fungsi yang sama dengan basofil dalam sirkulasi. Sel ini melepaskan histamin, faktor pengaktif platelet (PAF), prostaglandin E₂ (PGE₂), dan leukotrien (LTB₄) dan (LTD₄). Platelet melepaskan serotonin, yaitu salah satu mediator inflamasi yang penting (Fedi dkk, 2005).

Histamin adalah zat yang berpotensi menambah permeabilitas pembuluh darah, sehingga memungkinkan sel-sel inflamasi bergerak dengan mudah ke

daerah inflamasi. Histamin dilepaskan oleh sel mast dan basofil. Basofil, neutrofil dan makrofag melepaskan faktor pengaktif platelet (PAF). PAF menambah pelepasan serotonin dari platelet. Faktor kemotaktik neutrofil (NCF) dilepaskan dari sel mast dan merangsang kemotaksis PMN. Komplemen C3a teraktifkan menyebabkan degranulasi sel mast. Komplemen C5a teraktifkan menyebabkan degranulasi sel mast, kemotaksis sel fagosit, aktivasi PMN, dan bertambahnya permeabilitas kapiler. Bradikinin menyebabkan vasodilatasi dan bertambahnya permeabilitas pembuluh darah. PGE2 menyebabkan vasodilatasi. Leukotrien B4 (LTB4) menstimulasi kemotaksis PMN dan bekerja sinergis bersama PGE2 dalam menambah permeabilitas pembuluh darah. Leukotrien D4 (LTD4) membantu meningkatkan permeabilitas pembuluh darah. Selektin adalah gabungan dari 3 molekul yang bertanggung jawab dalam membantu migrasi PMN dan makrofag melintasi dinding pembuluh darah. Selektin E dan P adalah molekul yang spesifik untuk PMN sedangkan selektin L khusus untuk makrofag. Molekul-molekul ini membantu memperlambat jalannya sel-sel tersebut agar melekat ke dinding endotel (Fedi dkk., 2005).

2.2.3 Proses

Inflamasi merupakan respon awal yang terjadi mendahului aktivitas sistem imun. terjadi dalam 3 tahap, yaitu :

1. Bertambahnya pasokan pembuluh darah
2. Bertambahnya permeabilitas pembuluh darah
3. Migrasi aktif sel fagosit ke daerah yang terlibat

Pasokan darah bertambah karena vasodilatasi di daerah yang terlibat. Mediator seperti histamin dan PGE2 bertanggung jawab dalam proses ini.

Serotonin, C5a, bradikinin, fibrinopeptida, PGE₂, LTb₂ dan LTD₂ menyebabkan bertambahnya permeabilitas vaskular dan retraksi sel endotel. Selektin dan ICAMS memperlambat sel-sel PMN, sehingga memudahkan sel PMN untuk bermigrasi ke jaringan ikat. Migrasi dan fagositosis PMN dirangsang oleh faktor kemotaktik seperti NCF, kemokin, fibrinopeptida dan LTB₄ meningkatkan sitosis dan kemotaksis neutrofil. Sel fagosit pertama yang terlibat dalam respons hospes terhadap mikroorganisme penginfeksi adalah neutrofil polimorfonuklear dan makrofag. Penghancuran mikroorganisme oleh sel-sel ini biasanya, tapi tidak selalu, terjadi setelah mikroorganisme ditelan ke dalam sel (Fedi dkk, 2005).

Inflamasi dimediasi oleh banyak faktor, termasuk di dalamnya kelompok yang disekresi oleh polypeptide yakni sitokin. Sitokin inflamasi bisa dibedakan menjadi 2 grup; yang bertanggung jawab pada inflamasi akut dan inflamasi kronis (Feghali, 1997). TNF- α adalah protein fase akut yang mengawali rangkaian reaksi dari sitokin dan meningkatkan permeabilitas dari pembuluh darah, sehingga menarik makrofag dan neutrofil ke tempat infeksi (Tracey and Cerami, 1993).

2.2.4 TNF α

Tumor nuklear faktor dibentuk atas 212 asam amino diatur pada homotrimes yang stabil dengan berat molekul 51 kDal. TNF α adalah suatu sitokin yang bersifat pleitropik, yang sebagian besar dihasilkan oleh monosit, makrofag dan sel T. sebagai tambahan seperti sitokin proinflamasi yang lain, ekspresi dan sintesa dari TNF α tidak hanya dihasilkan oleh sel-sel hematopoetik saja (Raharjo, 2010).

TNF α adalah salah satu produk dari makrofag atau monosit, fibroblast, sel mast, dan beberapa sel T serta sel natural killer (NK). TNF α dan IL-1 berbagi

peranan sebagai media proinflamasi. Seperti IL-1, TNF α bisa menginduksi demam, langsung melalui stimulasi sintesis PGE2 oleh vaskuler endotel dari hipotalamus, atau secara tidak langsung melalui pelepasan IL-1. Keduanya dapat menstimulasi produksi kolagenase dan PGE2 dengan synovial sel yang dipercaya berperan terhadap kerusakan dalam kondisi inflamasi. Selain itu TNF α juga berbagi peranan sebagai media inflamasi yang penting dengan IL-6 dan IL-11 (Feghali, 1997). TNF α yang disekresi oleh makrofag menyebabkan pembekuan darah yang berfungsi untuk membatasi infeksi. Faktor eksogen dan endogen dari bakteri, virus dan parasit merangsang produksi TNF α dan sitokin lainnya. Lipopolisakarida dari dinding sel bakteri merupakan stimulus yang sangat kuat untuk TNF α sintesis (Tracey and Cerami, 1993).

TNF α juga merupakan mediator proinflamasi yang diduga dalam terjadinya nyeri neuropatik. Hal ini dibuktikan adanya korelasi antara ekspresi TNF α dengan alodinia atau hiperalgesia pada nyeri neuropatik. Terjadinya alodinia atau hiperalgesia bisa diperberat dengan menambahkan TNF α sementara dengan memberikan antagonis TNF akan memperingan alodinia atau hiperalgesia (Purbo, 2010). Faktor nekrosis tumor (TNF) adalah sitokin yang membantu dalam pembentukan selektin dan ICAM pada dinding endotel, sehingga membantu migrasi leukosit (Fedi dkk, 2005). Meningkatnya kadar TNF α terdapat pada keadaan inflamasi akut dan kronik (Popa *et al.*, 2007).

2.3 Gingivitis

2.3.1 Definisi

Gingivitis adalah inflamasi gingiva. Pada kondisi ini tidak jarang terjadi kehilangan perlekatan, pada pemeriksaan klinis terdapat gambaran kemerahan

di margin gingival, pembengkakan dengan tingkat yang bervariasi, pendarahan saat probing dengan tekanan ringan dan perubahan bentuk gingiva. Terlihat penambahan kedalaman probing namun biasanya pada gingivitis tidak ada rasa sakit (Fedi dkk, 2005). Gingivitis merupakan peradangan gingiva (gusi) yang disebabkan faktor lokal dan sistemik (Pramono dkk., 2008). Gingivitis adalah respon inflamasi terhadap bakteri (Cawson *et al.*, 2002).

2.3.2 Etiologi

Etiologi gingivitis adalah karena paparan plak gigi, faktor yang mendukung akumulasi plak dan retensi termasuk kebersihan mulut yang buruk, serta iritasi oleh kelainan anatomi, alat ortodontik dan restorasi yang tidak tepat (Carranza *et al.*, 2006). Gingivitis mempunyai 2 faktor; yaitu faktor lokal meliputi bakteri plak yang menghasilkan enzim toksin dan berinvasi melalui epitel sulkus gingiva kemudian menimbulkan radang gingiva. Dan faktor sistemik meliputi : pengaruh obat (*phenytoin*), idiopatik, hamil, pubertas, defisiensi vitamin c, sel plasma, granuloma pyogenik, leukemia, tumor jinak dan tumor ganas (Pramono dkk, 2008).

Terdapat dua faktor yang berkontribusi pada terjadinya gingivitis, yaitu faktor lokal yang meliputi :kesalahan cara menyikat gigi, bentuk gigi yang ireguler, restorasi, kalkulus; dan faktor sistemik yang meliputi: kehamilan, *Down's Syndrom*, diabetes mellitus yang tidak terkontrol (Cawson *et al.*, 2002). Sebagian besar tipe gingivitis adalah yang disebabkan oleh plak, meskipun faktor sekunder dapat juga berpengaruh terhadap manifestasi klinis dan menghasilkan subklasifikasi sebagai berikut :

1. Gingivitis ulseratif nekrosis akut (ANUG)
2. Periodontitis yang dikaitkan dengan penyakit sistemik

3. Gingivitis karena pengaruh hormon
4. Gingivitis karena pengaruh obat-obatan
5. Gingivitis deskumatif (Fedi dkk, 2005).

2.3.3 Terapi

Perawatan untuk gingivitis adalah menghilangkan faktor etiologi serta faktor lokal, pemeliharaan kebersihan gigi dan mulut serta melakukan tindakan profilaksis (Ryanti, 2008). Selain itu ada beberapa langkah dalam perawatan gingivitis, yaitu:

1. Penyuluhan kesehatan gigi dan mulut meliputi pemberian *disclosing solution*, teknik dan cara membersihkan gigi, pengendalian plak di rumah, pola makan, menghilangkan kebiasaan buruk, anjuran kunjungan berkala dan anjuran perawatan gigi rutin.
2. Pemberian resep bilamana diperlukan misalnya pada kasus-kasus akut atau proteksi penyakit jantung
3. Pemolesan
4. *Scaling*
5. Koreksi restorasi
6. Pemberian obat kumur
7. Pemberian anestesi pada kasus hipersensitif
8. Evaluasi hari ke-5 sampai ke-7 (Pramono dkk, 2008).

Scaling dan preparasi akar gigi adalah prosedur yang penting dalam semua fase terapi periodontal. Preparasi gigi secara mekanis biasanya meliputi *scaling* dan *root planning*. Seringkali sulit memisahkan kapan *scaling* berhenti dan *root planning* dimulai karena kedua prosedur ini biasanya tidak dapat dipisahkan satu sama lain (Fedi dkk, 2005).

2.4 Periodontitis

2.4.1 Definisi

Periodontitis merupakan perluasan proses peradangan gingiva ke jaringan penyangga gigi yang lebih dalam dan dapat menyebabkan gigi lepas (Pramono dkk, 2008). Periodontitis adalah penyakit kronis, degenerative yang terlokalisasi pada gingiva, ligament periodontal, sementum dan tulang alveolar (Kesic *et al*, 2008).

2.4.2 Etiologi

Faktor etiologi utama dari periodontitis adalah biofilm pada mikroorganisme. Bakteri periodontopatogen gram negatif yang telah diketahui dapat menyebabkan periodontitis meliputi: *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga spesies* dan *Campylobacter rectus* (Kesic *et al*, 2008). Penyebab penyakit periodontitis terbagi berdasarkan klasifikasi penyakit ini, yaitu periodontitis kronis dan periodontitis agresif. Akumulasi plak pada gigi dan permukaan gingiva di *dentogingival junction* adalah agen primer dalam etiologi periodontitis kronis, selain itu penyakit diabetes dapat meningkatkan dan memperberat periodontitis. Sedangkan pada periodontitis agresif bukti telah menunjukkan bahwa bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomytans* mempunyai frekuensi yang sangat tinggi sebagai penyebabnya (90%), terutama pada periodontitis agresif lokal (Newman *et al*, 2006).

2.4.3 Terapi

Perawatan untuk periodontitis mempunyai beberapa langkah, yaitu:

1. Penyuluhan kesehatan gigi dan mulut meliputi pemberian *disclosing solution*, teknik dan cara membersihkan gigi (sikat gigi, flossing), pengendalian plak di rumah, pola makan, menghilangkan kebiasaan buruk, anjuran kunjungan berkala dan anjuran perawatan gigi rutin.
2. Pemberian resep bilamana diperlukan (kasus akut, dan proteksi penyakit jantung).
3. Pemolesan
4. *Scaling* supra dan subgingiva
5. *Root planning*
6. Koreksi restorasi
7. Menumpat karies servikal
8. *Occlusal adjustment* bilamana diperlukan
9. *Splint* sementara bilamana diperlukan
10. Pemberian obat kumur
11. Evaluasi hari ke-5 sampai ke-7 (Pramono dkk, 2008).

Komponen utama dalam menejemen perawatan periodontitis adalah:

1. Kontrol plak bakteri
2. Peningkatan kesehatan gingiva melalui kontrol plak
3. Minimalisasi kehilangan jaringan periodontal
4. Penggunaan antibiotic pada kasus tertentu
5. Pembedahan gingiva pada kasus tertentu (Cawson *et al*, 2002)

2.5 Jeruk Nipis

2.5.1 Jeruk Secara Umum

Buah jeruk merupakan salah satu jenis buah-bahan yang paling banyak digemari oleh masyarakat kita. Oleh karena itu tidak mengherankan, jika

perkembangan tanaman jeruk pada dekade 1970 hingga 1980 mengalami perubahan populasi yang cukup tajam. Buah jeruk selalu tersedia pada sepanjang tahun, karena tidak mengenal musim berbunga yang khusus. Disamping itu tanaman jeruk dapat ditanam dimana saja, baik di dataran rendah maupun di dataran tinggi (AAK, 1994).

2.5.2 Klasifikasi

Sistematika dari jeruk nipis adalah sebagai berikut :

Division	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Klas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Rutaceae
Marga	: Citrus
Spesies	: Citrus aurantifolia (Radiska, 2009).

2.5.3 Nama Tanaman

Pada beberapa daerah penamaan untuk tanaman jeruk nipis berbeda-beda, diantaranya Sumatra : *kelangsa* (Aceh). Jawa : *jeruk nipis* (Sunda), *jeruk pecel* (Jawa), Nusa Tenggara : *jeruk alit*, *kaputung*, *lemo* (Bali), *dongaceta* (Bima), *mudutelong* (Flores), *jeru* (Sawa), *mudakenolo* (Soor), *delomakii* (Roti). Kalimantan : *lemau nipis*. Sulawesi : *lemo ape lemo kapasa* (Bugis), *lemo kadasa* (Makassar). Maluku : *puhat em nepi* (Buru), *ahunsi hinsi*, *aupsifis* (Seram), *inta*, *lemonipis*, *ausinipis*, *usinepese* (Ambon), *wanabeudu* (Halmahera) (Radiska, 2009).

2.5.4 Botani

a. Akar

Tanaman jeruk mempunyai akar tunggang panjang dan akar serabut (bercabang pendek kecil) serta akar-akar rambut. Bila akar tunggang mencapai tanah yang keras atau tanah yang terendam air, maka pertumbuhannya akan berhenti. Tetapi bila tanahnya gembur, panjang akar tunggang bisa mencapai 4 meter. Akar cabang yang mendatar bisa mencapai 6-7 meter. Perakaran jeruk tergantung pada banyaknya unsur hara di dalam tanah dan umumnya di kedalaman 0,15-0,50 meter.

b. Pohon

Pohon jeruk yang sekarang ditanam di Indonesia berbentuk bulat dan tingginya dapat mencapai 5-15 meter

c. Daun

Daun jeruk berwarna hijau-tua dan tidak meranggas, jeruk nipis daunnya hijau kekuningan. Posisi daun berhadapan atau bersilang, tangkai daun bersayap atau tidak bersayap dan permukaan daun berkelenjar minyak yang transparan.

d. Bunga

Bunga jeruk berbentuk majemuk seperti anak paung, tandan atau malai kebanyakan berkelamin ganda; kelopak bunga berjumlah 4-5, ada yang menyatu ada yang tidak. Mahkota bunga kebanyakan berjumlah 4-5 dan berdaun lepas. Tonjolan dasar bunga beringgit atau berlekuk di dalam benang sari.

e. Buah

Bakal buah menumpang, bentuknya bulat, dan bulat-bulat pendek atau elips. Buah jeruk tergolong buah sejati, tunggal dan berdaging. Oleh karena itu,

buah yang masak tidak pecah. Satu bunga menjadi satu bakal buah saja. Dinding buah tebal dengan lapisan kulit luar yang kaku, bau menyengat dan banyak mengandung minyak atsiri. Lapisan ini disebut flavedo, dimana mulanya berwarna hijau dan bila masak berwarna kuning atau jingga. Lapisan tengah seperti spon yang terdiri atas jaringan bunga karang berwarna putih disebut albedo, sedangkan lapisan dalam bersekat membentuk ruang (Soelarso, 1996).

2.5.5 Manfaat Dan Khasiat

Buah jeruk bukan hanya dinikmati rasanya yang segar saja, melainkan buah jeruk juga sebagai pelepas dahaga dan sebagai buah pencuci mulut. Ternyata buah jeruk mempunyai khasiat ganda, yaitu di samping dapat diolah menjadi minuman atau makanan juga dapat dimanfaatkan untuk obat. Misalnya jeruk nipis untuk menurunkan demam, dengan cara mengompreskan cairan jeruk ke kening orang yang menderita sakit. Air buah jeruk juga dapat dipakai untuk tetes mata penyembuh radang, setelah dicampur dengan air bersih. Jeruk nipis juga dapat diperas dan dicampur dengan air panas untuk dijadikan minuman segar. Sehubungan dengan tingginya kadar vitamin C pada buah jeruk, maka buah jeruk dapat diolah menjadi tablet-tablet vitamin C atau dimakan langsung untuk menyembuhkan penyakit gingivitis (gusi berdarah) dan penyakit influenza (AAK, 1994).

Daun dan bunga jeruk nipis dapat digunakan untuk pengobatan hipertensi, batuk, lendir tenggorokan, demam, panas dan malaria, jerawat, ketombe dan lain-lain (Radiska, 2009).

2.5.6 Kandungan Jeruk Nipis

Jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) mengandung unsur-unsur senyawa kimia yang bermanfaat, misalnya: asam sitrat, asam amino (triptofan, lisin), minyak atsiri (sitral, limonen, felandren, lemon kamfer, kadinen, gerani-lasetat, linali-lasetat, aktilaldehid, nonildehyd), damar, glikosida, asam sitrun, lemak, kalsium, fosfor, besi, belerang vitamin B1 dan C. Selain itu, jeruk nipis juga mengandung senyawa saponin dan flavonoid yaitu hesperidin (hesperetin 7-rutinosida), tangeretin, naringin, eriocitrin, eriocitroside. Hesperidin bermanfaat untuk antiinflamasi, antioksidan, dan menghambat sintesis prostaglandin (Chang, 2011).

Jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*) mengandung flavonoid yang dikenal mempunyai efek antiinflamasi, antioksidan, hepatoprotektif dan antikarsinogenik. Flavonoid yang terkandung dalam kulit jeruk nipis antara lain naringin, hesperidin, naringenin, rutin, hesperitin, nobiletin, dan tangeretin. Hesperidin, naringin dan naringenin mempunyai efek sebagai kemopreventif karsinogenesis, penghambatan proliferasi sel kanker, dan menghambat tumorigenesis (Pratiwi, 2008).

2.6 Flavonoid Pada Jeruk Nipis

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C6) terikan pada suatu rantai propane (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni 1,3 diarilpropan atau flavonoid, 1,2 diarilpropan atau isoflavonoid,

dan 1,1 diarilpropan atau neoflavonoid. Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin c, antiinflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik (Waji dan Sugrani, 2009).

Flavonoid telah ditemukan mempunyai banyak aktifitas biologis atau farmakologis, yaitu : antikanker, antimikroba, antivirus, antiinflamasi, imunomodulator dan antitrombotik (Kim *et al*, 2004). Flavonoid pada jeruk adalah hesperidin, naringin, dan neohesperidin. Hesperidin adalah komponen flavonoid yang utama dalam jeruk, rasanya tidak pahit. Hesperidin juga ditemukan pada jeruk mandarin, jeruk lemon, jeruk nipis dan jeruk hibrida. Pada umumnya konsentrasi flavonoid menurun tergantung pada kematangan buah jeruk tersebut. Kandungan flavonoid pada buah jeruk meningkat sampai maksimum pada pertumbuhan awal jeruk dan kemudian tetap konstan, sedangkan konsentrasi flavonoid berkurang dengan meningkatnya ukuran buah jeruk tersebut (Ladaniya,2008).

Efek antiinflamasi dalam flavonoid telah lama digunakan dalam dunia kedokteran Cina dan industri kosmetik dalam bentuk sari tumbuhan kasar. Banyak penelitian telah membuktikan bahwa berbagai macam varietas flavonoid mempunyai efek antiinflamasi pada hewan uji coba yang diberi perlakuan inflamasi. Khususnya beberapa flavonoid telah ditemukan menghambat inflamasi kronis. Telah dilakukan beberapa penelitian untuk menjelaskan efek antiinflamsi pada flavonoid secara in vivo. Flavonoid bisa mengatur aktivitas selular sel yang terkait dengan radang atau inflamasi, meliputi : sel mast, makrofag, limfosit, dan neutrofil. Sebagai contoh beberapa flavonoid menghalangi pelepasan histamin

dari sel mast dan sebagian yang lain menghalangi proliferasi sel-T (Kim *et al.*, 2004).

Kerja antinosiseptif (penghambat nyeri inflamasi) tergantung pada dosis yang diberikan. Lebih jauh lagi antinosiseptif mempunyai onset yang cepat (*rapid onset*) dan durasi kerja yang pendek (*short duration of action*). Kerja antinosiseptif dimediasi oleh mekanisme supraspinal melalui alkaloid dan flavonoid (Daya *et al.*, 2011).

2.7 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

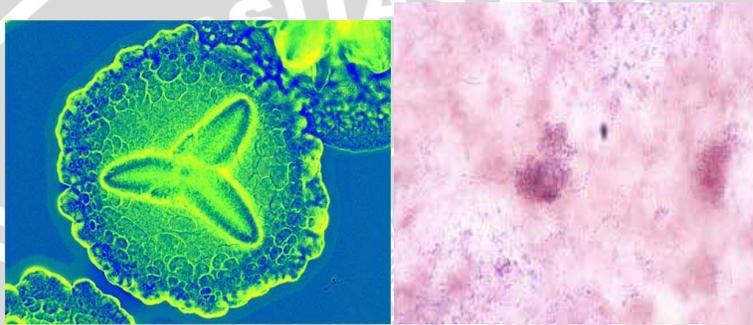
Regnum	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Classis	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Pasteurellales
Familia	: Pasteurellaceae
Genus	: Actinobacillus
Species	: A. actinomycetemcomitans

(Academic Dictionary and Encyclopedias, 2010).

Actinobacillus actinomycetemcomitans (Aa) adalah oral mikrobiota yang dapat ditemukan pada primata dan mamalia. Habitat primernya belum diketahui, namun pasti pada ditemukan di dalam plak pada servikal gingiva dan tidak ditemukan pada pasien edentulous. Organisme ini merupakan gram negatif, tidak membentuk spora, dan coccobacillus facultative anaerob yang dapat hidup dengan baik dalam lingkungan anaerob yang kadar CO₂ mencapai 5 sampai 10% dengan suhu optimal 37°C dan pH 7-8,5. Bakteri ini terlibat dalam proses patologi jaringan, yang meliputi: inflamasi gingiva dan destruksi ligamen periodontal serta tulang alveolar yang dikenal sebagai jembatan anatar tulang

dengan gigi. Faktor virulensi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dapat dibagi menjadi (i) pembentukan inflamasi, (ii) menginduksi destruksi jaringan, (iii) menghambat regenerasi jaringan (Henderson dkk, 2002).

Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif fakultatif, *non motil coccoid bacillus*, hadir dalam poket periodontal pada remaja penderita periodontitis agresif lokal dan pada dewasa dengan periodontitis agresif (Kesic, 2008).



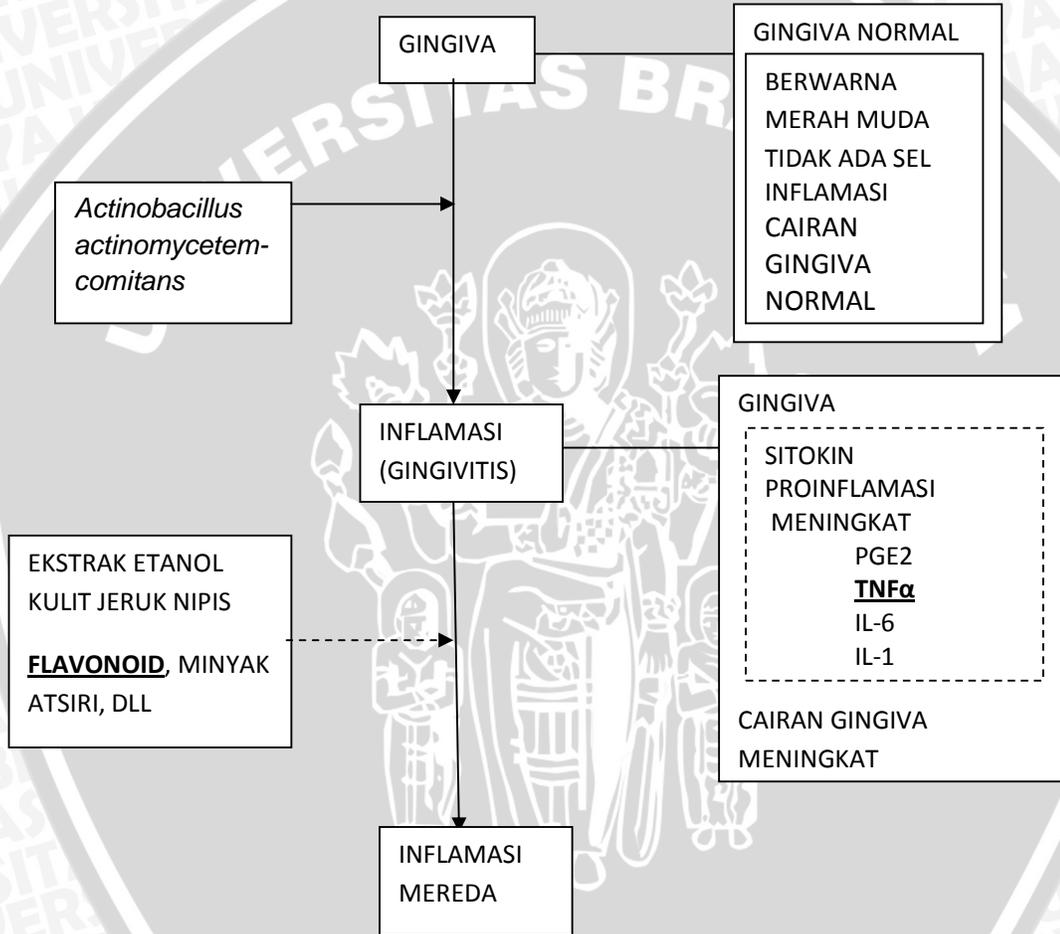
Gambar 2.2 Bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

Meskipun patogenesis dari penyakit periodontal belum diketahui secara jelas, sitokin, faktor kemotaktik, dan sel inflamasi pasti terlibat dalam penyakit periodontal. Penyakit ini merupakan penyakit inflamasi kronik pada struktur perlekatan gigi. Penyakit ini adalah penyebab utama dari tanggalnya gigi pada orang dewasa dan paling sering terjadi pada patologi penyakit pada tulang. Biofilm bakteri yang menempel pada permukaan gigi yang berhubungan dengan jaringan periodontal merupakan faktor etiologi dari penyakit periodontal. Secara *in vitro*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* menginduksi ekspresi beberapa sitokin dan kemoksin dengan tipe sel lain yang mungkin terlibat dalam memediasi pergerakan leukosit ke jaringan yang dituju (Garlet *et al*, 2005).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 kerangka konsep penelitian

Keterangan :

—————> = mempengaruhi atau menyebabkan

- - - - -> = menghambat

----- = variabel yang diteliti

Gingiva normal memiliki warna merah muda dan aliran *gingival crevicular fluid* yang normal, yang berisi serum darah, leukosit, sel periodonsium, serta flora oral. Kemudian induksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa) menyebabkan terjadinya inflamasi gingiva, hal ini disebabkan bakteri Aa merangsang lisisnya sel mast dan melepaskan mediator proinflamasi yang menimbulkan radang. Inflamasi ini menyebabkan aliran *gingival crevicular fluid* meningkat dan naiknya kadar sitokin proinflamasi di dalamnya, salah satunya adalah TNF α .

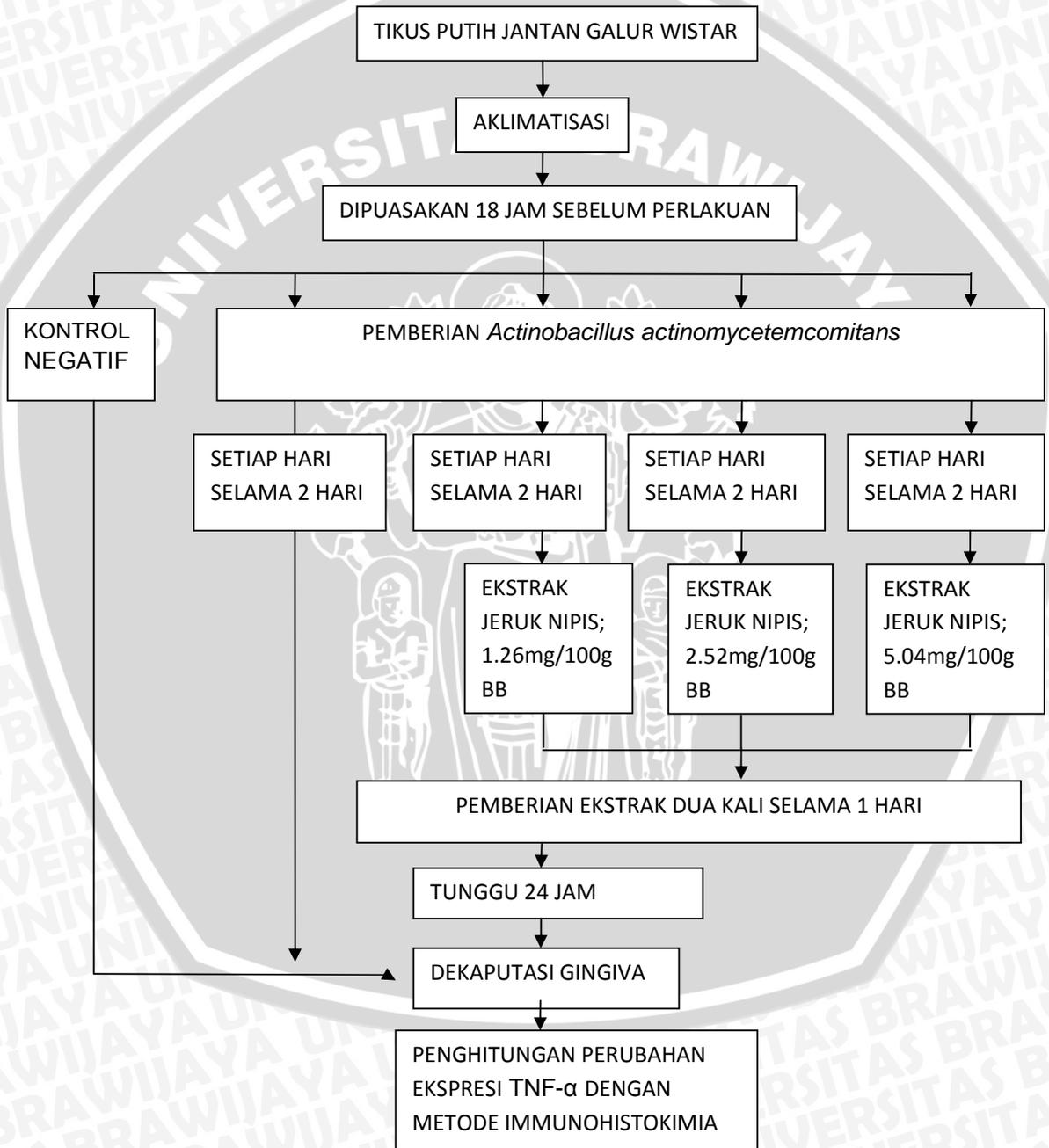
Dalam penelitian ini diberikan ekstrak etanol kulit jeruk nipis yang mempunyai kandungan flavonoid yang dapat mencegah inflamasi. Bukti dari meredanya inflamasi adalah berkurangnya *calor, rubor, dolor, tumor, loss of function, gingival crevicular fluid* serta turunnya kadar sitokin proinflamasi, yang salah satunya adalah TNF α .

3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis dapat menurunkan jumlah ekspresi TNF α pada tikus yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

BAB IV
METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian



Gambar 4.1 Rancangan penelitian

Rancangan penelitian ini adalah *True-experiment post test* dengan kelompok eksperimen dan kontrol. Pada rancangan ini, kelompok ekperimental diberi perlakuan sedangkan kelompok kontrol tidak. Sebelum dilakukan perlakuan, pada setiap kelompok diaklimatisasi untuk menyesuaikan dengan lingkungan. Kelompok objek dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (tidak diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan tidak diberikan ekstrak etanol kulit jeruk nipis), kelompok kontrol positif (diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* selama 2 hari dan tidak diberikan ekstrak etanol kulit jeruk nipis), kelompok dosis 1 (diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* selama 2 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis sebanyak 1.26 mg/100g BB dua kali selama 1 hari), kelompok dosis 2 (diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* selama 2 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis sebanyak 2.52 mg/100g BB dua kali selama 1 hari), dan kelompok dosis 3 (diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* selama 2 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis sebanyak 5.04mg/100g BB dua kali selama 1 hari).

Setelah 24 jam perlakuan, tikus dikorbankan dengan cara dimasukkan ke dalam tabung berisi eter dengan dosis letal, pada setiap kelompok dilakukan dekaputasi gingiva yang selanjutnya difiksasi dalam formalin dan didekalsifikasi. Untuk penghitungan ekspresi TNF α dilakukan pewarnaan menggunakan metode immunohistokimia.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Kriteria Inklusi Dan Eksklusi

Penelitian ini menggunakan tikus jantan galur wistar yang mempunyai kriteria :

1. Inklusi : tikus wistar jantan, usia 3-4 bulan, berat badan 150-200 gram, tidak ada kelainan anatomis ditandai dengan gerakan yang aktif (Astuti, 2010).
2. Eksklusi : tikus tampak sakit (gerakan kurang aktif) selama observasi, perubahan berat badan selama adaptasi lebih dari 10%, tidak pernah menjadi hewan coba sebelumnya.

4.2.2 Jumlah Sampel (*Sample Size*)

Teknik pengambilan sampel adalah *simple random sampling* (Nursalam, 2003). Pada penelitian ini terdapat dua kelompok/perlakuan, dengan perhitungan jumlah sampel sebagai berikut :

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

“p” adalah jumlah kelompok/perlakuan

“n” adalah banyaknya sampel pada tiap kelompok

Pada penelitian ini “p” adalah 5 jadi :

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Dapat disimpulkan jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 5 sampel pada setiap kelompok, sehingga penelitian ini membutuhkan 25 sampel tikus galur wistar.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis yang diberikan pada inflamasi gingiva.

4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah perubahan jumlah TNF α pada inflamasi gingiva.

4.3.3 Variabel Kendali

Jenis tikus, jenis kelamin tikus, berat badan tikus, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

4.4 Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Farmakologi, Mikrobiologi dan Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang dilaksanakan pada bulan Juli 2012- Januari 2013.

4.5 Bahan Dan Alat/Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat

4.5.1.1 Alat Ekstraksi Jeruk Nipis

Timbangan analitik, blender, gelas Erlenmeyer, corong gelas, evaporator, oven, labu penampung etanol, pemanas air, botol hasil ekstrak, kulit jeruk nipis, etanol 96%, aquades, kertas saring, lemari pendingin.

4.5.1.2 Alat Penginduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

Sputit 1 cc

4.5.1.3 Alat Pengambilan Gingiva

Pisau dan gunting steril

4.5.1.4 Alat Pemeliharaan Tikus

Kandang tikus, penutup kandang tikus dari anyaman kawat, botol air

4.5.1.5 Alat Pewarnaan Immunohistokimia

Blue tip, *yellow tip*, peralatan gelas, gelas obyek, mikroskop cahaya, mikropipet, box penyimpanan slide.

4.5.2 Bahan

4.5.2.1 Hewan coba

Hewan coba yang digunakan adalah *Rattus novergicus* strain galur wistar, jenis kelamin jantan berumur 3-4 bulan berat badan 150-200 gram dengan kondisi umum sehat. Tikus percobaan diperoleh dari Laboratorium Farmako FK UB. Hewan coba tersebut dipelihara dalam kandang berukuran 20x30x40 cm. dan setiap kandang berisi 5 ekor tikus.

4.5.2.2 Bahan Ekstraksi Jeruk Nipis

Kulit jeruk nipis, etanol 96%

4.5.2.3 Bahan Pewarnaan Immunohistokimia

PBS, xylol, alkohol, H₂O₂, SA-HRP, blocking buffer, antigen primer, antigen sekunder, DAB, Mayer hematoxilin, entelan.

4.5.2.4 *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

Bakteri di kultur dengan media gliserin dan dibiakkan sampai konsentrasi 1×10^8 CFU.

4.5.2.5 Bahan Makanan Tikus

Comfeed PARS (dengan kandungan air 12%, protein 11%, lemak 4%, serat 7%, abu 8%, Ca 1,1%, phosphor 0,9%, antibiotik (coccidiostat) 66,6%); tepung terigu 33,4% dan air secukupnya. Bahan untuk memandikan tikus adalah alkohol 70% yang disemprotkan setiap hari.

4.6 Definisi Istilah/Operasional

1. Sebelum diberi perlakuan dilakukan aklimatisasi pada tikus, yaitu pengkondisian dan adaptasi tikus selama 7 hari. Kemudian tikus dipuasakan 18 jam sebelum penelitian, namun tetap diberi minum.
2. Kandungan antibiotik yang cukup tinggi dalam bahan makanan bertujuan agar sebelum dilakukan penelitian tikus tidak mengalami infeksi atau inflamasi yang tidak diharapkan.
3. Inflamasi diperoleh dengan mengulas bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dengan konsentrasi 1×10^8 pada gingiva tikus coba
4. Kulit jeruk nipis yang digunakan adalah dari jeruk nipis yang berwarna hijau dan dibeli di pasar Belimbing
5. Pemberian terapi ekstrak etanol kulit jeruk nipis dibuat sendiri dan diberikan 2 kali selama 1 hari setelah pemberian bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* pada gingiva tikus coba di laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
6. Dekaputasi gingiva dengan pisau dan gunting steril

7. Pewarnaan jumlah TNF α menggunakan *metode immunohistokimia*
8. Analisis penelitian menggunakan *one way anova*

4.7 Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data

4.7.1 Pembagian Kelompok Tikus

25 tikus galur wistar dibagi dalam 5 kelompok, 3 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Pembagian dilakukan secara acak (*simple randomize sampling*).

Pembagian kelompok sebagai berikut :

1. Kontrol negatif: kelompok tikus yang tidak diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan tidak diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis
2. Kontrol positif : kelompok tikus yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* selama 2 hari dan tidak diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis.
3. Kelompok 1 : kelompok tikus yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* selama 2 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan dosis 1.26 mg/100 g BB 2 kali selama 1 hari.
4. Kelompok 2 : kelompok tikus yang diinduksi diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* selama 2 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan dosis 2.52 mg/100 g BB 2 kali selama 1 hari.
5. Kelompok 3 : kelompok tikus yang diinduksi *diinduksi Actinobacillus actinomycetemcomitans* selama 2 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan dosis 5.04 mg/100 g g BB 2 kali selama 1 hari.

4.7.2 Prosedur Ekstraksi Kulit Jeruk Nipis

Cara ekstraksi:

1. Kulit jeruk nipis dipisahkan dengan buahnya.
2. Jemur kulit jeruk nipis di bawah sinar matahari secara tidak langsung atau di angin-anginkan untuk mempertahankan kandungan zat yang terkandung didalamnya.
3. Kemudian masukkan ke dalam oven dengan suhu 60° agar didapatkan kulit jeruk nipis yang benar-benar kering.
4. Kulit jeruk nipis kering di blender lalu diayak untuk mendapatkan bubuk halus jeruk nipis.
5. Bubuk kulit jeruk nipis ditimbang dengan neraca analitik kemudian dibungkus dengan kertas saring.
6. Kertas saring berisi bubuk kulit jeruk nipis direndam di dalam tabung yang berisi etanol.
7. Rendaman tersebut dibiarkan beberapa hari sampai ditemukan rendaman yang pekat.
8. Hasil ini selanjutnya dievaporasi (untuk memisahkan ekstrak jeruk nipis dengan pelarut etanol).

Cara evaporasi:

1. Evaporator dipasang pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30 – 40 derajat terhadap meja percobaan.
2. Hasil ekstraksi termasuk batu didihnya dipindahkan dari labu destilasi ke labu pemisah ekstraksi. Labu pemisah ekstraksi dihubungkan pada bagian atas *evaporator*, kemudian pendingin spiral dan vakum dihubungkan dengan selang plastik.

3. *Water pump* ditempatkan dalam bak yang berisi aquades dan dihubungkan dengan sumber listrik sehingga aquades mengalir memenuhi pendingin spiral, tunggu sampai air mengalir sampai rata.
4. Letakkan satu set alat *evaporator* sehingga sebagian labu pemisah ekstraksi terendam aquades pada *waterbath*.
5. Vakum dan *waterbath* dihubungkan dengan sumber listrik dan suhu *waterbath* dinaikkan kira kira 35-40 derajat (sesuai suhu refluks etanol).
6. Biarkan sirkulasi berjalan sehingga hasil evaporasi tertampung di dalam labu pemisah ekstraksi selama 3jam.
7. Panaskan di dalam oven dengan suhu 50-60 derajat Celsius selama kurang lebih 1 jam.

Simpan ekstrak kulit jeruk nipis dalam lemari pendingin untuk dipakai saat penelitian.

4.7.3 Induksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

Bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* didapatkan dan dikultur di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Induksi menggunakan spuit 1 cc.

4.7.4 Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis

Pada penelitian ini diberikan 3 perlakuan, yaitu pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis dosis 1 sebesar 1,26 mg/100 g ram BB, pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis dosis 2 sebesar 2,52 mg/100 gram BB, dan pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis dosis 3 sebesar 5,04mg/100 gram BB (Widowati, 2011). Pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan cara menggunakan sonde *gastric*, agar jumlah ekstrak etanol kulit jeruk nipis yang dikonsumsi tikus sesuai

dengan dosis yang diinginkan. Pemberiannya dilakukan dua kali selama satu hari.

4.7.5 Prosedur Pewarnaan Ekspresi TNF α

Setelah 24 jam pemberian ekstrak, dengan tujuan ekstrak telah diabsorpsi dan didistribusikan ke seluruh tubuh termasuk jaringan terinflamasi, kemudian dilakukan pengambilan jaringan gingiva dengan cara tikus terlebih dahulu dimasukkan ke dalam tabung eter dengan dosis letal, selanjutnya gingiva didekaputasi. Jaringan yang diambil difiksasi menggunakan larutan formalin. Sampel jaringan yang telah difiksasi didekalsifikasi menggunakan EDTA. Jaringan yang diambil difiksasi menggunakan larutan formalin, sampel jaringan yang telah difiksasi direndam menggunakan alkohol untuk menghilangkan air dalam jaringan, kemudian diinfiltrasi. Jaringan yang awalnya lembek akan menjadi keras sehingga lebih mudah dipotong menggunakan mikrotom. Pemotongan dengan mikrotom ini akan menghasilkan lapisan dengan ketebalan 5 mikrometer. Lapisan ini kemudian diletakkan di atas kaca obyek untuk diwarnai. Proses selanjutnya dilakukan penghitungan ekspresi TNF α dengan menggunakan teknik immunohistokimia.

Teknik ini memanfaatkan prinsip ikatan antara antigen dan antibodi. Proses pewarnaan diawali dengan deparafinisasi jaringan dengan xilol dan rehidrasi dengan alkohol dan PBS. Jaringan kemudian diinkubasikan dalam larutan H₂O₂ 30% selama 15 menit untuk menghilangkan aktifitas peroksidase endogen. Jaringan diinkubasikan dalam serum normal selama 60 menit untuk menutupi sebagian antigen yang tidak spesifik. Setelah itu jaringan diinkubasi dalam antibodi anti TNF α pada suhu 4°C selama semalam, kemudian

diinkubasikan selama 60 menit dalam antibodi sekunder (*antimouse IgG, Dako Envision*). Cuci dengan PBS PH 7,4 3 kali pada masing-masing selama 5 menit, tetesi dengan SA-HRP dan inkubasi 40 menit, reaksi antigen dengan antibody divisualisasikan dengan menggunakan *diamino benzidine (DAB)* selama 20 menit. Setelah dilakukan *dehidrasi* dan *clearing*, jaringan kemudian dimounting dengan entelan (Adnyane dkk, 2007).

4.8 Analisis Data

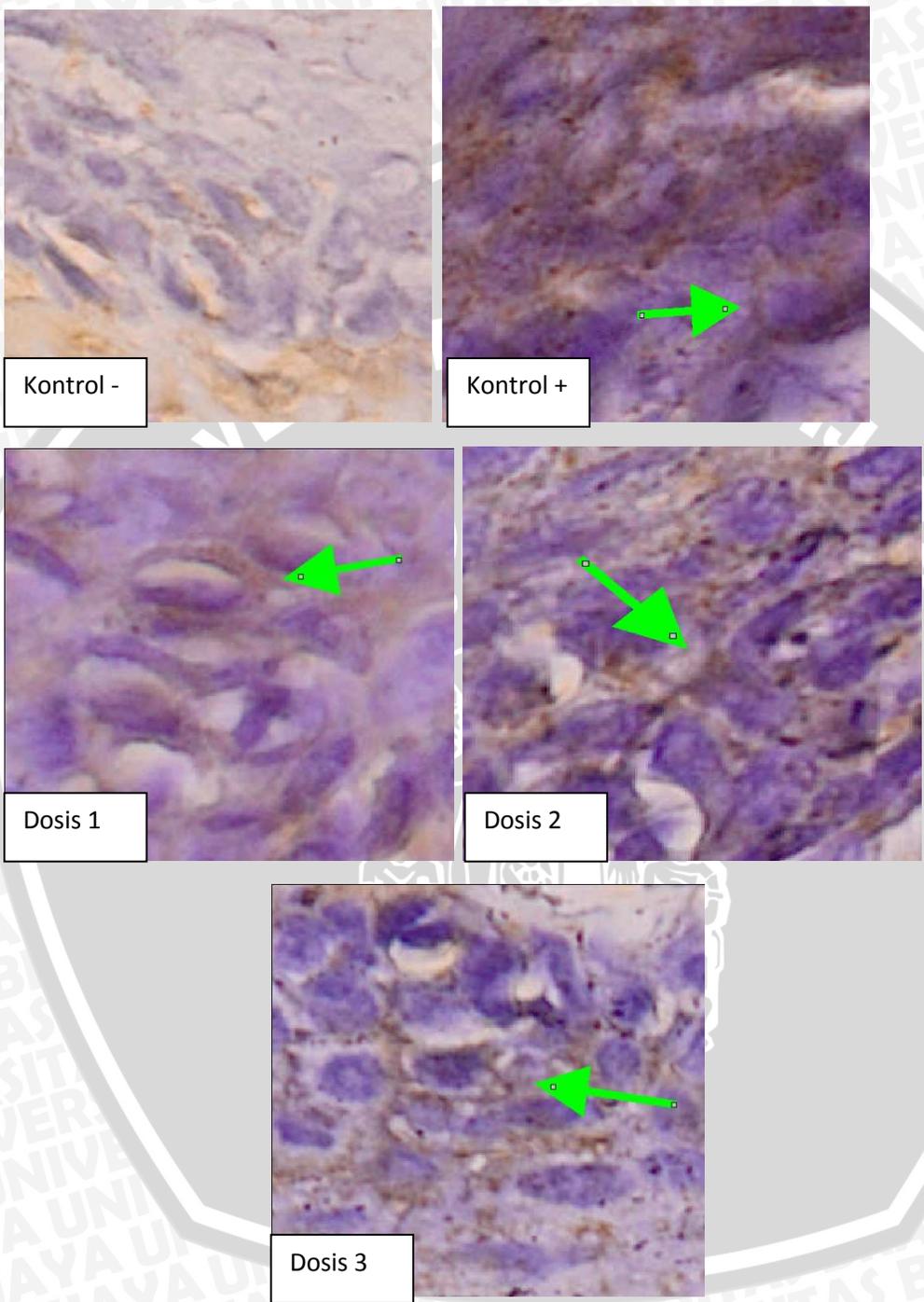
Data pada penelitian ini adalah ekspresi TNF α serum, data tersebut dianalisa dengan program SPSS 16 for windows dengan memakai uji statistik *One Way ANOVA*, untuk mengetahui perbedaan jumlah TNF- α antara kelompok kontrol dengan kelompok dosis 1, dosis 2 dan dosis 3. Dikatakan perbedaan bermakna apabila didapatkan $p < 0,05$ dan hipotesis yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan jumlah ekspresi TNF α pada gingiva tikus jantan galur wistar antar kelompok yang berbeda. Namun, bila $p > 0,05$ berarti hipotesis tersebut ditolak. Apabila $p < 0,05$, dilanjutkan dengan uji *post hoc multiple comparison* untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda bermakna.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Hewan coba pada penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol negatif tikus tidak diberikan perlakuan, sedangkan pada kelompok kontrol positif dan 3 kelompok perlakuan lainnya dilakukan induksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* sebanyak 0,1 ml pagi dan siang selama 2 hari. Pada 3 kelompok perlakuan setelah mendapat induksi bakteri dilakukan pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sehari setelahnya dengan dosis yang berbeda, yaitu 1.26 mg/100g BB; 2.52 mg/100g BB; dan 5.04mg/100g BB. Pengambilan data dilakukan dengan mengambil preparat gingiva bagian anterior mandibula tikus, lalu dibuat menjadi preparat histologis. Penentuan jumlah ekspresi TNF α dilakukan secara manual dengan menghitung sel epitel gingiva yang mempunyai sitoplasma berwarna coklat, penghitungan pada preparat histologis ini dilakukan dengan mikroskop pembesaran 400x insert 1000x sebanyak 20 lapangan pandang kemudian dirata-rata. Hasil penghitungan jumlah TNF α pada epitel gingiva tikus jantan galur wistar kelompok kontrol dan perlakuan adalah sebagai berikut.



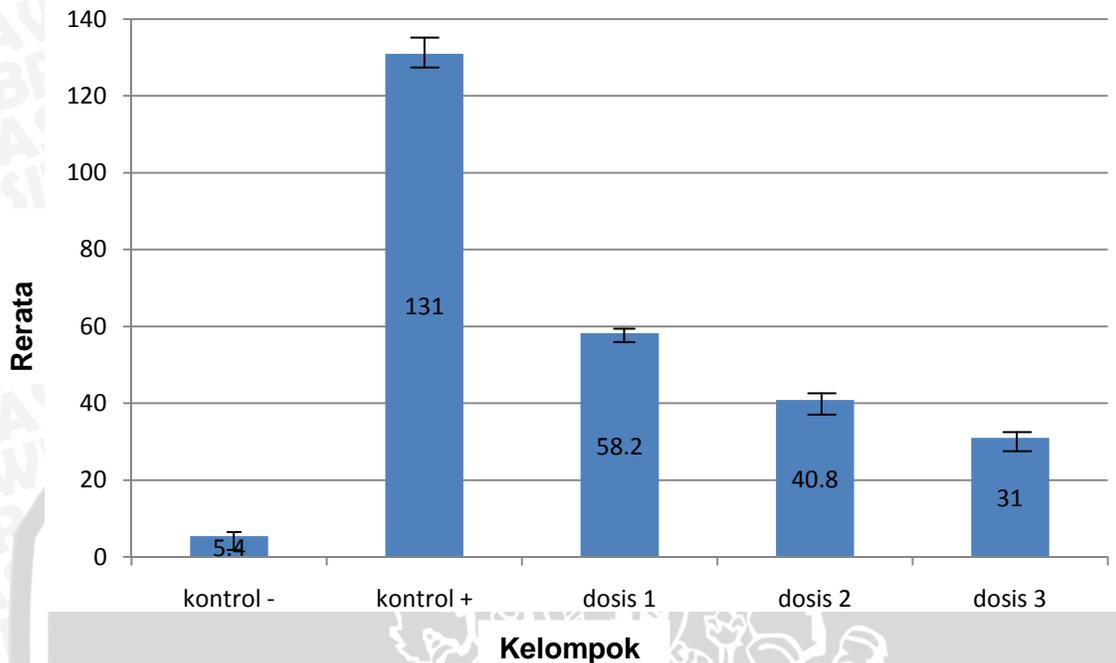
Gambar 5.1 Potongan Gingiva Mandibula Tikus dengan Pewarnaan Imunohistokimia dan Pembesaran 400x Insert 1000x dengan Mikroskop Olympus Serta Discan dengan Mikroskop Olympus Software scan.com

Gambaran mikroskopik pada kontrol negatif tampak hanya beberapa sel yang terekspresi TNF α dengan ditandai sitoplasma yang berwarna kecoklatan, sedangkan pada kontrol positif tampak sangat banyak TNF α yang terekspresi. Pada kelompok perlakuan 1 dengan dosis 1.26 mg/100g BB terdapat sedikit jumlah TNF α dibanding kontrol positif. Pada kelompok perlakuan 2 dengan dosis 2.52 mg/100g BB terdapat lebih sedikit jumlah TNF α . Pada kelompok perlakuan 3 dengan dosis 5.04mg/100g BB terdapat lebih sedikit jumlah TNF α bila dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2. Pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mempengaruhi jumlah ekspresi TNF α pada gingiva tikus jika dibandingkan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak setelah diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Rerata Jumlah Ekspresi TNF α pada Epitel Gingiva Tikus Pemeriksaan Mikroskop Pembesaran 400x Insert 1000x Sebanyak 20 Lapang Pandang

Kelompok	Rerata perlakuan	Standar deviasi
Kontrol positif	131	10,29563
Kontrol negative	5,4	2,88097
1.26 mg/100g BB	58,2	1,48324
2.52 mg/100g BB	40,8	3,19374
5.04mg/100g BB	31	3,741657

Penyajian data hasil penghitungan TNF α pada gingiva tikus jantan galur wistar ditulis dengan format mean \pm standar deviasi.



Gambar 5.2 Diagram Rerata dan Standar Deviasi Jumlah Ekspresi TNF α pada Gingiva Tikus Jantan Galur Wistar Dengan Pemeriksaan Mikroskop Pembesaran 400x Insert 1000x Sebanyak 20 Lapang Pandang

5.2 Analisis Data

Data pada penelitian ini adalah ekspresi TNF α , data tersebut dianalisa dengan program *SPSS 16 for windows* dengan memakai uji statistik *One Way ANOVA*, untuk mengetahui perbedaan jumlah TNF α antara kelompok kontrol dengan kelompok dosis 1, dosis 2 dan dosis 3. H_0 diterima bila nilai signifikansi yang diperoleh $> 0,05$, sedangkan H_0 ditolak bila nilai signifikansi yang diperoleh $< 0,05$. H_0 dari penelitian ini adalah tidak terdapat perbedaan jumlah TNF α antar kelompok, sedangkan H_1 adalah terdapat perbedaan jumlah TNF α antar kelompok. Maka syarat-syaratnya harus dipenuhi untuk lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan. Syarat uji *One Way ANOVA* adalah populasi yang diuji mempunyai

data yang distribusinya normal, varian dari populasi tersebut sama (homogen) dan sampel tidak berhubungan dengan yang lain (Hartono, 2011).

5.2.1 Uji Normalitas Data

Uji untuk menentukan normalitas data adalah dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk, dimana suatu data dikatakan mempunyai sebaran normal apabila nilai $p > 0.05$ (Sarwono, 2011). Berdasarkan uji Saphiro-Wilk didapatkan data untuk semua kelompok mempunyai sebaran yang normal (lihat lampiran 2) sehingga p diterima dan dapat disimpulkan bahwa data variabel tersebut menyebar mengikuti sebaran normal. Dengan demikian maka salah satu syarat uji *One Way ANOVA* telah terpenuhi.

5.2.2 Uji Homogenitas Varian

Setelah mengetahui sebaran data normal, selanjutnya menentukan apakah data jumlah ekspresi TNF α memiliki varian yang berbeda atau tidak dengan uji homognitas Levene (lihat lampiran 3). Pada uji Levene suatu data dikatakan mempunyai varian normal apabila nilai $p > 0.05$ (Hartono, 2011). Pada tabel uji homogenitas didapatkan bahwa data memiliki varian yang sama $p > 0,05$ dengan nilai $p = 0.057$. Dengan demikian analisis data dapat dilakukan dengan uji *One Way ANOVA*.

5.2.3 Uji One Way ANOVA

Uji analisis *One Way ANOVA* digunakan untuk mengevaluasi perbedaan nilai jumlah ekspresi TNF α antar kelompok. Melalui uji ini diketahui apakah terdapat

perbedaan jumlah ekspresi TNF α yang signifikan antar kelompok. Perbedaan rerata dianggap bermakna jika nilai $p < 0,05$ atau H_0 ditolak (Hartono, 2011). Pada uji *One Way ANOVA* ini H_0 adalah “kelima kelompok mempunyai jumlah ekspresi TNF α yang sama”. Dengan nilai $p = 0.000$ (lihat lampiran 4), berdasarkan hasil tersebut maka H_0 ditolak sehingga dapat disimpulkan bahwa “terdapat perbedaan jumlah ekspresi TNF α pada gingiva tikus jantan galur wistar antar kelompok yang berbeda”.

5.2.4 Uji Post Hoc Multiple Comparison

Uji untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda bermakna adalah dengan menggunakan Post Hoc Multiple Comparison. Metode yang digunakan adalah uji Tukey (lihat lampiran 5). Pada uji Post Hoc Tukey, data dikatakan berbeda secara bermakna apabila nilai signifikansi $p < 0,05$ serta pada interval kepercayaan 95% (IK 95%) (Hartono, 2011). Berdasarkan output uji tersebut didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 5.2 Tabel Uji Komparasi Multiple Jumlah Ekspresi TNF α Pada Tikus Jantan Galur Wistar

	Kontrol -	Kontrol +	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3
Kontrol -	-	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
Kontrol +	0.000*	-	0.000*	0.000*	0.000*
Dosis 1	0.000*	0.000*	-	0.000*	0.000*
Dosis 2	0.000*	0.000*	0.000*	-	0.058
Dosis 3	0.000*	0.000*	0.000*	0.058	-

Keterangan:

*Nilai $p < 0.05$ = terdapat perbedaan yang bermakna antara dua kelompok

Kontrol - : tikus coba tidak diberikan perlakuan apapun

Kontrol +: pengulasan bakteri tanpa pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis

Dosis 1 : pengulasan bakteri dengan pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis 1,26 mg/100 g BB

Dosis 2 : pengulasan bakteri dengan pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis 2,52 mg/100g BB

Dosis 3 : pengulasan bakteri dengan pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis 5,04 mg/100g BB

Berdasarkan tabel 5.2 tentang uji komparasi multiple jumlah ekspresi TNF α pada gingiva tikus jantan galur wistar :

1. Kelompok yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan tidak diberikan ekstrak etanol kulit jeruk nipis (kontrol + = $131 \pm 10,29563$) mengalami peningkatan jumlah ekspresi TNF α yang bermakna dibandingkan dengan Kelompok tikus yang tidak diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan tidak diberikan ekstrak etanol kulit jeruk nipis (kontrol - = $54 \pm 2,8897$).
2. Kelompok tikus yang diberikan ekstrak etanol kulit jeruk nipis 1,26 mg/100 g BB, 2,52 mg/100g BB, dan 5,04 mg/100g BB (Dosis 1 = $58,2 \pm 1,48324$; Dosis 2 = $40,8 \pm 3,19374$; Dosis 3 = $31 \pm 3,74166$) mengalami penurunan jumlah ekspresi TNF α yang bermakna dibandingkan dengan kelompok yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan tidak diberikan ekstrak etanol kulit jeruk nipis (kontrol + = $131 \pm 10,29563$)
3. Kelompok tikus yang diberikan ekstrak etanol kulit jeruk nipis 2,52 mg/100g BB, dan 5,04 mg/100g BB (Dosis 2 = $40,8 \pm 3,19374$; Dosis 3 = $31 \pm 3,74166$) mengalami penurunan jumlah ekspresi TNF α yang bermakna dibandingkan dengan kelompok yang diberikan ekstrak etanol kulit jeruk nipis 1,26 mg/100 g BB (Dosis 1 = $58,2 \pm 1,48324$).
4. Kelompok tikus yang diberikan ekstrak etanol kulit jeruk nipis 2,52 mg/100g BB (Dosis 2 = $40,8 \pm 3,19374$) mengalami penurunan jumlah ekspresi TNF- α yang tidak bermakna dibandingkan jumlah dengan kelompok yang diberikan ekstrak etanol kulit jeruk nipis 5,04 mg/100g BB (Dosis 3 = $31 \pm 3,74166$).

Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan satu dengan kelompok lainnya, namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3.

5.2.5 Uji Korelasi Pearson

Uji korelasi Pearson digunakan untuk membuktikan korelasi antara peningkatan dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis terhadap jumlah ekspresi TNF α . Agar penafsiran dapat dilakukan sesuai dengan ketentuan, kita perlu mempunyai kriteria yang menunjukkan kuat atau lemahnya korelasi.

Korelasi dapat berupa negatif dan positif. Apabila korelasi menunjukkan arah positif itu berarti jika variabel 1 besar maka variabel 2 semakin besar, namun apabila korelasi menunjukkan arah negatif itu berarti jika variabel 1 besar maka variabel 2 menjadi kecil.

Hubungan kedua variabel signifikan apabila nilai probabilitas atau signifikansi < 0.05 , dan hubungan kedua variabel dianggap tidak signifikan apabila nilai probabilitas atau signifikansi > 0.05 . Namun jika output SPSS pada angka korelasi diberi tanda 2 bintang (**), maka probabilitas atau signifikansi menjadi 0,01 (Sarwono, 2011). Dari hasil penghitungan korelasi pearson (lampiran 6) dapat diketahui bahwa :

1. Kekuatan korelasi (r) = 0.914, dengan demikian terdapat korelasi yang sangat kuat antara dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan jumlah ekspresi TNF α pada gingiva tikus jantan galur wistar

2. Arah korelasi adalah negatif, berarti semakin besar dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis maka semakin kecil jumlah ekspresi TNF α pada gingiva tikus jantan galur wistar.

Pengaruh ekstrak etanol kulit jeruk nipis terhadap jumlah ekspresi TNF α dapat diketahui menggunakan analisis bentuk hubungan (regresi) karena dari uji korelasi belum dapat menjelaskan hal tersebut. Analisa regresi digunakan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol kulit jeruk nipis terhadap jumlah ekspresi TNF α .

Uji regresi terbukti signifikan secara statistik, dapat juga digunakan untuk memprediksi nilai y dalam hal ini adalah jumlah ekspresi TNF α dan nilai x yaitu dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis. Hasil pengujian dengan menggunakan analisis regresi linier (lampiran 7) menghasilkan persamaan regresi $y = 63,100 - 6,723x$ dengan nilai *R square* 0,836. Dari persamaan awal $y = a - bx$ maka dapat diketahui bahwa nilai a adalah 63,100 yang berarti jumlah ekspresi TNF α rata-rata adalah 63,100 jika tidak ada variabel x (ekstrak etanol kulit jeruk nipis), sedangkan nilai b adalah -6,723 yang berarti jumlah ekspresi TNF- α akan menurun sebesar 6,723 untuk setiap tambahan 1% x (dosis ekstrak).

Koefisien determinasi (*R square*) digunakan untuk menghitung besarnya pengaruh atau kontribusi variabel bebas terhadap variabel terikat. Dari analisa tabel 5.3 diperoleh hasil *R square* (koefisien determinasi) adalah 0,836 yang berarti bahwa 83,6 % variabel jumlah ekspresi TNF α dipengaruhi oleh variabel bebasnya yaitu ekstrak etanol kulit jeruk nipis. Sedangkan sisanya 16,4 % variabel jumlah

ekspresi TNF α dipengaruhi oleh variabel-variabel lain yang tidak diteliti pada penelitian ini.



BAB VI

PEMBAHASAN

Hasil penelitian untuk kelompok kontrol positif didapatkan jumlah ekspresi TNF α berbeda secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif tanpa perlakuan. Hal ini didukung oleh penelitian Gustavo P Garlet bahwa telah ditemukannya ekspresi dari mediator proinflamasi dan sitokin tipe Th-1 termasuk di dalamnya TNF α , IFN γ dan IL12 pada jaringan periodontal setelah infeksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, dari tahap awal infeksi dan selama penyakit berlangsung mulai dari 6 jam post infeksi (Garlet *et al*, 2005),. Faktor virulensi dari bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dapat memodulasi inflamasi, menyebabkan kerusakan jaringan dan menghambat perbaikan jaringan (Henderson *et al*, 2002). LPS dari bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Henderson *et al*, 2002) akan mengaktifasi NF- κ B yang akan memodulasi naiknya sitokin proinflamasi yaitu TNF α (Gosh and Karin, 2002).

Hasil penelitian terhadap kelompok tikus jantan galur wistar perlakuan (tabel 5.1 dan gambar 5.2) menunjukkan penurunan terhadap jumlah ekspresi TNF α yang diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan diberikan ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan dosis 1.26 mg/100g BB; 2.52 mg/100g BB; dan 5.04mg/100g BB jika dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol positif yang hanya diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Hal ini dapat didukung berdasarkan penelitian Do-Hoon Lee bahwa dari beberapa nutrisi buah jeruk, flavonoid mempunyai banyak manfaat dalam bidang

kesehatan salah satunya adalah antiinflamasi. Buah jeruk mempunyai banyak macam flavonoid, diantaranya adalah naringin, naringenin, narirutin, nobiletin, quercetin, kaempferol, hesperidin, neohesperidin, didymin dan poncirin (Lee *et al*, 2011). Berdasarkan penelitian in-vitro dari Tsui VW, naringin yang merupakan salah satu flavonoid dapat mengurangi pertumbuhan bakteri *Actinobacillus actinoycetemcomitans* secara signifikan dalam tiga jam dan tidak ada koloni bakteri yang terbentuk setelah 24 jam (Tsui *et al*, 2008).

Berdasarkan penelitian Gonzales J Gallego efek dari flavonoid pada proses inflamasi adalah mereka dapat menghambat beberapa enzim yang terdapat dalam proses inflamasi, selain itu ditemukan juga bahwa beberapa flavonoid seperti kaempferol dapat menghambat produksi $TNF\alpha$ (Gallego, 2007). Selain itu mekanisme antiinflamasi yang dilakukan oleh flavonoid dapat melalui beberapa jalur yaitu dapat menghambat aktifitas enzim COX atau lipoxigenase dan flavonoid dapat menurunkan jumlah leukosit imobile serta mengurangi aktivitas komplemen sehingga menurunkan adhesi leukosit ke endotel dan mengakibatkan penurunan respon inflamasi tubuh (Nijveldt, 2001).

Menurut Andi Asadul Islam $TNF\alpha$ merupakan sitokin yang diproduksi oleh berbagai macam tipe sel dan merupakan salah satu mediator imunologi yang pertama kali muncul akibat respon infeksi atau trauma. Efeknya tidak langsung merusak neuron, namun menstimulasi respon inflamasi sehingga berperan dalam cedera otak sekunder, selain itu $TNF\alpha$ juga berperan dalam respon adaptif terhadap inflamasi (Islam, 2007).

Pada pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan dosis 1.26 mg/100g BB; 2.52 mg/100g BB; dan 5.04mg/100g BB didapatkan kecenderungan penurunan jumlah ekspresi TNF α setelah induksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Hal ini sesuai dengan hipotesis bahwa pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis dapat menurunkan kadar TNF α pada tikus yang telah diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ditandai dengan menurunnya jumlah ekspresi TNF α pada kelompok tikus perlakuan yang diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis. Namun melalui uji Post Hoc Multiple Comparison disimpulkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara dosis 2.52 mg/100g BB dan 5.04mg/100g BB). Pada penelitian Amelia Kartika mengenai ekstrak daun jeruk nipis sebagai antipiretik didapatkan 2.52 mg/100g BB sebagai dosis yang memberikan hasil optimal (Widowati, 2011). Saat terjadi inflamasi muncul mediator kimia, yaitu prostaglandin yang akan menyebabkan vasodilatasi, relaksasi otot polos, naiknya permeabilitas kapiler dan sensitifitas sel saraf terhadap nyeri yang akhirnya mempengaruhi naiknya suhu tubuh (Kee, 1996). Menurut Brian Henderson dalam *Journal Medical Microbiol* kapsul bakteri mempunyai peran utama dalam virulensi bakteri karena peran mereka dalam kekebalan untuk proteksi diri. Kapsul *Actinobacillus actinomycetemcomitans* mengandung gula yang tidak biasa, yaitu 6-dioksi-Dtalose dan telah teridentifikasi mempunyai pengkodean gen yang unik pada protein yang terlibat dalam sintesis gula ini. Maka dapat dikatakan bahwa kapsul *Actinobacillus actinomycetemcomitans* mempunyai sifat yang tidak biasa (Henderson, 2002).

Berdasarkan hasil statistik uji korelasi Pearson (lampiran 5) didapatkan bahwa terdapat korelasi yang sangat kuat (0,914) dan signifikan ($p = 0,000$) mengenai hubungan antara peningkatan dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan jumlah ekspresi TNF α pada gingiva tikus jantan galur wistar. Koefisien sebesar 0,914 berarti bahwa kontribusi pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis dalam penurunan jumlah ekspresi TNF α pada gingiva tikus jantan galur wistar adalah sebesar 91,4% sedangkan sisanya 8,6% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti. Faktor-faktor tersebut bisa merupakan akibat dari kondisi tikus itu sendiri sehingga mempengaruhi tingkat absorpsi kandungan zat aktif pada ekstrak etanol kulit jeruk nipis, akibat adanya zat-zat lain selain flavonoid yang terdapat dalam ekstrak etanol kulit jeruk nipis yang dapat menghambat penurunan jumlah ekspresi TNF- α , atau cara induksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* yang kurang sempurna. Arah korelasi adalah negatif, yang berarti semakin besar dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis maka semakin sedikit jumlah TNF α yang terekspresi pada epitel gingiva tikus jantan galur wistar.

BAB VII PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan mengenai pengaruh ekstrak etanol kulit jeruk nipis terhadap perubahan jumlah TNF α pada gingiva tikus jantan galur wistar yang telah diinduksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, maka dapat disimpulkan:

1. Ekstrak etanol kulit jeruk nipis dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan inflamasi
2. Ekstrak etanol kulit jeruk nipis mampu menurunkan jumlah ekspresi TNF α setelah induksi bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* bila dibandingkan dengan kontrol positif yang hanya diinduksi bakteri.

7.2 Saran

7.2.1 Diperlukan penelitian yang lebih lanjut untuk pengembangan ilmu pengetahuan mengenai :

1. Efek samping dan toksisitas ekstrak etanol kulit jeruk nipis
2. Daya absorpsi ekstrak etanol kulit jeruk nipis pada tubuh
3. Dosis efektif ekstrak etanol kulit jeruk nipis untuk menurunkan inflamasi.

7.2.2 Bagi masyarakat diperlukan sosialisasi mengenai banyaknya manfaat kulit jeruk nipis, sehingga dapat dibudidayakan dan ditanam sebagai tanaman obat.

Daftar Pustaka

- AAK. 1994. *Budidaya Tanaman Jeruk*. Kanisius: Yogyakarta, hal. 14-15, 200-201.
- Adnyane, I Ketut Mudite dkk. Sel Penghasil Lisozim Terdeteksi Pada Kelenjar Ludah Sapi Dengan Teknik Imunohistokimia. *Journal veterinerian*, 2007; 8 (1): 10-15.
- Astuti, Nur Endah Puji. 2010. *Efek Antiinflamasi Fraksi Tidak Larut Air Ekstrak Etanol Kulit Kacang Tanah (Arachis hypogaea L.) Pada Tikus Jantan Galur Wistar Yang Terinduksi Karagenin*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Cawson, RA dan Odell, EW dan Porter 2002. *Oral Pathology And Oral Medicine*. 7th Ed., Elsevier, USA, p. 70-76.
- Chang, L.C. and Kinghorn, A.D. 2001. 'Flavonoid as Cancer Chemopreventive Agents'. in :Trigali, C, Bioactive Compounds from Natural Sources, Isolation, Characterisation and Biological Properties, Taylor and Francis, New York.
- Daya, Ratnasooriya W. et al. Antinociceptive Activity Of Cold Water Extract Of Desmodium Triflorum In Rats. *International Research Journal Of Pharmacy*, 2011; 2 (7): 120-123.
- Ekaputri, Sara dan Masulili, Sri Lelyati C. Cairan Sulkus Gingiva Sebagai Indikator Keadaan Jaringan Periodontal. *Majalah Kedokteran Gigi*, 2010; 17 (1): 81-86.
- Fedi, Peter F dan Vernino, Arthur R dan Gray, John R. 2005. *Silabus Periodonti*, 4th Ed., EGC, Jakarta, hal. 1-3, 30, 40-42, 84.
- Feghali, CA and Wright, TM. Cytokines In Acute And Chronic Inflammation. *Frontiers In Bioscience* 2, 1997, d12-26.
- Gallego, JG dan Campos, SS. Anti-Inflammatory Properties Of Dietary Flavonoids. *Nutricion Hospitalaria*, 2007, 22(3):287-93.
- Garlet P.Gustavo et al. Actinobacillus actinomycetemcomitans-induced periodontal disease in mice: patterns of cytokine, chemokine, and chemokine receptor expression and leukocyte migration. *Microbes and Infection*, 2005, 7 738-747.

Gosh, Shankar and Karin, Michael. Missing Pieces in The NF- κ B Puzzle. *Cell*, 2007, Vol. 109, S81-S96.

Hafsari, L Suci. 2008. Perawatan Dasar Gingivitis Pada Anak (*Online*). http://library.usu.ac.id/templates/tcl_zelena_fixed/favicon.ico . Diakses tanggal 22 Desember 2011. Pukul 14.25 WIB.

Henderson, Brian et al. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Journal Medical Microbiol* Vol 51 (2002), 1013-1020 ISSN 0022-2615.

Islam, A Asadul. Rasio TNF- α /IL-10 Serum Awal Sebagai Prediktor Luaran Pada Operasi Epidural Hematom. *Majalah Kedokteran Indonesia*, 2007, Volume:57, Nomor:12.

Kee, Joyce L and Hayes, Evelyn R. 1996. *Farmakologi*. EGC, Jakarta, hal 310.

Kesic, Ljiljana et al. Microbial Etiology Of Periodontal Disease. *Medicine And biology*, 2008, Volume 15 no. 1 p. 1-6.

Kim Hyun Pyo dan Son, Kun Ho dan Chang, Wook Hyeun dan Kang, Sam Sik. Anti-inflammatory Plant Flavonoids And Cellular Action Mechanism. *Journal Of Pharmacological Science*, 2004; 96, 229-245.

Ladaniya, Milind S. 2008. *Citrus Fruit : Biology, Technology And Evaluation*, 1th Ed., Elsevier, USA, p. 161-163.

Lee, Do-Hoon et al. *Flavonoids Isolated from Korea Citrus aurantium L. Induce G2/M Phase Arrest and Apoptosis in Human Gastric Cancer AGS Cells*. 2011.

Newman, MG and Takei, HH and Carranza, FA. 2006. *Clinical Periodontology*, 10th Ed., Elsevier, USA, p.16-17, 113, 401, 412.

Nijveldt, R. J., E. van Nood, D.E.C. van Hoorn, P.G. Boelens, K. van Norren, P.A.M. van Leeuwen. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical and Nutrition* 74:418-425.

Pramono, Coen dkk. 2008. *Pedoman Diagnosis Dan Terapi*, Universitas Airlangga, Surabaya, hal 78-80, 82.

Pratiwi, Dewi dkk. 2008. Ekstrak Etanolik Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* (Cristm.) Swingle) Meningkatkan Ekpresi P53 Pada Sel Payudara Tikus Galur SpagueDawley Terinduksi 7,12 Dymethylbenzen[A]Antrasena. Jurnal penelitian disajikan dalam Kongres Ilmiah Nasional ISFI XVI, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, 11-12 Agustus 2008.

Purba, Jan S. Nyeri Dan Sistem Imun : Sejauh Mana Keterkaitannya. *Majalah Kedokteran Indonesia*, 2009, Volume 22 No. 1.

Popa et al. The role of TNF-alpha in chronic inflammatory conditions , intermediary metabolism, and Cardiovascular risk. *Journal of lipid research* , 2007, vol 48, 751-761.

Radiska, Sintya. 2009. *Formulasi Sediaan Salep (OINTMENT) Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantiifolia (Christm&Panz) Swingle) Sebagai Anti Jerawat Dan Uji Efektifitas Antibakteri Secara In Vitro*. Skripsi. Tidak diterbitkan. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah, Surakarta.

Raharjo, Setyo. 2010. *Pengaruh Hemodialisis Terhadap Kadar TNF- α Dan Prokalsitonin Pada Pasien Nefropati Diabetik Stadium V*. Tesis. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Sebelas Maret, Solo.

Riyanti, Eriska. Penatalaksanaan Terkini Gingivitis kronis Pada Anak. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 2008, Volume 23 No. 3.

Tracey, K and Cerami, A. 1994. Tumor Necrosis Factor : A Pleitropic Cytokine and Therapeutic Target. *Annual Review of Medicine*. 45 :491-503.

Tsui VW and Wong RW and Rabie Ab. 2008. The Inhibitory Effects Of Naringin On The Growth O Periodontal Patogens In Vitro. (Abstract). *NCBI Resources*, March; 22(3):401-6.

Waji, R Agestia dan Sugrani, A. 2009. *Flavonoid (Quercetin)*. Tesis. Tidak diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hassanudin, Makassar.

Widowati, AK dan Hikmayani, MH dan Poncorini, EP. 2011. *Efek Antipiretik Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolium L) Pada Tikus Putih (Rattus novergicus)*. Jurnal Penelitian disajikan dalam Seminar Nasional PERHIPBA dan Konas IV Obat Tradisional Indonesia, Hotel Sahid Jaya, Solo, 9-10 November 2011.

Lampiran 1

DATA HASIL PENELITIAN**Tabel 1. Hasil Pengamatan Sel Epitel**

Ulangan	Kontrol (+)	Kontrol (-)	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
1	121	6	56	39	34
2	131	10	58	45	32
3	147	3	60	37	34
4	123	3	58	40	25
5	133	5	59	43	30

Lampiran 2

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas**Explore****Tests of Normality**

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah TNF alfa	Kontrol (+)	.223	5	.200	.915	5	.497
	Kontrol (-)	.218	5	.200	.871	5	.269
	Dosis 1.26 mg	.246	5	.200	.956	5	.777
	Dosis 2.52 mg	.199	5	.200	.967	5	.858
	Dosis 5.04 mg	.211	5	.200	.862	5	.235

a. Lilliefors Significance Correction

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

Lampiran 3

Tabel 3. Hasil Uji Homogenitas**Test of Homogeneity of Variances**

Jumlah TNF alfa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.746	4	20	.057

Lampiran 4

Tabel 4. Hasil Uji One Way ANOVA

Oneway

Descriptives								
Jumlah TNF alfa								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol (+)	5	131.0000	10.29563	4.60435	118.2163	143.7837	121.00	147.00
Kontrol (-)	5	5.4000	2.88097	1.28841	1.8228	8.9772	3.00	10.00
Dosis 1.26 mg	5	58.2000	1.48324	.66332	56.3583	60.0417	56.00	60.00
Dosis 2.52 mg	5	40.8000	3.19374	1.42829	36.8344	44.7656	37.00	45.00
Dosis 5.04 mg	5	31.0000	3.74166	1.67332	26.3541	35.6459	25.00	34.00
Total	25	53.2800	43.59331	8.71866	35.2856	71.2744	3.00	147.00

ANOVA					
Jumlah TNF alfa					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	45046.240	4	11261.560	400.198	.000
Within Groups	562.800	20	28.140		
Total	45609.040	24			

Lampiran 5

Tabel 5. Hasil Uji Post Hoc

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons						
Jumlah TNF alfa						
Tukey HSD						
(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol (+)	Kontrol (-)	125.60000 [†]	3.35500	.000	115.5606	135.6394
	Dosis 1.26 mg	72.80000 [†]	3.35500	.000	62.7606	82.8394
	Dosis 2.52 mg	90.20000 [†]	3.35500	.000	80.1606	100.2394
	Dosis 5.04 mg	100.00000 [†]	3.35500	.000	89.9606	110.0394
Kontrol (-)	Kontrol (+)	-125.60000 [†]	3.35500	.000	-135.6394	-115.5606
	Dosis 1.26 mg	-52.80000 [†]	3.35500	.000	-62.8394	-42.7606
	Dosis 2.52 mg	-35.40000 [†]	3.35500	.000	-45.4394	-25.3606
	Dosis 5.04 mg	-25.60000 [†]	3.35500	.000	-35.6394	-15.5606
Dosis 1.26 mg	Kontrol (+)	-72.80000 [†]	3.35500	.000	-82.8394	-62.7606
	Kontrol (-)	52.80000 [†]	3.35500	.000	42.7606	62.8394
	Dosis 2.52 mg	17.40000 [†]	3.35500	.000	7.3606	27.4394
	Dosis 5.04 mg	27.20000 [†]	3.35500	.000	17.1606	37.2394
Dosis 2.52 mg	Kontrol (+)	-90.20000 [†]	3.35500	.000	-100.2394	-80.1606
	Kontrol (-)	35.40000 [†]	3.35500	.000	25.3606	45.4394
	Dosis 1.26 mg	-17.40000 [†]	3.35500	.000	-27.4394	-7.3606
	Dosis 5.04 mg	9.80000	3.35500	.058	-.2394	19.8394
Dosis 5.04 mg	Kontrol (+)	-100.00000 [†]	3.35500	.000	-110.0394	-89.9606
	Kontrol (-)	25.60000 [†]	3.35500	.000	15.5606	35.6394
	Dosis 1.26 mg	-27.20000 [†]	3.35500	.000	-37.2394	-17.1606
	Dosis 2.52 mg	-9.80000	3.35500	.058	-19.8394	.2394

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

Homogeneous Subsets

Jumlah TNF alfa

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol (-)	5	5.4000			
Dosis 5.04 mg	5		31.0000		
Dosis 2.52 mg	5		40.8000		
Dosis 1.26 mg	5			58.2000	
Kontrol (+)	5				131.0000
Sig.		1.000	.058	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 6

Tabel 6. Hasil Uji Korelasi Pearson

		Correlations	
		Dosis	Jumlah TNF alfa
Dosis	Pearson Correlation	1	-.914**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	15	15
Jumlah TNF alfa	Pearson Correlation	-.914**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	15	15

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 7

Tabel 7. Hasil uji Regresi

Regression

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Dosis ^a		Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: Jumlah TNF alfa

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.914 ^a	.836	.823	5.02926

a. Predictors: (Constant), Dosis

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1674.519	1	1674.519	66.204	.000 ^a
	Residual	328.814	13	25.293		
	Total	2003.333	14			

a. Predictors: (Constant), Dosis

b. Dependent Variable: Jumlah TNF alfa

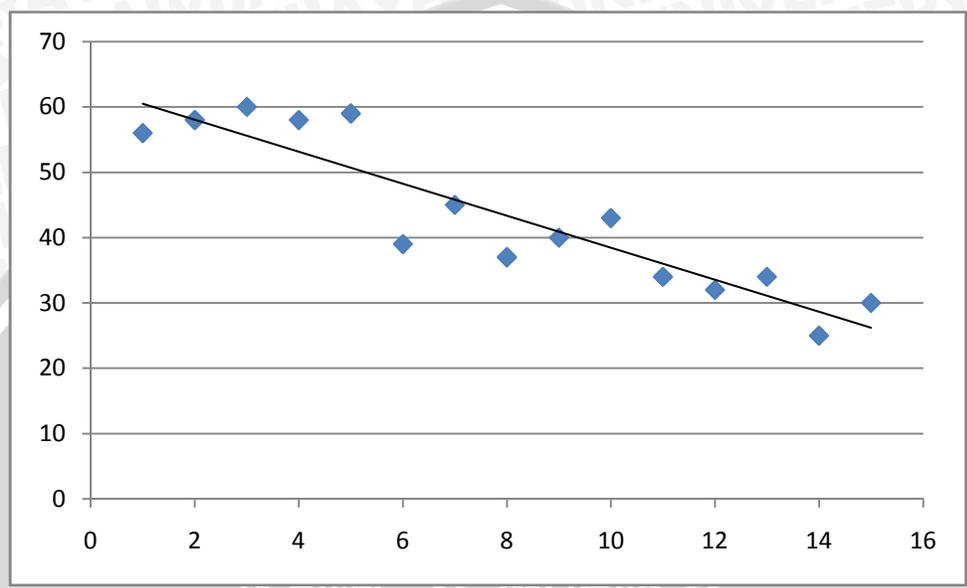
Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	63.100	2.755		22.907	.000
	Dosis	-6.723	.826	-.914	-8.137	.000

a. Dependent Variable: Jumlah TNF alfa

Lampiran 8

Garis linier persamaan regresi $y = 63,100 - 6,273x$



Lampiran 9
Dokumentasi



Jeruk nipis



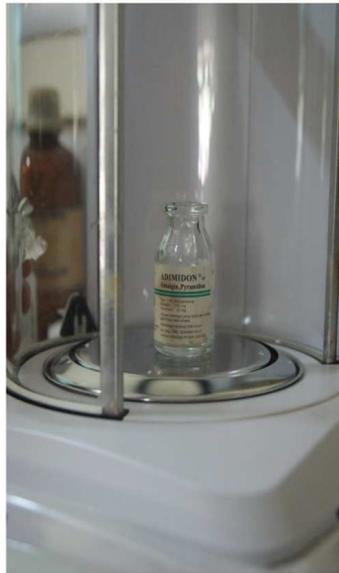
Pengupasan dan pengeringan kulit jeruk nipis



Ekstrak etanol kulit jeruk nipis



Pemeliharaan tikus dalam kandang



Penimbangan dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis

pengulasan bakteri hari 1



pengulasan bakteri hari 2



penyondean ekstrak





Pembedahan tikus



Preparat disimpan dalam incubator dan deparafinisasi dengan xylol



preparat digenangi PBS



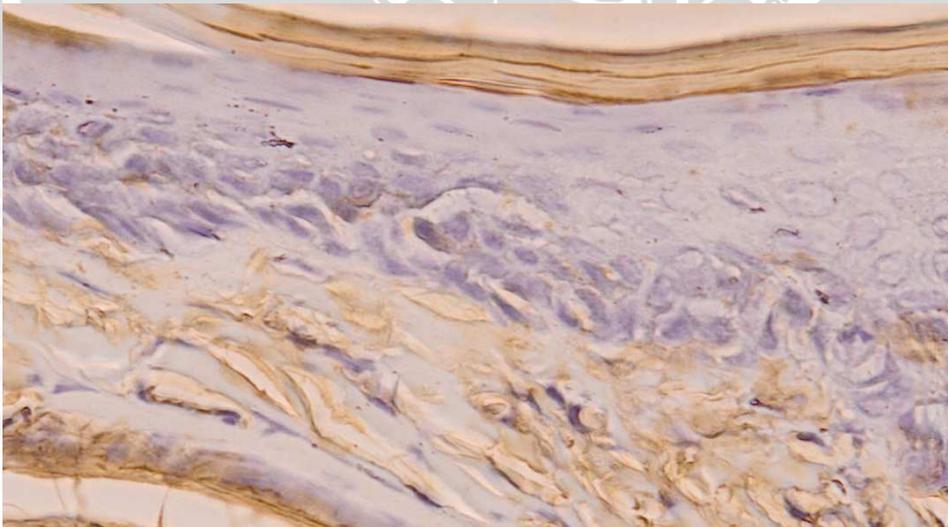
antibodi primer 1 : 50



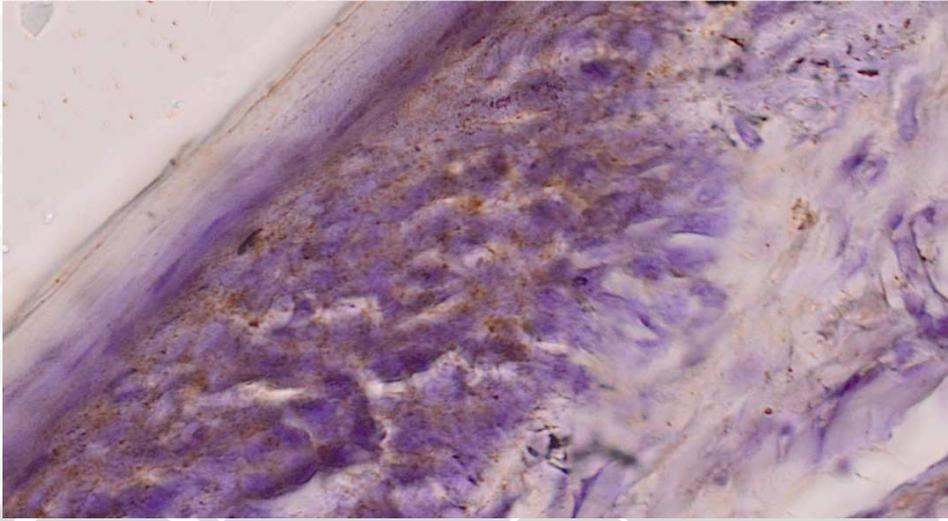
pemberian antibodi sekunder



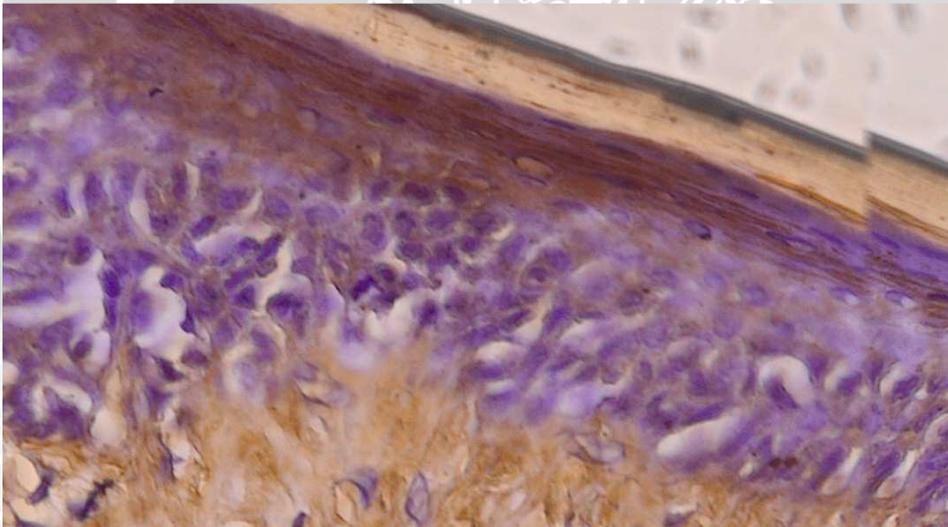
setelah pemberian DAB



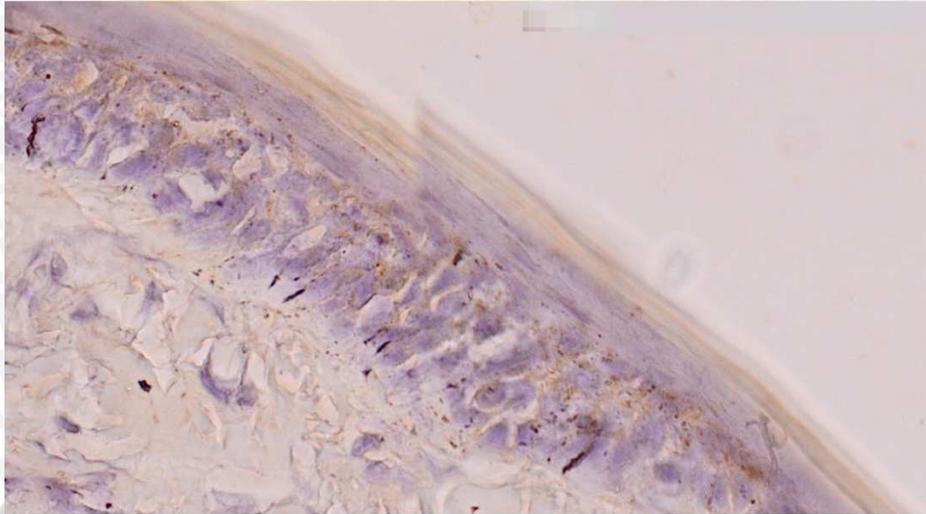
Kontrol negatif



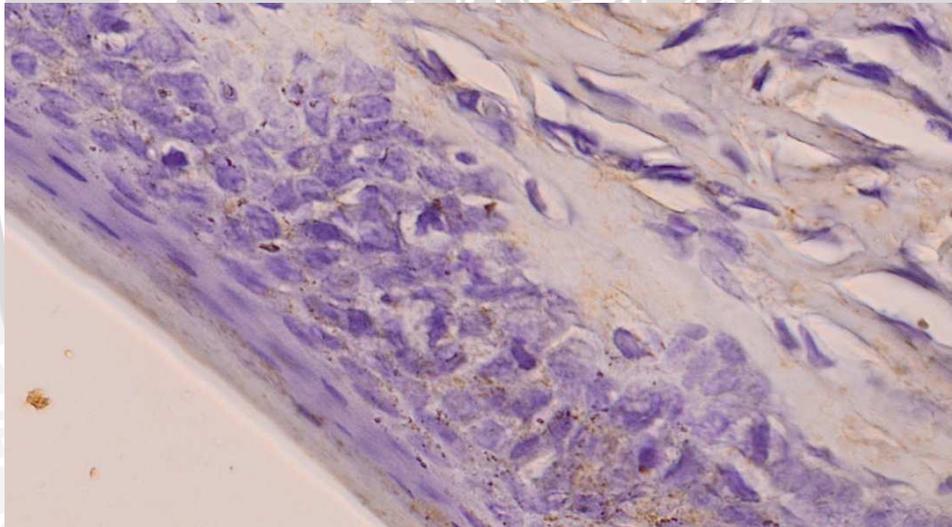
Kontrol positif



Dosis 1,26 mg/100g BB



Dosis 2,52 mg/100 BB



Dosis 5,04 mg/100g BB



Lampiran 12



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

KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0064/Takso.Identifikasi/03/2012

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

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

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

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

Demikian surat keterangan identifikasi ini dibuat untuk digunakan seperlunya.

Malang, 29 November 2012

Kepala Laboratorium
Taksonomi, Struktur dan
Perkembangan Tumbuhan,

LABORATORIUM
TAKSONOMI DAN PERKEMBANGAN TUMBUHAN
Indriyani, M.Si.
NIP. 19630909 198802 2 001

Lampiran 13



PEMERINTAH KOTA MALANG
DINAS PERTANIAN

Jl. Jendral ahmad Yani Utara No. 202 Telp.(0341)491914/Facs.(0341)408273 MALANG
M A L A N G Kode Pos 65126

SURAT KETERANGAN PEMERIKSAAN KESEHATAN HEWAN

Nomor : 524.3 /068/ 35.73.309 / 2012

Dengan ini menerangkan bahwa hewan dengan signalementen :

Hewan signalementen	
Spesies	Ratus
Ras	Wistai
Jumlah	100 ekor
Umur	± 8 Minggu
Kelamin	Jantan
Warna Bulu	Putih

Pemilik Hewan

Nama : Feriy Yulianto
 Alamat : Jl. Ciliwung II/1-B. RT 012 RW 07
 Kel. Purwantoro Kec. Blimbing Kota Malang
 Tujuan : Untuk Percobaan Hewan

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

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

Lampiran 10

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ainun Nurika Assa'idah

NIM : 0910740001

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter Gigi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,

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

Malang, 15 Januari 2013

Yang membuat pernyataan,

(Ainun Nurika Assa'idah)

NIM. 0910740001