repository.ub.ac.id

PENGARUH REBUSAN KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia swingle)* TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS PADA PROSES PENYEMBUHAN LUKA PASCA EKSTRAKSI GIGI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus)* STRAIN WISTAR

SKRIPSI

UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
MEMPEROLEH GELAR SARJANA

Oleh:

NURUL ISTICHOMAH
145070407111023

PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PENGESAHAN ii
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI iii
ABSTRAK iv
ABSTRACT vi
DAFTAR ISI viii
DAFTAR TABEL xii
DAFTAR GAMBAR xiii
DAFTAR SINGKATAN xiv
DAFTAR LAMPIRAN xv
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.3.1 Tujuan Umum 3
1.3.2 Tujuan Khusus 3
1.4 Manfaat Penelitian 4
1.4.1 Manfaat Akademik 4
1.4.2 Manfaat Praktis 4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 5
2.1 Ekstraksi Gigi 5
2.1.1 Definisi 5

2.1 Penyembuhan Luka 5
2.2.1 Osteoblas 9
2.3 Jeruk Nipis 12
2.3.1 Morfologi Tumbuhan 13
2.3.2 Kandungan Kulit Jeruk Nipis 13
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN 15
3.1 Kerangka Konsep 15
3.2 Hipotesis Penelitian 17
BAB IV METODE PENELITIAN 19
4.1 Desain Penelitian 19
4.2 Sampel Penelitian 20
4.2.1 Jumlah Sampel Penelitian 21
4.3 Variabel Penelitian 22
4.4 Tempat dan Waktu Penelitian 22
4.5 Alat dan Bahan Penelitian 23
4.5.1 Pemeliharaan Hewan Coba 23
4.5.2 Pencabutan Gigi Tikus 23
4.5.3 Perlakuan Hewan Coba 23
4.5.4 Pengambilan Jaringan dan Pembuatan Preparat 23
4.5.5 Pembuatan Rebusan Kulit Jeruk Nipis 24
4.6 Definisi Operasional 24
4.7 Prosedur Penelitian 24
4.7.1 Persiapan Hewan Coba 24
4.7.2 Pembuatan Rebusan Kulit Jeruk Nipis 25
4.7.3 Penelitian Pendahuluan 27

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

4.7.4 Pencabutan Gigi Tikus 29
4.7.5 Perawatan Tikus Pasca Pencabutan Gigi 30
4.7.6 Tahap Pengelompokkan dan Perlakuan Hewan Coba ... 30
4.7.7 Pengambilan Sampel 31
4.7.8 Pembuatan Sediaan Histologi 32
4.7.9 Perhitungan Jumlah Sel Osteoblas 33
4.8 Analisis Data 33
4.9 Alur Penelitian 35
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA 37
5.1 Hasil Penelitian 37
5.2 Analisis Data 39
5.2.1 Uji Normalitas Data 40
5.2.2 Uji Homogenitas Ragam 40
5.2.3 Uji One Way Anova 41
5.2.4 Uji Post Hoc 41
5.2.5 Uji Korelasi Pearson 42
BAB 6 PEMBAHASAN 45
BAB 7 PENUTUP 49
7.1 Kesimpulan 49
7.2 Saran 50
DAFTAR PUSTAKA 51
LAMPIRAN 65

DAFTAR TABEL

No. **Judul Tabel** **Hal.**

Tabel 5.1 Jumlah Sel Osteoblas 39

Tabel 5.2 Hasil Uji *Post Hoc*.....42

DAFTAR GAMBAR

No. **Judul Gambar** **Hal.**

Gambar 2.1 Fase Penyembuhan Luka (a) Fase Inflamasi (b) Fase Proliferasi (c) Fase Remodelling 6
Gambar 2.2 Sel Osteoblas 11
Gambar 2.3 Jeruk Nipis.....13
Gambar 4.1 Desain Penelitian.....19
Gambar 4.2 Alur Penelitian.....35
Gambar 5.1 Gambaran Mikroskopis Tulang Alveolar dengan Perbesaran 400x (A) Sel Osteoblas Kelompok Kontrol 1 (B) Sel Osteoblas Kelompok Perlakuan 1 ...37
Gambar 5.2 Gambaran Mikroskopis Tulang Alveolar dengan Perbesaran 400x (C) Sel Osteoblas Kelompok Kontrol 2 (D) Sel Osteoblas Kelompok Perlakuan 2...38
Gambar 5.3 Gambaran Mikroskopis Tulang Alveolar dengan Perbesaran 400x (E) Sel Osteoblas Kelompok Kontrol 3 (F) Sel Osteoblas Kelompok Perlakuan 3....38

repository.ub.ac.id

DAFTAR SINGKATAN

BMP	:*Bone Morphogenetic Protein*
BMU	:*Bone Morphogenetic Unit*
DETC	:*Dendritic Epidermal T Cell*
ECM	:*Extracellular Matrix*
EDTA	:*Ethylenediaminetetraacetic acid*
EGF	:*Epidermal Growth Factor*
FGF	:*Fibroblast Growth Factor*
HCL	:*Hydrogen Chloride*
HE	:*Hematoxylin Eosin*
IkB	:*Inhibitor Kappa Beta*
LPS	: *Lipopolysaccharide*
Nf-kB	:*Nuclear Factor Kappa Beta*
PDGF	:*Platelet Derived Growth Factor*
PTH	:*Parathyroid Hormone*
PTHrP	: *Parathyroid Hormone related Protein*
TGF-β	:*Transforming Growth Factor Beta*
TMJ	:*Temporomandibular Joint*

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul Lampiran	Hal.
Lampiran 1	Hasil Uji Statistik	65
Lampiran 2	Gambaran Preparat Tulang Alveolar	71
Lampiran 3	Kelaikan Etik	75
Lampiran 4	Foto Penelitian	77

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

ABSTRAK

Nurul Istichomah, 145070407111023, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang, 5 Juli 2018, "Pengaruh Rebusan Kulit Jeruk Nipis *(Citrus aurantifolia swingle)* Terhadap Jumlah Osteoblas pada Proses Penyembuhan Luka Pasca Ekstraksi Gigi pada Tikus Putih *(Rattus norvegicus)* Strain Wistar", Tim Pembimbing: (1) drg. R. Setyohadi, MS (2) dr. Novi Khila Firani,M.Kes., Sp.PK.

Pencabutan gigi merupakan suatu tindakan mengeluarkan gigi dari soket tulang alveolar. Gigi yang dicabut menyisakan soket terdiri dari korteks tulang, terlindungi oleh ligamen periodontal dengan gingiva sebagai lapisan paling luar. Dalam proses penyembuhan luka dibutuhkan suatu zat untuk mempercepat proses penyembuhan luka. Salah satu bahan alam yang mampu meningkatkan proses penyembuhan luka yaitu flavonoid yang terkandung dalam kulit buah jeruk nipis. Proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi diikuti pula oleh proses penyembuhan tulang pada soket yang melibatkan aktivitas osteoblas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh rebusan kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia swingle)* terhadap jumlah osteoblas pada penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi pada tikus putih *(Rattus norvegicus)* strain wistar. Kelompok perlakuan yaitu kelompok tikus yang diberikan rebusan kulit jeruk nipis pasca ekstraksi gigi dan didekaputasi pada hari ke 7, 14, dan 21, sedangkan kelompok kontrol yaitu kelompok tikus yang tidak diberikan rebusan kulit jeruk nipis pasca ekstraksi gigi dan didekaputasi pada hari ke 7, 14, dan 21. Berdasarkan uji statistik *one way Anova* ($p<0,05$), didapatkan perbedaan yang signifikan antara jumlah sel osteoblas tiap kelompok. Selanjutnya, dari uji korelasi *Pearson* didapatkan adanya hubungan yang signifikan antara pemberian rebusan kulit jeruk nipis pasca pencabutan gigi terhadap jumlah sel osteoblas pada penyembuhan luka. Dari penelitian ini dapat disimpulkan adanya pengaruh rebusan kulit jeruk nipis *(Citrus aurantifolia swingle)* terhadap jumlah osteoblas pada proses penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi pada tikus putih *(Rattus norvegicus)* strain wistar.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

Kata kunci : Penyembuhan luka, pencabutan gigi, rebusan kulit jeruk nipis, Osteoblas.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

ABSTRACT

Nurul Istichomah, 145070407111023, Dentistry Undergraduate Program, Dentistry Faculty of Brawijaya University Malang, 5 Juli 2018, "The Effect of The Decoction of Lime Peel *(Citrus aurantifolia swingle)* Towards The Number of Osteoblast on The Wound Healing Proses In White Rats *(Rattus norvegicus)* Wistar Strain", Supervisor: (1) drg. R. Setyohadi, MS (2) dr. Novi Khila Firani,M.Kes., Sp.PK.

Tooth extraction is a procedur of removing the teeth from the alveolar bone. The teeth are extracted leaving the socket consist of the cortex of the bone by periodontal ligament, protected by gingiva as an outer layer. In the process of wound healing needs a substance to accelerate the process of wound healing. One of the natural ingredients that can improve the wound healing process is flavonoid contained in lime peel. The process of wound healing post extractions of teeth was followed by the process of healing of the bone in the socket which involves the activity of osteoblast. This research aims to know the effect of the decoction of lime peel *(Citrus aurantifolia swingle)* towards the number of osteoblast on the wound healing proses in white rats *(Rattus norvegicus)* wistar strain. Treatment group that is used was group of the rats given lime peel decoction after tooth extraction and decapitation on day 7, 14, and 21, and the control group that is used was groups of the mice that were not given the lime peel decoction post tooth extraction and decapitation on day 7, 14, and 21. Based on statistical tests one way Anova ($p<0,05$), obtained a significant difference between the number of osteoblast cells to each group. The correlation of pearson test obtained the existence of a significant relationship between the decoction of lime peel post extractions of teeth towards osteoblast cell number on wound healing. From this research it can be inferred the existence of the effect of the decoction of lime peel *(Citrus aurantifolia swingle)* towards the number of osteoblast on the wound healing proses in white rats *(Rattus norvegicus)* wistar strain.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Keywords : Wound healing, tooth extractions, lime peel decoction, osteoblast.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencabutan gigi merupakan suatu tindakan mengeluarkan gigi dari soket tulang alveolar. Pencabutan gigi paling banyak dilakukan karena karies. Selain karies, ada penyakit periodontal, *supernumerary teeth*, gigi impaksi, gigi yang sudah tidak dapat lagi dilakukan perawatan endodontik, gigi yang terlibat kista dan tumor, gigi yang terlibat fraktur rahang. Tindakan pencabutan gigi dapat dilakukan juga pada gigi sehat dengan tujuan memperbaiki maloklusi, untuk alasan estetik, dan juga kepentingan perawatan ortodontik atau prostodontik. Pencabutan gigi terkadang tidak bisa dilakukan karena berbagai faktor, seperti kelainan sistemik yaitu diabetes melitus, hipertensi, leukemia yang tidak terkontrol, kehamilan, kelainan perdarahan dan kelainan lokal yaitu perikoronitis akut, oedem berat, abses dentoalveolar akut, dan sebagainya (Fragiskos, 2007; Moore, 2011).

Gigi yang dicabut menyisakan soket terdiri dari korteks tulang, terlindungi oleh ligamen periodontal dengan gingiva sebagai lapisan paling luar. Soket akan terisi oleh darah, nantinya berkoagulsi membentuk *blood clot* dan menutup seluruh soket dari lingkungan rongga mulut. Luka pasca pencabutan secara normal akan mengalami penyembuhan dengan sendirinya, membutuhkan waktu 3-4 minggu hingga tahap inflamasi sampai fibroblas berakhir

(Peterson, 2003). Proses penyembuhan luka pencabutan gigi pada prinsipnya terdiri dari proses inflamasi, proliferasi dan remodeling. Pada proses remodeling tulang alveolaris, sel osteoblas merupakan sel yang berperan penting dalam pembentukan tulang. Pada proses penyembuhan luka pencabutan gigi terdapat proses remodeling tulang yang merupakan proses kompleks yang melibatkan resorbsi tulang dan pembentukan tulang (Garant, 2003). Osteoblas merupakan sel pembentuk tulang yang bertanggung jawab terhadap proses mineralisasi matriks tulang dengan cara mensekresi kolagen tipe I dan melepaskan kalsium, magnesium, dan ion fosfat (Kalfas, 2001).

Dalam proses penyembuhan luka terjadi proses inflamasi sehingga dibutuhkan suatu zat untuk mempercepat proses penyembuhan luka. Salah satu bahan alam yang mampu meningkatkan proses penyembuhan luka yaitu flavonoid yang terkandung dalam kulit buah jeruk nipis. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia swingle*) adalah salah satu tanaman toga yang banyak digunakan oleh masyarakat sebagai bumbu masakan dan obat-obatan (Razak, 2013). Kulit buah jeruk nipis juga memiliki peran penting bagi kesehatan. Kulit buah jeruk nipis mengandung senyawa flavonoid yaitu naringin, hesperidin, naringenin, hesperitin, rutin, nobiletin, dan tangeretin (Choi, 2007). Flavonoid adalah golongan besar fitokimia yang didistribusikam secara luas dalam makanan (Welch, 2014; Johannot, 2006). Studi sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang berasal dari tumbuhan dapat

menstimulasi fungsi osteoblas dan menghambat fungsi osteoklas (Haq, 2014).

Maka untuk mengetahui peran rebusan kulit jeruk nipis pada proses penyembuhan tulang pasca ekstraksi gigi, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh rebusan kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia swingle)* terhadap jumlah osteoblas pada proses penyembuhan tulang pasca ekstraksi gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus)* strain wistar.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah rebusan kulit jeruk nipis dapat mempengaruhi jumlah osteoblas dalam penyembuhan luka pasca pencabutan gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus)* strain wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh rebusan kulit jeruk nipis terhadap jumlah osteoblas pada penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus)* strain wistar.

1.3.2 Tujuan khusus

1.3.2.1 Mengetahui jumlah osteoblas pasca ekstraksi gigi pada hari ke 7, 14, dan 21 setelah pemberian rebusan kulit jeruk nipis pada tikus putih (*Rattus norvegicus)* strain wistar.

1.3.2.2 Mengetahui jumlah osteoblas pasca ekstraksi gigi pada hari ke 7, 14, dan 21 tanpa pemberian rebusan kulit jeruk nipis pada tikus putih (*Rattus norvegicus)* strain wistar.

1.3.2.3 Menganalisa pengaruh rebusan kulit jeruk nipis terhadap jumlah osteoblas antara kelompok yang diberikan rebusan dengan kelompok yang tidak diberkan rebusan kulit jeruk nipis pada hari ke 7, 14, dan 21.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Menambah referensi untuk menambah pengetahuan di bidang kedokteran gigi khususnya bidang biokimia mengenai pengaruh rebusan kulit jeruk nipis *(Citrus aurantifolia swingle)* terhadap jumlah osteoblas pada proses penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi pada tikus wistar.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan alternatif kepada masyarakat mengenai tanaman obat yang dapat mempengaruhi penyembuhan luka pasca ekstraksi.

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

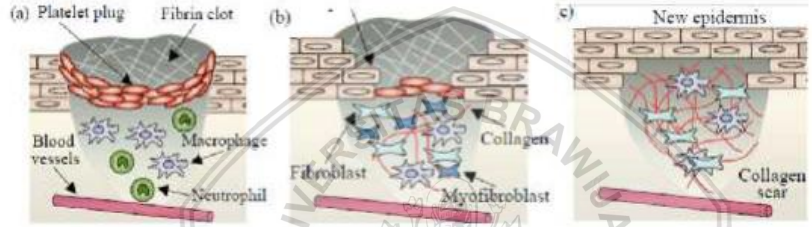
2.1 Ekstraksi gigi

Pencabutan gigi adalah suatu proses pengeluaran gigi dari alveolus, dimana pada gigi tersebut sudah tidak dapat dilakukan perawatan lagi. Pencabutan gigi juga merupakan tindakan bedah minor pada bidang kedokteran gigi yang melibatkan jaringan keras dan jaringan lunak pada rongga mulut (Gordon, 2013). Pencabutan gigi diindikasikan untuk gigi yang sudah tidak bisa dilakukan perawatan konservasi ataupun karena penyakit periodontal, karies, infeksi periapikal, erosi, abrasi, atrisi, hipoplasia atau penyakit pada pulpa gigi (Pedlar, 2007). Pencabutan gigi menginisiasi proses reparatif yang melibatkan jaringan keras yaitu tulang alveolar dan jaringan lunak yaitu ligamen periodontal dan gingiva (Farina dan Trombeli, 2012). Proses penyembuhan luka pencabutan gigi pada prinsipnya dibagi menjadi tiga tahap yaitu inflamasi, proliferasi dan remodeling (Topazian *et al*, 2002).

2.2 Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka adalah proses penggantian dan perbaikan fungsi jaringan yang rusak. Sifat penyembuhan pada semua luka adalah sama dengan variasi bergantung pada lokasi, keparahan dan luas cidera (Hardjito *et al*., 2012). Ada 3 fase penyembuhan luka yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi. Fase inflamasi merupakan reaksi tubuh terhadap luka yang dimulai setelah beberapa

menit dan berlangsung sekitar 3 hari setelah cedera. Proliferasi atau regenerasi ditandai dengan munculnya pembuluh darah baru sebagai hasil rekonstruksi, fase proliferasi terjadi dalam waktu 3-24 hari. Maturasi atau remodeling merupakan tahap akhir proses penyembuhan luka. Dapat memerlukan waktu lebih dari 1 tahun, bergantung pada kedalaman dan keluasan luka (Setyarini dkk, 2013).



Gambar 2.1 Fase Penyembuhan Luka (a) Fase Inflamasi (b) Fase Proliferasi (c) Fase Remodelling (Rajan dan Murray, 2008)

Fase pertama yaitu hemostasis dimulai segera setelah perdarahan, dengan penyempitan pembuluh darah dan pembentukan bekuan fibrin. Gumpalan dan jaringan luka di sekitarnya melepaskan sitokin pro-inflamasi dan faktor pertumbuhan seperti (*transforming growth factor)* TGF-β, (*platelet-derived growth factor)* PDGF, (*fibroblast growth factor)* FGF, dan (*epidrmal growth factor)* EGF. Begitu pendarahan dikendalikan, sel-sel inflamasi bermigrasi ke dalam luka (*chemotaxis)* dan menuju fase inflamasi, yang ditandai dengan infiltrasi neutrofil, makrofag, dan limfosit. (Gosain and DiPietro, 2004; Broughton *et al*., 2006; Campos *et al*., 2008). Respon inflamasi dalam tubuh ditandai dengan adanya berbagai mediator,

seperti pro inflamasi sitokin berupa IL-1, *Tumor Necrosis Factor* (TNF), Interferon (INF)-c, IL-6, IL-12,dan IL-18 (Mueller *et.al* 2010).

Fungsi neutrofil adalah untuk membersihkan mikroba penyerang dan debris seluler di daerah luka. Sementara, makrofag berperan banyak dalam penyembuhan luka. Saat terluka, makrofag melepaskan sitokin sebagai respon inflamasi dengan cara mengaktifkan leukosit. Makrofag juga bertanggung jawab untuk menginduksi dan membersihkan sel apoptosis termasuk neutrofil, dan membuka jalan untuk terjadinya inflamasi. Makrofag yang membersihkan sel apoptosis mengalami transisi ke tahap reparatif untuk menstimulasi keratinosis, fibroblas, dan angiogenesis untuk meregenerasi jaringan (Mosser *and* Edwards, 2008). Pada tahap ini makrofag berperan dalam memicu fase penyembuhan proliferasi. T-limfosit bermigrasi ke dalam luka bersama sel-sel inflamasi dan makrofag, sampai puncaknya yaitu pada akhir proliferasi/fase remodeling awal. Peran limfosit-T tidak sepenuhnya dipahami dan merupakan area investigasi intensif saat ini. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa infiltrasi sel T tertunda bersamaan dengan penurunan konsentrasi sel-T di tempat luka dikaitkan dengan gangguan penyembuhan luka, sementara penelitian lain melaporkan bahwa sel CD 4+ (sel T-helper) memiliki peran positif dalam penyembuhan luka dan Sel CD8 + (sel T-suppressor-sitotoksik) memainkan peran penghambatan di penyembuhan luka (Swift *et al*., 2001; Park dan Barbul, 2004).

Selain itu, kulit sel gamma-delta mengatur banyak aspek penyembuhan luka, termasuk menjaga integritas jaringan, bertahan melawan patogen, dan mengatur peradangan. Sel-sel ini juga disebut dendritik Sel T epidermal (DETC). DETC teraktivasi karena tekanan, kerusakan, atau dan transformasi dari keratinosit dan menghasilkan *fibroblast growth factor 7* (FGF-7), *keratinocyte growth factors, insulin-like growth factor-1,* untuk mendukung proliferasi keratinosit dan kelangsungan hidup sel. DETC juga menghasilkan kemokin dan sitokin yang berkontribusi terhadap inisiasi dan regulasi respons inflamasi selama penyembuhan luka. Sementara gangguan antara sel-T gamma-delta, dan keratinosit berkontribusi pada pemeliharaan kulit normal dan penyembuhan luka, tikus yang cacat pada kulit, menunjukkan sel T gamma-delta mengakami penundaan dalam penutupan luka dan penurunan proliferasi keratinosit di lokasi luka (Jameson *and* Havran, 2007; Mills *et al*., 2008).

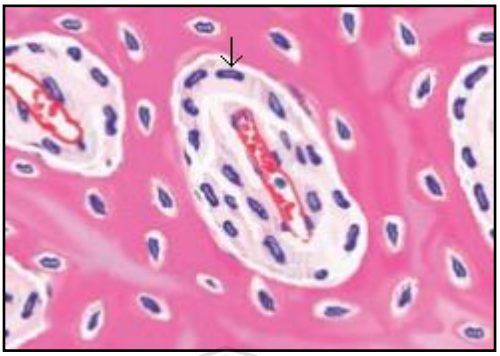
Tulang adalah jaringan aktif yang secara metabolik mengalami remodeling secara kontinyu oleh dua proses, yaitu pembentukan (formasi) dan penyerapan (resorpsi) tulang. Dalam kondisi normal, resorpsi dan formasi berkaitan erat satu sama lain, sehingga jumlah tulang yang dihancurkan sama dengan yang dibentuk (Seibel, 2005). Pada proses penyembuhan luka pencabutan gigi yaitu pada proses remodelling tulang alveolaris, sel osteoblas merupakan sel yang berperan penting dalam pembentukan tulang (Sularsi, 2012). Jaringan tulang memiliki tiga tipe sel yakni osteosit, osteoblas, dan osteoklas. Proses remodeling melibatkan osteoblas dan osteoklas melalui mekanisme signal parakrin dan endokrin.

Osteoklas merupakan sel dengan beberapa inti sel dan berkembang dari *hematopoetic stem cells* serta memiliki fungsi dalam meresorpsi tulang, sedangkan osteoblas memiliki fungsi sebagai penghasil matriks organik yang terdiri atas protein kolagen dan nonkolagen serta mengatur proses mineralisasi kalsium-fosfat yang membentuk osteoid. Osteoblas berkembang dari osteoprogenitor yang terdapat di bagian dalam periosteum dan sumsum tulang (Orwoll, 2003). Proses remodeling merupakan dua tahapan aktivitas seluler yang terjadi secara siklik, yakni resorpsi tulang lama oleh osteoklas dan formasi tulang baru oleh osteoblas. Pertama-tama, osteoklas akan menyelenggarakan resorpsi melalui proses asidifikasi dan digesti proteolitik. Segera setelah osteoklas meninggalkan daerah resorpsi, osteoblas menginvasi area tersebut dan memulai proses formasi dengan cara menyekresi osteoid (matriks kolagen dan protein lain) yang kemudian mengalami mineralisasi. Normalnya, kecepatan resorpsi dan formasi tulang berlangsung dalam kecepatan yang sama sehingga massa tulang tetap konstan (Bezerra *et al.*, 2009; Tolar *et al.*, 2010).

2.2.2 Osteoblas

Osteoblas adalah sel mononuklear yang menempel pada permukaan tulang dan membentuk tulang baru. Osteoblas menghasilkan kolagen tipe I dan matriks komponen osteoid lainnya dan memineralisasi osteoid dengan hidroksiapatit. Anak yang sedang tumbuh mempunyai lebih banyak osteoblas dibandingkan dengan orang tua. Pada wanita lansia, osteoblas mungkin meningkat

jumlahnya dalam mengkompensasi peningkatan resopsi tulang karena kurangnya estrogen. Pada pria lansia, aktivitas osteoblas dapat menurun mungkin karena penurunan *Insulin-like Growth Factor* 1 (IGF-1) dan testosteron. Marker formasi tulang dapat diukur dalam serum (Seibel, 2005; Thomas, 2012). Osteoblas memiliki morfologi poligonal, berukuran besar, sedangkan osteosit berukuran kecil dan memiliki penjuluran sitoplasma. Disamping itu terdapat pula bentuk antara osteoblas dan osteosit dengan ukuran bervariasi yang mengindikasikan terjadinya proses diferensiasi osteoblas menjadi osteosit (Djuwita dkk, 2012). Dalam keadaan aktif, osteoblas merupakan sel yang berbentuk kubus atau kolumnar sedangkan dalam keadaan tidak aktif berbentuk pipih. Osteoblas memiliki diameter antara 20-30 µm (Kierszenbaum, 2002). Osteoblas adalah sel yang berbentuk kuboid yang terletak pada seluruh permukaan tulang terdiri dari 4-6% dari total sel-sel tulang. Sel-sel ini menunjukkan karakteristik morfologi sintesis sel protein, termasuk endoplasma kasar dan badan Golgi, serta karena berbagai sekresi vesikel (Capulli, 2014). Transisi dari preosteoblas ke osteoblas yang matang ditandai dengan perubahan bentuk menjadi lebih besar dan kubus (Nakashima, 2002; Glass, 2005; Hu, 2005). Beberapa sel osteoblas mengalami proses sitoplasmik pada matriks tulang dan mencapai proses osteosit. Pada tahap ini, sel osteoblas dewasa mengalami apoptosis atau menjadi osteosit pada lapisan sel-sel tulang (Manolagas, 2000).



Gambar 2.2 Sel Osteoblas (Allen, 2008)

Osteoblas, merupakan sel yang paling bertanggung jawab terhadap membangun formasi tulang pada *bone morphogenetic unit* (BMU), terbentuk dari sel-sel prekursor mesenkimal yang akan terus menerus berdiferensiasi. Diferensiasi sel-sel prekusor menjadi sel-sel preosteoblas dipacu beraksi oleh protein tulang morfogenetik *bone morphogenetic proteins* (BMPs). BMPs adalah faktor penentu terjadinya inisiasi osteblasgenesis dari lepasan sel-sel progenitor. Faktor lain yang berperan adalah transformasi tumbuh factor-β, *platelet derived growth factor (PDGF), Insulin like growth factors (IGFs),* dan *fibroblas growth factors (FGFs)* akan memproliferasi promosi osteoblas dan juga berguna pada pembentukan jaringan periodontal. Sel-sel osteoblas dewasa akan masuk mengaktivkan sel-sel produksi matrik, terbukti dengan adanya karakteristik fenotip osteoklasin, reseptor *parathyroid hormone (PTH)/* PTH-*related Protein (PTHrP),* serta tulang *sialoprotein.* Estimasi masa kehidupan osteoblas 3 bulan. Subsequen osteoblas menjadi osteosit akan terjebak di dalam martikulasi tulang, mati, menjadi apoptosis, atau

menjadi sel-sel lining (Barunawati, 2007; Koerniadi, 2008; Masulli, 2008).

2.3 Jeruk Nipis

Secara taksonomi, tanaman *Citrus aurantifolia swingle* termasuk dalam klasifikasi sebagai berikut (Ferguson, 2002):

Kingdom: *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Subdivisi : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotyledonae*
Bangsa : *Rutales*
Famili : *Rutaceae*
Genus : *Citrus*
Spesies : *Citrus aurantifolia (Cristm.) Swingle*

Jeruk nipis memiliki beberapa nama yang berbeda di Indonesia, antara lain jeruk nipis (Sunda), jeruk pecel (Jawa), jeruk dhurga (Madura), lemo (Bali), mudutelong (Flores) dan lain sebagainya. Jeruk nipis merupakan tumbuhan obat dari *family Rutaceae*. Dalam pengobatan tradisional digunakan antara lain sebagai peluruh dahak dan obat batuk.

Gambar 2.3 Jeruk Nipis (Sarwono, 2001)

2.3.1 Morfologi Tumbuhan

Citrus aurantifolia adalah tanaman yang berasal dari Asia dan tumbuh subur pada daerah yang beriklim tropis. *Citrus aurantifolia* merupakan salah satu tanaman yang berasal dari Famili *Rutaceae* dengan genus *Citrus*. *Citrus aurantifolia* memiliki tinggi sekitar 150-350 cm dan buah yang berkulit tipis serta bunga berwarna putih. Tanaman ini memiliki kandungan garam 10% dapat tumbuh subur pada tanah yang kemiringannya sekitar 30° (Rukmana, 2003).

2.3.2 Kandungan Kulit Jeruk Nipis

Kulit jeruk nipis mengandung zat aktif hesperidin, naringin, dan polymethoxylated flavones (PMFs). Pada kulit jeruk nipis termasuk lapisan albedo, flavedo, dan lapisan segmennya, memiliki kandungan flavonoid yang lebih tinggi dari pada butiran daging buahnya. Flavonoid yang terkandung dalam kulit jeruk nipis antara lain *eriocitrin, nairutin, hesperidin, neohesperidin, neoponcirin, poncirin, isorhoifolin, diosmin, neodiosmin, sinenserin, nobiletin,*

tangeretin, dan heptamethoxyflavone (Nogata *et.al*, 2006). Bagian kulit jeruk nipis terdapat jumlah PMF (*Polymethoxylated Flavones)* dalam jumlah terbanyak dibandingkan bagian lain yang ada pada buah (Manthey *and* Grohmann, 2011). Selain itu, dalam kulit jeruk nipis juga terdapat kandungan apigenin, rutin, quercetin, dan kaempferol yang melimpah (Lizzo *et.al*, 2012). Zat-zat dalam kulit jeruk tersebut mampu bekerja sebagai zat anti inflamasi, anti bakteri, anti mikroba, anti virus, anti ulserogenik, anti oksidan, anti kanker, menurunkan kadar kolesterol, anti neoplastik, antitumor, anti platelet, anti hepatotoksik, serta anti hipertensi (Nogata *et.al*, 2006; Rathee *et.al*, 2009). Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Gafur, Isa dan Bialangi, 2012). Flavonoid dapat mengurangi ekskresi kalsium dan fosfat, meningkatkan aktivitas osteoblas, mengurangi aktivitas osteoklas, dan melindungi terhadap hilangnya ketebalan trabekular (Mitra, 2013; Nash, 2015).

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

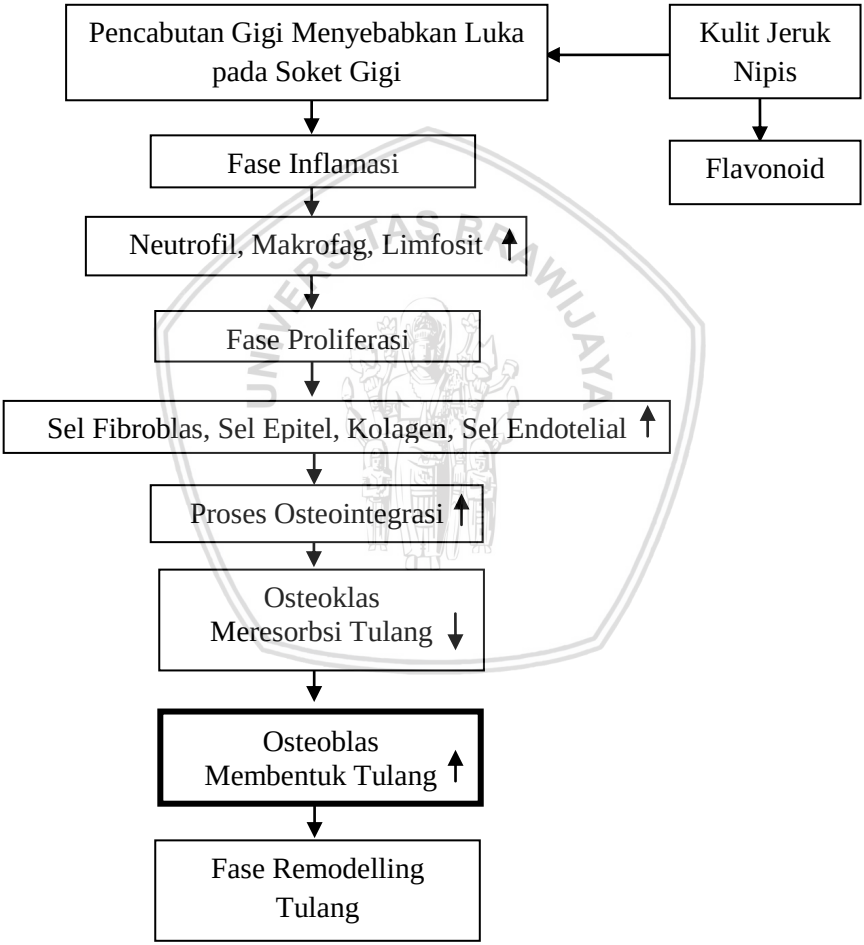
repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:

: variabel yang diteliti

: variabel yang tidak diteliti

Pencabutan gigi menyebabkan luka pada soket gigi. Proses penyembuhan luka pencabutan gigi dibagi menjadi 3 tahap yaitu inflmasi, proliferasi, dan remodeling. Fase inflamasi ditandai dengan infiltrasi neutrofil, makrofag, dan limfosit. Tahap proliferasi terdiri dari pembentukan epitelisasi kembali dan jaringan yang tergranulasi. Jaringan yang tergranulasi terbentuk oleh pembuluh darah kapiler ke dalam luka dan kolagen yang disintesis oleh fibroblas. Remodeling merupakan tahap akhir proses penyembuhan luka. Proses remodelling melibatkan osteoblas dan osteoklas, dimana osteoklas berfungsi untuk meresorpsi tulang dan osteoblas berfungsi dalam pembentukan tulang. Proses remodeling tulang memerlukan waktu yang lama, maka dari itu diperlukan suatu zat untuk mempercepat penyembuhan luka yang terdapat dalam kulit jeruk nipis. Flavonoid adalah salah satu senyawa pada kulit buah jeruk nipis dengan kandungan yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan daging buahnya, sehingga dapat membantu dalam proses penyembuhan luka. Flavonoid akan mempengaruhi proses osteointegrasi dimana terjadi proses pembaruan tulang yang melibatkan sel osteoblas dan osteoklas. Senyawa flavonoid yang berasal dari tumbuhan dapat menstimulasi fungsi osteoblas dan menghambat fungsi osteoklas (Haq, 2014).

3.1 Hipotesis Penelitian

Rebusan kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia)* dapat mempengaruhi jumlah osteoblas pada tikus putih (*Rattus norvegicus)* strain wistar pasca ekstraksi gigi.

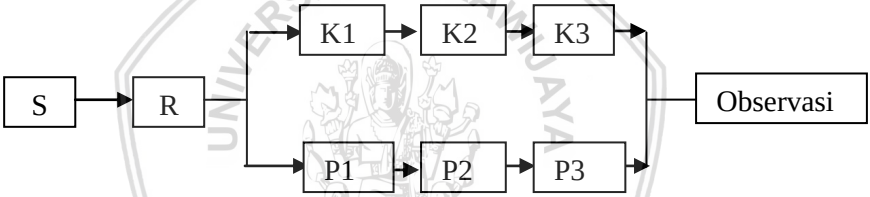
repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB IV
METODE PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan dengan pendekatan Eksperimental Laboratoris secara *in vivo* (Notoatmodjo, 2010). Desain penelitian yang digunakan adalah *Randomized Post-Test Only Control Group Design* dimana subyek dibagi menjadi 6 kelompok secara random. Tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.



Gambar 4.1 Desain Penelitian

Keterangan :

S = Sampel

R = *Random*

K1 = Kelompok kontrol 1 yang dilakukan pencabutan gigi tanpa diberi rebusan kulit jeruk nipis kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-7

K2 = Kelompok kontrol 2 yang dilakukan pencabutan gigi tanpa diberi rebusan kulit jeruk nipis kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-14

K3 = Kelompok kontrol 3 yang dilakukan pencabutan gigi tanpa diberi rebusan kulit jeruk nipis kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-21

P1 = Kelompok perlakuan 1 yang dilakukan pencabutan gigi dan diberi rebusan kulit jeruk nipis kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-7

P2 = Kelompok perlakuan 2 yang dilakukan pencabutan gigi dan diberi rebusan kulit jeruk nipis kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-14

P3 = Kelompok perlakuan 3 yang dilakukan pencabutan gigi dan diberi rebusan kulit jeruk nipis kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-21

4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah hewan percobaan berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang dipelihara di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Tikus galur Wistar ini dipilih sebagai sampel penelitian karena merupakan hewan coba yang fisiologis metabolismenya mirip dengan manusia, serta ada dua karakteristik yang membedakan tikus dengan hewan coba lainnya yaitu tikus tidak memiliki kantung empedu dan tidak dapat memuntahkan kembali isi perutnya karena ada struktur lazim pada tempat bermuaranya esofagus ke dalam lambung sehingga mempermudah penelitian ini karena pemberian perlakuan dilakukan melalui oral menggunakan sonde gastrik (Ridwan, 2013).

Sampel penelitian ini juga dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi sampel. Kriteria inklusi antara lain jenis kelamin jantan (untuk menghindari efek hormonal yang lebih dominan pada tikus betina), berat badan tikus 150 – 200 gram, usia tikus ±3 bulan. keadaan umum tikus sehat yang ditandai dengan gerakannya yang aktif, mata jernih, dan bulu berwarna putih, serta tikus diadaptasikan terlebih dahulu di laboratorium selama 7 hari sebelum digunakan penelitian. Sedangkan kriteria eksklusi sampel penelitian yang

digunakan antara lain tikus yang selama penelitian tidak mau makan, berat badan tikus kurang dari 150 gram, tikus yang mengalami diare pada saat penelitian yang ditandai dengan feses tikus yang tidak berbentuk, tikus yang mengalami tanda-tanda infeksi pada soket gigi, tikus yang mengalami penurunan kondisi fisik atau mati selama penelitian, serta pencabutan yang dilakukan tidak sempurna pada tikus (Fitria dkk., 2014).

4.2.1 Jumlah Sampel Penelitian

Teknik randomisasi untuk pengelompokan perlakuan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dikarenakan hewan coba, bahan pakan sama. Pada rancangan ini dimungkinkan setiap hewan coba mempunyai peluang yang sama untuk mendapatkan kesempatan menjadi sampel dalam kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.

Jumlah sampel tiap perlakuan yang digunakan pada penelitian menurut Federer yaitu : (Supranto, 2007)

$(t - 1) (r - 1) \geq 15$, dengan t adalah jumlah perlakuan dan r adalah jumlah sampel yang dibutuhkan di setiap perlakuan. Oleh karena itu, perhitungan menjadi :

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

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

$5(r - 1) \geq 15$

$5r-5 \geq 15$

$5r \geq 20$

$r \geq 4$

Sehingga, jumlah sampel yang digunakan adalah 5 sampel untuk setiap kelompok perlakuan. Total tikus yang akan digunakan untuk penelitian ini adalah 30 tikus termasuk cadangan sampel 6 tikus untuk mengantisipasi lost of sample dengan dilakukan pembedahan 10 tikus di setiap *time series*.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini yaitu:

- Variabel bebas/ independen

Rebusan kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*)

- Variabel terikat/ dependen

Jumlah sel osteoblas pasca pencabutan gigi

- Variabel kontrol/ kendali

a. Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar.

b. Jenis makanan dan minuman yang sama.

c. Teknik pencabutan gigi hewan coba.

d. Pemilihan jeruk nipis dan proses pembuatan rebusan kulit jeruk nipis.

e. Lingkungan kandang dengan kriteria ruangan yang cukup udara dan cahaya, jauh dari kebisingan serta tidak terpapar sinar matahari secara langsung.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas

Brawijaya Malang. Penelitian dilakukan pada bulan Januari-Maret tahun 2018.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Pemeliharaan Hewan Coba

Pada penelitian ini diperlukan alat antara lain 38 buah box plastik berukuran 15 x 30 x 42 cm^3 yang diisi 1 ekor tikus Wistar dengan tutup kandang dari anyaman kawat, sekam, tempat minum, sonde gastrik, dan alat penimbang berat badan tikus yaitu Neraca Ohaus (Sartorius). Bahan yang dibutuhkan adalah
makanan tikus yang terdiri dari 67% comfeed PAR-S, 33% terigu dan diencerkan dengan air, air minum dari aquadest.

4.5.2 Pencabutan Gigi Tikus

Alat yang dibutuhkan masker, sarung tangan, pinset, pinset sirurgis, pisau model modifikasi, *needle holder* modifikasi, ekskavator, sonde half moon, *blade* dan *blade holder*, *syringe* anestesi, kapas, kassa, cawan, dan tabung kaca. Bahan yang dibutuhkan anestesi (ketamin 40mg/kgbb), analgesik *metamizole sodium* 24 ml, *gentamycine* 8 ml.

4.5.3 Perlakuan Hewan Coba

Alat yang dibutuhkan masker, sarung tangan, sonde gastrik, gelas ukur. Bahan yang dibutuhkan rebusan kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle).*

4.5.4 Pengambilan Jaringan dan Pembuatan Preparat

Alat dan bahan yang dibutuhkan *Blade no.11*, pinset, tabung fiksasi berlabel, spuit, gelas ukur, *object glass* dan *deck glass*, *cover*

glass, counter, mikroskop cahaya, mikroskop *olympus photo slide* bx51 dengan kamera dp71 12 mega pixel, alkohol 70%, 80%, 95%, 96%, albumin, zenker, formalin 10%, *decalsification agent (EDTA 14%)*, HCL 5%, amonium oksalat 1%, *xylol*, paraffin, alat cetak paraffin, water-bath, pewarna hematoksilin dan eosin (HE), air, akuades, balsam kanada, asam format 50%.

4.5.5 Pembuatan Rebusan Kulit Jeruk Nipis

Alat dan bahan yang dibutuhkan kompor, panci, gas LPG, pisau, alat pengaduk, gelas ukur, botol untuk menyimpan air rebusan jeruk nipis, saringan, corong, kulit jeruk nipis, dan air, kertas label untuk botol.

4.6 Definisi Operasional

1. Rebusan kulit jeruk nipis adalah cairan yang diperoleh dari kulit jeruk nipis yang direbus hingga mendidih (Anna, 2012).
2. Jumlah osteoblas adalah banyaknya osteoblas pada tulang alveolar berupa sel berinti satu dan pipih yang berada di endosteum, dengan sitoplasma yang basofilik dibuat preparat atau sediaan mikroskopis dengan pengecatan HE (*Harris Hematoxylin - Eosin*) dan dilihat pada 5 lapang pandang dengan menggunakan mikroskop elektrik Olympus CX35 dengan perbesaran 400x (Ayu, 2014).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

a. Adaptasi tikus dalam kandang kurang lebih selama 1 minggu pada temperatur konstan (20-25º C) dengan 12 jam siklus

terang gelap untuk proses aklimatisasi (Rajavel *et al*., 2012). Tikus dipelihara dalam box plastik berukuran 15 x 30 x 42 cm^3 yang ditutup dengan kawat kassa dengan dasar sekam yang diganti setiap 3 hari sekali. Selama proses tersebut, kebutuhan makan dan air *aquadest* untuk minum dijaga agar tetap terpenuhi dengan diet normal terdiri dari *67% Comfeed PAR-S*, 33% terigu, dan diencerkan dengan air (Widyastomo dkk., 2013).

b. Tikus dipuasakan selama 12-18 jam sebelum perlakuan, tetapi tetap diberikan air putih untuk minum (Rajavel *et al*., 2012).
c. Berat badan tiap tikus ditimbang dan dikelompokkan menjadi 2 kelompok secara acak dengan jumlah masing-masing kelompok adalah 6 ekor, kemudian berat tikus ditimbang lagi sebelum dilakukan pencabutan, dimana berat badan yang dibutuhkan adalah 150-200 gram.

4.7.2 Pembuatan Rebusan Kulit Jeruk Nipis

Dalam pembuatan rebusan kulit jeruk nipis, hal pertama yang dilakukan adalah menghitung kebutuhan rebusan kulit jeruk nipis yang diberikan kepada tikus selama penelitian. Pemberian rebusan kulit jeruk nipis pada masing-masing tikus sebanyak 2 ml merupakan volume yang boleh diberikan berdasarkan pada volume normal lambung tikus yaitu 3-5 ml. Jika volume yang diberikan melebihi volume lambung tikus, maka dapat memberikan dampak dilatasi lambung akut yang dapat menyebabkan robeknya saluran

cerna tikus (Ngatidjan, 2006). Terdapat 3 kelompok perlakuan yang akan diberi rebusan yaitu kelompok P1 dengan jumlah 6 ekor tikus selama 7 hari, kelompok P2 dengan jumlah 6 ekor tikus selama 14 hari, dan kelompok P3 dengan jumlah 6 tikus selama 21 hari. Didapatkan perhitungan {(2 ml x 7 hari x 6 ekor tikus) + (2 ml x 14 hari x 6 ekor tikus) + (2 ml x 21 hari x 6 ekor tikus)}, didapatkan hasil 504 ml. Waktu penelitian yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah 21 hari. Pengurangan volume rebusan dapat terjadi akibat penguapan saat dilakukan proses perebusan dan pemuaian saat penyimpanan selama 21 hari. Hal ini terjadi dikarenakan adanya kenaikan suhu dari proses pengeluaran rebusan pada suhu ruang yang akan menyebabkan zat cair mengalami penguapan. Oleh karena itu, dibuat larutan cadangan sebanyak 3 x 504 ml dan didapatkan hasil 1512 ml, maka diperlukan perbandingan air 2000 ml dan kulit jeruk nipis sebanyak ±1 kg. Didapatkan berat kulit jeruk nipis 330 gram dari 1 kg buah jeruk nipis, untuk mencapai ±1 kg kulit jeruk nipis maka dikalikan 3, sehingga buah jeruk nipis yang dibutuhkan sebanyak 3 kg. Kemudian dilakukan penimbangan kulit jeruk nipis sebanyak ±1 kg ke dalam gelas ukur menggunakan air 2000 ml dikarenakan volume rebusan yang dibutuhkan >1512 ml. Penimbangan kulit jeruk nipis tersebut dilakukan berdasarkan konsep dasar hukum Archimedes yang bertujuan untuk mengetahui massa kulitnya. Hukum Archimedes yaitu benda yang dicelupkan sebagian atau seluruhnya akan mendapat gaya angkat oleh zat cair. Besarnya gaya angkat zat cair sama dengan berat zat cair yang dipindahkan

benda. Pada benda yang tenggelam, berat benda lebih besar daripada berat zat cair yang dipindahkan. Karena benda tercelup seluruhnya, volume benda sama dengan volume zat cair yang dipindahkan. (Abdullah, 2006). Berdasarkan konsep tersebut, maka didapatkan volume penimbangan 867 ml. Proses perebusan ditunggu hingga mendidih, kemudian dibiarkan 10 menit supaya zat aktifnya terlarut dalam air rebusan. Perebusan pada suhu 100° C selama 10 menit didapatkan kadar flavonoid lebih tinggi dibandingkan dengan 20 menit maupun 30 menit (Puspitasari dan Prayoga, 2016). Api dimatikan, lalu dibiarkan hingga dingin. Setelah dingin, air hasil rebusan diukur dengan gelas ukur dan didapatkan penyusutan volume dari proses perebusan sebanyak 400 ml, sehingga stok volume rebusan kulit jeruk nipis sebanyak 1600 ml. Rebusan tersebut dimasukkan ke dalam botol penyimpanan untuk digunakan selama penelitian.

4.7.3 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan karena belum terdapat literatur yang membahas cara mendapatkan konsentrasi rebusan kulit jeruk nipis. Penelitian pendahuluan dilakukan dengan menggunakan 2 ekor tikus putih *(Rattus Norvegicus)* strain wistar dengan 2 kelompok yang berbeda. Kelompok pertama di lakukan pencabutan gigi insisiv mandibula kiri bawah tikus lalu di berikan rebusan kulit jeruk nipis selama 6 hari kemudian di dekaputasi pada hari ke 6. Kelompok yang kedua di lakukan pencabutan gigi insisiv mandibula

kiri bawah tikus lalu di berikan rebusan kulit jeruk nipis selama 7 hari kemudian di dekaputasi pada hari ke 7.

Kemudian dilakukan pengambilan sampel dengan cara dilakukan anastesi pada tikus masing-masing kelompok dengan menggunakan injeksi ketamin dosis lethal yaitu tiga kali dosis anestesi yaitu sebanyak 0,9 ml. setelah itu tikus didekaputasi menggunakan *scalpel* dengan *blade* no.11 dan diambil rahang bawahnya dimana terdapat soket bekas pencabutan gigi sebelumnya. Rahang bawah tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung berisi larutan formalin 10% untuk fiksasi jaringan dan diberi label. Kemudian dilakukan pengamatan sel fibroblas pada mikroskop Olympus CX35 dengan perbesaran 400x dilihat pada 5 lapang pandang.

Hasil dari pengamatan didapatkan jumlah fibroblas pada hari ke-7 lebih banyak dari hari ke-6. Hal tersebut menunjukkan bahwa rebusan kulit jeruk nipis memiliki pengaruh terhadap peningkatan jumlah sel fibroblas. Pada penelitian pendahuluan, variabel yang diamati hanya sel fibroblas karena fibroblas merupakan sel utama yang ditemukan dalam proses mekanisme penyembuhan luka (Baxter, 2002). Pada jaringan normal (tanpa perlukaan), pemaparan sel fibroblas sangat jarang dan biasanya bersembunyi di matriks jaringan penunjnag. Saat jaringan mengalami peradangan, maka fibroblas akan bermigrasi ke arah luka, berproliferasi dan memproduksi matriks kolagen untuk memperbaiki jaringan yang rusak. Saat kolagen dan *Extra Celluler Matrix (ECM)*

disintesa, terbentuk epitel baru pada mukosa untuk menutup permukaan luka. Pembentukan fibroblas dimulai pada hari ke 4 dan mencapai puncaknya pada hari ke 7 setelah luka. Proliferasi fibroblas pada tahap penyembuhan luka mengindikasikan adanya proses penyembuhan yang berangsur cepat (Sjamsuhidayat, 2010).

4.7.4 Pencabutan Gigi Tikus

Pencabutan gigi tikus dilakukan pada gigi insisivus satu kiri mandibula dikarenakan tidak ada perbedaan morfologi dari struktur dan jaringan antara gigi insisivus dengan gigi molar tikus. Sebelum dilakukan pencabutan, dilakukan anestesi dengan mengaplikasikan alkohol 70% pada area yang akan diinjeksi anestesi dan melakukan anestesi injeksi intra-peritoneal dengan ketamin 0,3-0,4 ml. Setelah itu dilakukan pencabutan gigi tikus dengan arah sejajar dengan soket giginya secara hati-hati dengan kekuatan yang sama untuk meminimalkan risiko patahnya gigi tikus. Pencabutan gigi dilakukan dengan menggunakan alat *le cron* dan *needle holder* yang telah dimodifikasi. Modifikasi pisau *le cron* yaitu dengan meruncingkan ujung pisau supaya dapat masuk ke ligamen periodontal gigi tikus dan merobek jaringan periodontalnya. Sedangkan modifikasi *needle holder* yaitu dengan cara mengikis ujung dari *needle holder* sesuai dengan anatomi dari gigi insisivus tikus. Kemudian soket diirigasi dengan akuades steril dan perdarahan dikontrol menggunakan kasa steril (Widyastomo, dkk., 2013).

4.7.5 Perawatan Tikus Pasca Pencabutan Gigi

Pemberian makan dilakukan dengan membuat campuran *67% Comfeed PAR-S*, 33% terigu, dan diencerkan dengan air. Pemberian makan dilakukan 1 kali sehari dengan timbangan ±40 gram. Setelah dilakukan pencabutan gigi, semua sampel tikus diberi analgesik *metamizole sodium* selama satu hari dengan dosis 0,2 ml dan antibiotik *gentamycine* selama satu hari dengan dosis 0,2 ml (Widyastomo dkk., 2013).

4.7.6 Tahap Pengelompokkan dan Perlakuan Hewan Coba

Sebanyak 30 ekor tikus dengan berat badan 150-200 gram dibagi ke dalam 6 kelompok sebagai berikut :

a. Kelompok Kontrol

Kelompok kontrol terdiri dari 15 ekor tikus yang tidak diberi perlakuan berupa pemberian rebusan kulit jeruk nipis secara per oral, dilakukan pencabutan gigi dan pengambilan sampel rahang pada hari yang berbeda, sebagai berikut:

i. Kelompok K1: Pada hari ke-7 setelah pencabutan, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.
ii. Kelompok K2: Pada hari ke-14 setelah pencabutan, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.
iii. Kelompok K3: Pada hari ke-21 setelah pencabutan, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.

b. Kelompok Perlakuan

Kelompok perlakuan terdiri dari 15 ekor tikus yang diberi perlakuan berupa pemberian rebusan kulit jeruk nipis secara per oral,

dilakukan pencabutan gigi dan pengambilan sampel rahang pada hari yang berbeda, sebagai berikut :

i. Kelompok P1: Hari ke-7 setelah pencabutan, 5 ekor tikus didekaputasi pada hari ke-7, dan diambil sampel rahangnya.
ii. Kelompok P2 hari ke-14 : Hari ke-14 setelah pencabutan, 5 ekor tikus didekaputasi pada hari ke-14, dan diambil sampel rahangnya.
iii. Kelompok P3 hari ke-21 : Hari ke-21 setelah pencabutan, 5 ekor tikus didekaputasi pada hari ke-21, dan diambil sampel rahangnya.

4.7.7 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-7, 14, dan 21 untuk melihat jumlah sel osteoblas. Dilakukan anastesi pada tikus masing-masing kelompok perlakuan dengan menggunakan injeksi ketamine dosis lethal yaitu tiga kali dosis anestesi yaitu sebanyak 0,9ml. Sebelum dekaputasi dan diambil rahang bawahnya, konfirmasi kematian tikus harus dilakukan dengan cara melihat respirasinya, apabila sudah tidak ada aktivitas respirasi, tikus didekaputasi menggunakan *scalpel* dengan *blade* no.11 dan diambil rahang bawahnya dimana terdapat soket bekas pencabutan gigi sebelumnya. Rahang bawah tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung berisi larutan formalin 10% untuk fiksasi jaringan dan diberi label. Jasad tikus kemudian dikuburkan dalam tanah dengan kedalaman 1 m (Widyastomo, dkk., 2013).

4.7.8 Pembuatan Sediaan Histologi (Basuki dkk, 2015)

a. Melakukan fiksasi jaringan dengan larutan formalin 10% selama 18-24 jam.
b. Jaringan dicuci dengan larutan *aquadest* selama 15 menit.
c. Dekalsifikasi menggunakan EDTA 14% dan dicuci dengan air selama 15 menit.
d. Dehidrasi dengan menggunakan aseton sebanyak 1 jam x 4.
e. *Clearing* dengan menggunakan *Xylol* sebanyak 30 menit x 4, paraffin cair dengan suhu 55-80^{0}C selama 1 jam x 3.
f. Penanaman jaringan pada *paraffin* blok.
g. Jaringan yang sudah ditanam dilakukan pendinginan selama 24 jam.
h. Sediaan disayat dengan menggunakan mikrotom rotary dengan ketebalan berkisar 3-6 µ lalu dilakukan peletakan sayatan pada *water bath* dengan suhu 50ºC.
i. Sayatan yang sudah menempel dapat diambil dengan *object glass* dan didiamkan selama 24 jam.
j. *Object glass* dimasukkan pada pewarna Hematoxylin selama 15 menit dan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit.
k. *Object glass* dimasukkan pada *Litium carbonat* selama 20 detik dan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit.
l. *Object glass* dimasukkan pada pewarnaan *Eosin* selama 15 menit, alkohol 96% selama 15 menit x 3 dan *Xylol* selama 15 menit x 3.
m. Preparat ditutup dengan menggunakan *deck glass Entellan*.

4.7.9 Perhitungan jumlah sel osteoblas

Sel-sel osteoblas pada permukaan tulang alveolar dari masing-masing preparat diperiksa di bawah mikroskop dalam lima lapang pandang. Sel-sel osteoblas dari lima lapang pandang dijumlah lalu hasilnya dibagi lima untuk mencari rataan jumlah sel-sel osteoblas (Muliani, 2014).

4.8 Analisis Data

Hasil perhitungan jumlah sel osteoblas pada tikus kontrol dan perlakuan dianalisa secara statistik dengan menggunakan *software* komputer dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Langkah-langkah uji hipotesis komparatif dan korelatif adalah sebagai berikut:

a. Uji Normalitas : bertujuan untuk menginterpretasikan apakah suatu data memiliki sebaran atau distribusi normal atau tidak, karena pemilihan penyajian data dan uji hipotesis bergantung dari normal atau tidaknya distribusi data. Untuk penyajian data yang berdistribusi normal digunakan mean dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Sedangkan untuk penyajian data yang tidak terdistribusi normal menggunakan median dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Pada uji hipotesis, jika sebaran data normal, maka digunakan uji parametric, sedangkan jika sebaran data tidak normal digunakan uji non-parametrik.

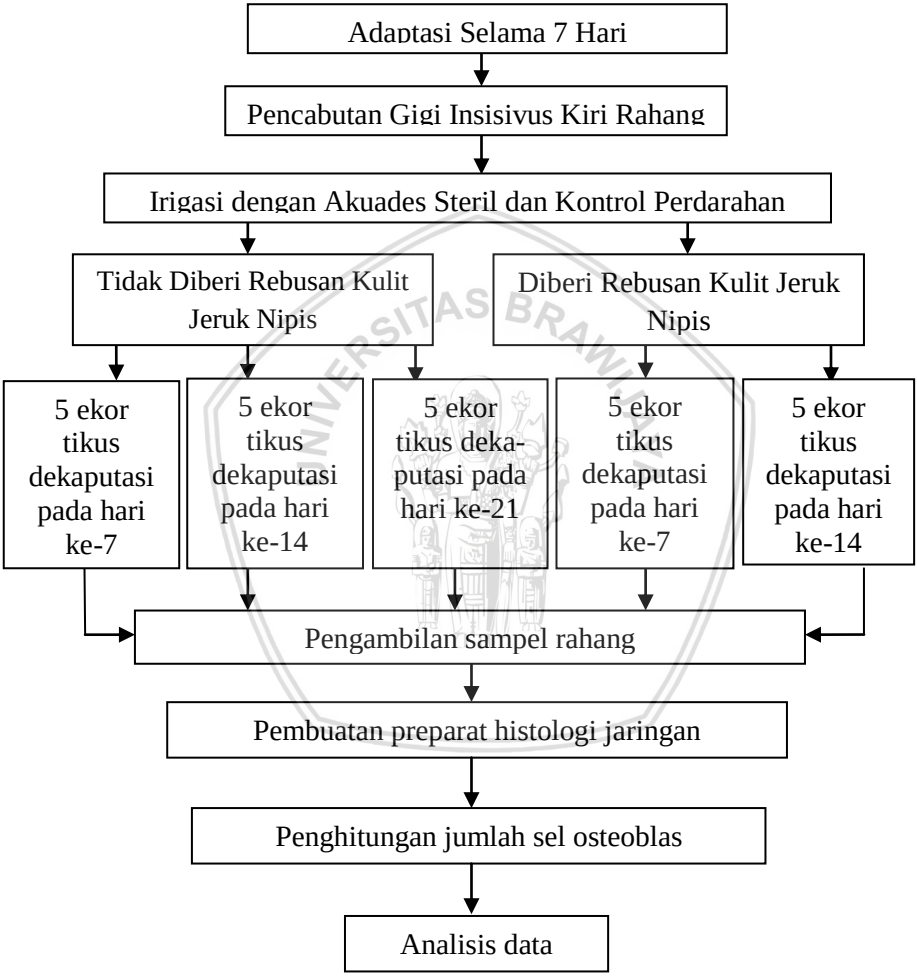
b. Uji homogenitas varian : bertujuan untuk menguji berlaku atau tidaknya asumsi ANOVA, yaitu apakah data yang diperoleh dari setiap perlakuan memiliki varian yang homogen. Uji menggunakan Levene, jika didapatkan varian yang homogen, maka analisis selanjutnya dapat menggunakan uji ANOVA.

c. Uji One-way ANOVA berlaku untuk membandingkan nilai dari rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui bahwa minimal terdapat dua kelompok yang berbeda secara signifikan.

d. Post-Hoc Test (Uji Least Significant Difference): bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil tes ANOVA. Uji POST-Hoc yang digunakan adalah uji *Tukey HSD* dengan tingkat signifikansi 95% ($p < 0,05$).

e. Uji korelasi Pearson : untuk mengetahui besarnya perbedaan secara kualitatif kelompok yang berbeda secara signifikan, yang telah ditentukan sebelumnya dari hasil uji Post Hoc (LSD).

4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Skema Alur Penelitian

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

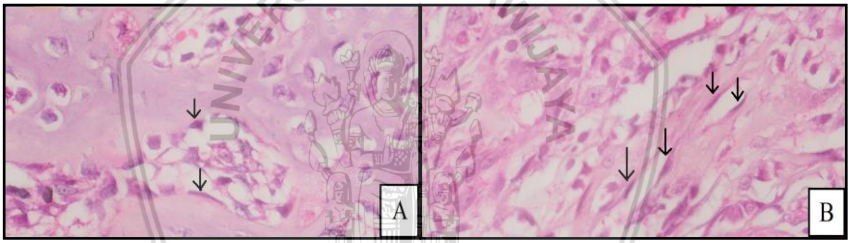
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

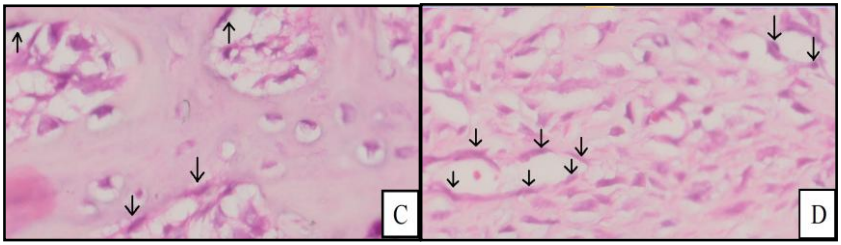
5.1 Hasil Penelitian

Osteoblas dilihat pada 5 lapang pandang menggunakan mikroskop elektrik Olympus dengan perbesaran 400x. Hasil perhitungan jumlah osteoblas mandibula tikus putih (*Rattus norvegicus)* strain wistar kelompok kontrol dan perlakuan adalah sebagai berikut.



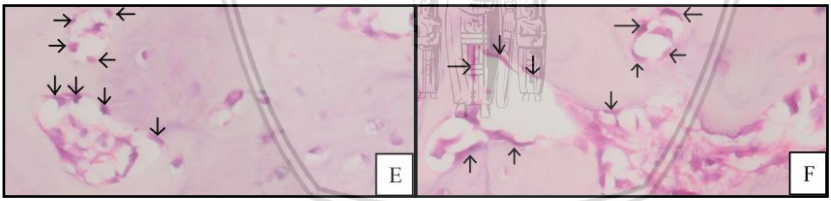
Gambar 5.1 Gambaran Mikroskopis Tulang Alveolar dengan Perbesaran 400x (A) Sel Osteoblas Kelompok Kontrol 1 (B) Sel Osteoblas Kelompok Perlakuan 1

Berdasarkan gambar 5.1 pada kelompok perlakuan 1 dilakukan pemberian rebusan kulit jeruk nipis dan didekaputasi pada hari ke 7 tampak osteoblas lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol 1 yang tidak diberikan rebusan kulit jeruk nipis dan didekaputasi pada hari ke 7.



Gambar 5.2 Gambaran Mikroskopis Tulang Alveolar dengan Perbesaran 400x (C) Sel Osteoblas Kelompok Kontrol 2 (D) Sel Osteoblas Kelompok Perlakuan 2

Berdasarkan gambar 5.2 pada kelompok perlakuan 2 dilakukan pemberian rebusan kulit jeruk nipis dan didekaputasi pada hari ke 14 tampak osteoblas lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol 2 yang tidak diberikan rebusan kulit jeruk nipis dan didekaputasi pada hari ke 14.



Gambar 5.3 Gambaran Mikroskopis Tulang Alveolar dengan Perbesaran 400x (E) Sel osteoblas Kelompok Kontrol 3 (F) Sel Osteoblas Kelompok Perlakuan 3

Berdasarkan gambar 5.3 pada kelompok perlakuan 3 dilakukan pemberian rebusan kulit jeruk nipis dan didekaputasi pada hari ke 21 tampak osteoblas lebih banyak dibandingkan dengan kelompok kontrol 3 yang tidak diberikan rebusan kulit jeruk nipis dan didekaputasi pada hari ke 21.

Tabel 5.1 Jumlah Sel Osteoblas

	Mean	Standar Deviasi
K1	2,28	0,335
K2	3,88	1,055
K3	7,04	0,817
P1	3,68	0,482
P2	6,88	1,11
P3	8,8	0,97

Tabel 5.1 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan osteoblas pada kelompok kontrol K1 dengan K2, K2 dengan K3, P1 dengan P2, P2 dengan P3.

5.2 Analisis Data

Hasil penelitian ini dianalisis menggunakan analisis statistik. Data mengenai pengaruh rebusan kulit jeruk nipis terhadap jumlah osteoblas pada penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi pada tikus putih (*Rattus Norvegicus)* strain wistar dianalisis menggunakan metode uji statistika *Analysis of Variance* (ANOVA) Oneway. Namun, sebelum dilakukan pengujian yang melandasi *One Way Anova*, dilakukan pengujian yang melandasi *One Way Anova.* Terdapat dua pengujian yang melandasi *One Way Anova*, yakni uji normalitas dan uji homogenitas varian. Pengujian normalitas dilakukan dengann menggunakan uji *Saphiro-Wilk* karena jumlah data kurang dari 50, sedangkan uji homogenitas yang digunakan

adalah uji *Levene*, keduanya menggunakan tingkat signifikansi p=0,005. Hipotesis pada uji *One Way Anova* ditentukan melalui suatu rumusan yaitu H1 diterima jika nilai signifikan yang diperoleh >0,05 atau H1 ditolak jika nilai signifikansi yang diperoleh <0,05. H1 adalah terdapat perbedaan rata-rata antara jumlah osteoblas antar kelompok.

5.2.1 Uji Normalitas Data

Pengujian normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *one sample Shapiro-Wilk* karena jumah data 30 (n<50), sedangkan data yang jumlahnya lebih dari 50 menggunakan uji *Kolmogorov-smirnov*. Uji ini bertujuan menguji apakah sebaran data yang ada dalam distribusi normal atau tidak. Keluaran hasil uji adalah dengan melihat besarnya nilai signifikansi. Jika nilai signifikansi >0,05 (α=5%), maka data dalam distribusi normal. Setelah dilakukan uji normalitas, data menunjukkan bahwa nilai signifikansi rata-rata jumlah sel osteoblas pada semua kelompok baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan adalah 0,145 lebih besar dari 0,05 (p>0,05), ini berarti data penilaian yang diperoleh berdistribusi normal. Dengan demikian sayarat pengujian ANOVA pertama telah terpenuhi.

5.2.2 Uji Homogenitas Ragam

Pengujian homogenitas varian dilakukan dengan menggunakan *Levene's Test.* Uji homogenitas varian dikatakan terpenuhi jika nilai signifikansi hasil perhitungan p>0,05. Dari hasil

analisis data pengujian homogenitas varian didapatkan koefisien *Levene statistic* sebesar 1,950 dengan nilai signifikansi sebesar 0,123. Jika nilai signifikansi adalah p=0,05 maka dapat disimpulkan bahwa nilai signifikansi lebih besar dari pada 0,05. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa data penelitian tersebut bersifat homogen.

5.2.3 Uji *One Way Anova*

Setelah kedua pengujian yang melandasi uji *one way Anova* telah terpenuhi, selanjutnya dilakukan uji Anova untuk mengevaluasi perbedaan nilai jumlah sel osteoblas masing-masing kelompok. Uji ini harus berdistribusi normal, variasi homogen dan diambil dari sampel yang acak. Berdasarkan hasil uji *one way Anova* didapatkan nilai signifikansi 0,000 lebih kecil dari 0,05, maka H0 ditolak sehingga dapat dikatakan terdapat perbedaan jumlah sel osteoblas yang signifikan dari tiap kelompok.

5.2.4 Uji *Post Hoc*

Pengujian selanjutnya untuk melihat kelompok mana yang paling berbeda diantara keempat kelompok tersebut, digunakan uji *Turkey HSD* pada menu *Post Hoc Test*. Pada uji ini, suatu data dikatakan berbeda secara bermakna apabila nilai signifikansi p<0,05. Berikut adalah hasil uji *Post Hoc.*

Tabel 5.2 Hasil Uji *Post Hoc*

	K1	K2	K3	P1	P2	P3
K1		0,062	0,000*	0,974	0,000*	0,000*
K2	0,62		0,000*	0,256*	0,000*	0,000*
K3	0,000*	0,000*		0,000*	1,000	0,032*
P1	0,974	0,256*	0,000*		0,000*	0,000*
P2	0,000*	0,000*	1,000	0,000*		0,016*
P3	0,000*	0,000*	0,032*	0,000*	0,016*	

Keterangan:

*= Merupakan nilai yang signifikan

5.2.5 Uji Korelasi Pearson

Untuk mengetahui hubungan variabel-variabel yang terlibat, dilakukan uji korelasi Pearson. Dalam hal ini, uji korelasi pearson digunakan untuk membuktikan korelasi antara pemberian rebusan kulit jeruk nipis pasca pencabutan gigi terhadap jumlah sel osteoblas pada penyembuhan luka.Signifikansi hubungan dua variabel dapat dianalisis dengan ketentuan, jika probabilitas atau signifikansi < 0,05 hubungan kedua variabel signifikan. Jika probabilitas atau signifikansi > 0,05 hubungan kedua variabel tidak signifikan.

Berdasarkan dari hasil analisis korelasi Pearson pada tabel di atas, pada kelompok kontrol didapatkan koefisien korelasi sebesar 0,925 (positif) dengan signifikansi sebesar 0,000. Sedangkan pada

kelompok perlakuan didapatkan koefisien korelasi sebesar 0,933 (positif), dengan signifikasi 0,000. Signifikansi kurang dari p=0,05 menunjukkan bahwa terdapat hubungan atau korelasi yang signifikan antara pemberian rebusan kulit jeruk nipis pasca pencabutan gigi terhadap jumlah sel osteoblas pada penyembuhan luka. Koefisien yang positif mengindikasikan bahwa hubungan yang terbentuk bersifat positif, yaitu pemberian rebusan kulit jeruk nipis pasca pencabutan gigi akan berdampak pada peningkatan jumlah sel osteoblas.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 6

PEMBAHASAN

Pada kelompok kontrol diketahui bahwa peningkatan dari hari ke 7, hari ke 14, dan hari ke 21 menunjukkan terjadinya proliferasi sel osteoblas secara normal. Berdasarkan teori, remodeling adalah proses yang dinamis, pada proses ini terjadi pengurangan dan penggantian tulang baik kortikal atau tulang trabekular. Proses ini akan berlanjut sepanjang hidup untuk mempertahankan massa tulang, integritas kerangka dan fungsi kerangka. Prosesnya juga sangat bergantung pada integrasi gerakan dari osteoblas, osteosit dan osteoklas (Mills, 2007). Osteoblas berkumpul pada dasar kavitas resopsi dan membentuk osteoid yang mulai untuk mineralisasi dengan rasio 1µm/ hari. Osteoblas akan mendeposisi tulang yang baru serta pembuluh darah akan menyertai osteoblas tersebut. Osteoblas akan terus membentuk dan melakukan mineralisasi osteoid hingga kavitas terisi (Saphiro, 2008). Estimasi masa kehidupan osteoblas 3 bulan. Subsequen osteoblas menjadi osteosit akan terjebak di dalam martikulasi tulang, mati, menjadi apoptosis, atau menjadi sel-sel lining (Barunawati, 2007; Koerniadi, 2008; Masulli, 2008).

Pada uji *Post Hoc Tukey* menunjukkan bahwa kelompok kontrol 1 (K1) dengan kelompok perlakuan 1 (P1) terdapat peningkatan yang tidak signifikan. Berdasarkan teori, bahwa Pada proses remodeling tulangalveolaris, sel osteoblas akan beragregasi

dengan zat interseluler tulang yang mengandung kolagen untuk membentuk serat kolagen baru dan membentuk osteoid. Deposisi garam kalsium akan terjadi dengan diawali pembentukan kristal berupa pulau kecil atau spikula kemudian akan membentuk osteon dengan sistem Harver. Pada saat osteoid terbentuk, beberapa sel osteoblas terperangkap dalam osteoid dan selanjutnya disebut osteosit (Pedlar, 2007; Yilgor *et al.*, 2009). tulang spikula yang belum terkalsifikasi akan mulai timbul pada hari ke-7 atau awal minggu pertama setelah pencabutan gigi (Garant, 2003). Pembentukan tulang atau disebut aposisi pada soket gigi akan terus berlangsung dimulai dari bagian tepi ke tengah soket gigi yang bergabung dengan jaringan ikat baru sehingga luka akan menutup disertai resorbsi penuh tulang kortikal tepi soket gigi sampai 4 – 6 bulan setelah pencabutan gigi (Pedlar, 2007). Berdasarkan teori tersebut, setelah pemberian rebusan kulit jeruk nipis seharusnya pada hari ke 7 dapat terjadi peningkatan yang signifikan, akan tetapi didapatkan hasil yang tidak signifikan. Hal tersebut menandakan bahwa pemberian rebusan kulit jeruk nipis pada kelompok tikus yang didekaputasi hari ke-7 tidak berpengaruh, meskipun secara perhitungan manual terjadi peningkatan dan secara statistik tidak signifikan.

Pada kelompok kontrol 2 (K2) dengan kelompok perlakuan 2 (P2) terdapat perbedaan yang signifikan. Begitu juga pada kelompok kontrol 3 (K3) dengan kelompok perlakuan 3 (P3) terdapat perbedaan yang signifikan. Dari hasil tersebut menunjukkan rata-rata

jumlah sel osteoblas pada kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol K1, K2, dan K3. Hal ini terjadi karena pada kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 diberi perlakuan berupa pemberian rebusan kulit jeruk nipis yang memiliki salah satu kandungan senyawa bioaktif yaitu flavonoid yang berperan dalam proses penyembuhan luka. Kulit jeruk nipis mengandung sejumlah besar senyawa bioaktif, seperti flavonoid (Lou, *et al*, 2014). Bagian kulit jeruk nipis terdapat jumlah PMF (*Polymethoxylated Flavones)* dalam jumlah terbanyak dibandingkan bagian lain yang ada pada buah (Manthey *and* Grohmann, 2011; Wang *et al*., 2014). PMF merupakan salah satu kelompok flavonoid di mana hampir semua hidroksil ditutup oleh metilasi (Zhang *et al*., 2012). Flavonoid dapat meningkatkan aktivitas osteoblas, mengurangi aktivitas osteoklas, dan melindungi dari kehilangan ketebalan trabekular (Mamun dkk, 2015).

Pada uji *Post Hoc Tukey* menunjukkan bahwa peningkatan jumlah sel osteoblas pada kelompok yang diberi perlakuan pada hari ke 7, hari ke 14, dan hari ke 21 memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini terjadi karena pemberian rebusan kulit jeruk nipis yang memiliki kandungan salah satunya flavonoid yang berperan dalam mempercepat penyembuhan luka. Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, dan biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Gafur, Isa dan Bialangi, 2012). Senyawa flavonoid yang berasal dari tumbuhan

dapat menstimulasi fungsi osteoblas dan menghambat fungsi osteoklas (Haq, 2014). Berdasarkan data hasil uji statistika yang telah dibahas di atas, dapat di ketahui bahwa pemberian rebusan kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia swingle)* dapat mempengaruhi jumlah sel osteoblas. Hal tersebut dapat dilihat pada kelompok kontrol 1 (K1), Kelompok kontrol 2 (K2), dan kelompok kontrol 3 (K3) dengan kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok perlakuan 3 (P3) memiliki hubungan yang kuat, yaitu pada hari ke-7 sampai hari ke-21 mengalami peningkatan dikarenakan pemberian rebusan kulit jeruk nipis secara per oral pasca pencabutan gigi tikus (*Rattus Novergicus)* strain wistar sudah dapat berpengaruh dalam meningkatlkan jumlah sel osteoblas dengan efektif. Hal ini menunjukkan bahwa rebusan kulit jeruk nipis yang mengandung senyawa aktif salah satunya adalah flavonoid dapat membantu dalam proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus Novergicus)* strain wistar.

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan mengenai pengaruh rebusan kulit jeruk nipis *(Citrus aurantifolia swingle)* terhadap jumlah osteoblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih *(Rattus norvegicus)* strain wistar, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian rebusan kulit jeruk nipis memiliki pengaruh terhadap jumlah sel osteoblas pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih strain wistar.
2. Jumlah osteoblas pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih strain wistar yang diberikan rebusan kulit jeruk nipis pada hari ke 7 menunjukkan peningkatan yang tidak signifikan daripada kelompok kontrol hari ke 7.
3. Jumlah osteoblas pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih strain wistar yang diberikan rebusan kulit jeruk nipis pada hari ke 14 menunjukkan peningkatan yang signifikan daripada kelompok kontrol.
4. Jumlah osteoblas pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih strain wistar yang diberikan

rebusan kulit jeruk nipis pada hari ke 21 menunjukkan peningkatan yang signifikan daripada kelompok kontrol.

5. Perbedaan jumlah sel osteoblas pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih strain wistar yang diberikan rebusan kulit jeruk nipis dan tidak diberikan rebusan kulit jeruk nipis menunjukkan jumlah sel osteoblas tertinggi pada kelompok yang diberikan rebusan pada hari ke-21 dan terendah pada kelompok yang tidak diberikan rebusan pada hari ke-7.

7.2 Saran

Berdasarkan kekurangan yang ada pada penelitian ini, maka perlu diadakan penelitian yang lebih lanjut sebagai berikut:

1. Pada penelitian ini, terdapat keterbatasan mengenai pengecatan menggunakan *Hematoxylin-Eosin* dengan hasil yang kurang baik. Maka, diperlukan metode pemeriksaan *enzym-linked immunosorbent assay* (ELISA) dengan marker *osteocalcin* untuk mengetahui peningkatan jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar.
2. Penelitian lanjutan mengenai efek samping dari rebusan kulit jeruk nipis sebagai terapi penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR PUSTAKA

Adina AB, Handoko FF, Setyarini II, Septistyani EP, Riyanto S, Meiyanto. 2008. Ekstrak Etanolik Kulit Jeruk Nipis (Citrus Aurantifolia (Cristm.) Swingle) Meningkatkan Sensitivitas Sel Mcf-7 Terhadap Doxorubicin. Proceeding Kongres Ilmiah XVI Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia, 55-62.

Abdullah, Mikrajuddin. 2006. IPA Fisika SMP dan MTs Jilid 2 untuk kelas VIII. Jakarta: Esis.

Allen, W. E. (2008) *diFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations (11th Edition)*, *Journal of Anatomy*. doi: 10.1111/j.1469-7580.2008.00956.x.

Anna K. 2012. Khasiat dan Manfaat Jeruk Nipis. Ed. Ke-1, Stomata., Surabaya.

Ayu KV. Pemberian Minyak Biji Rami (*Linumusitatissimum*) Per Oral Meningkatkan Jumlah Osteoblas Dan Kepadatan Tulang Pada Tikus Putih Jantan *(Rattus norvegicus)* Galur Sprague Dawley dengan Periodontitis. Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Udayana Denpasar. 2014.

Arifah M. Potensi Asupan Susu Kambing Peranakan Ettawa dan Susu Sapi terhadap Jumlah Osteoblas Pasca Pencabutan Gigi

Tikus Wistar. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. 2012.

Balaji SM. 2007. Textbook of oral and maxillofacial surgery. New Delhi: Elsevier, Hal.167,213-5.

Barunawati SB, Ismiyati T. Peran Kalsium Pada Resorpsi Tulang Residual Ridge Penderita Osteoporosis, Majalah Kedokteran Gigi-UGM, 2007; vol14no2, 203-206.

Baxter, LC., Frauchiger, V., Textor, M., Gwyn,I.ap, and Richards,R.G. *Fibroblast and Osteoblast Adhesion and Morphology on Calcium Phosphate Surface*. 2002.

Bezerra MC, Carvalho JF, Prokopowitsch AS, Pereira RMR. RANK, RANKL and osteoprotegerin in arthritic bone loss. Braz J Med Biol Res [serial online]. 2018 [cited 2009 Nov 17];38(2):161-70. Available from: URL: http://www.scielo.br/pdf/bjmbr/v38n2/5600.pdf

Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. 2006. The basic science of wound healing (retraction of Witte M., Barbul A. In: Surg Clin North Am1997; 77:509-528). Plast Reconstr Surg117 (7 Suppl):12S-34S.

Campos AC, Groth AK, Branco AB. 2008. Assessment and nutritional aspectsof wound healing. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 11:281-288.

Capulli M, Paone R, and Rucci N, "Osteoblast and osteocyte: games without frontiers," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 561, pp. 3–12, 2014.

Choi SY, Ko HC, Ko SY, Hwang JH, Park JG, Kang SH, Han SH, Yun SH, Kim SJ. Correlation between flavonoid content and the no production inhibitory activity of peel extracts from various citrus fruits. Biol.Pharm. Bull. 2007; 30(4): 772-8.

Choi MY, Chai C, Park JH, et al. Effects of storage period and heat treatment on phenolic compound composition in dried citrus peels (Chenpi) and discrimination of chenpi with different storage periods through targeted metabolomic study using HPLC-DAD analysis. J Pharmaceut Biomed 2011;54:638-45.

Djuwita I, Pratiwi I, Winarto A, Sabri M. 2012. Proliferasi dan Diferensiasi Sel Tulang Tikus dalam Medium Kultur In Vitro yang Mengandung Ekstrak Batang Cissus quadrangula Salisb.(Sipatah-patah). Jurnal Kedokteran Hewan Vol, 6(2), pp. 75–80.

Dorland, W. 2011. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Edisi 28. Jakarta: EGC, hal 991.

Garant PR. *Oral cells and tissue*. Quintessence books Co Inc. 2003. h.153-73,195-227.

Glass II D. A, Bialek P, J. D. Ahn et al., "Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation," *Developmental Cell*, vol. 8, no. 5, pp. 751–764, 2005.

Farina R, Trombelli L, 2011. Wound healing of extraction sockets. Endodontic Topics. *Dentistry & Oral Sciences Source, Ipswich, MA* September 2011; 25(1):16-43.

Ferguson. Medicinal use of citrus scienses department cooperative extension services institute of food agricultural science. Gainesville: University of Florida; 2002: 121-25.

Fitria M., Saputra D., dan Revilla G. 2014. Pengaruh Papain Getah Pepaya Terhadap Pembentukan Jaringan Granulasi pada Penyembuhan Luka Bakar Tikus Percobaan. *Jurnal Kesehatan Andalas.* Vol. 3(1): hal. 73-6.

Fragiskos. Oral surgery. Berlin : Verlag Berlin Heidelberg; 2007. hal. 1-28.

Gafur M. A, Isa I, Bialangi N. 2013. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Jamblang (*Syzygium cumini).*

Gordon PW. 2013. Buku Ajar Praktis Bedah Mulut (4th ed). Jakarta: EGC; hal. 36-44, 93-100.

Gosain A, DiPietro LA. 2004. Aging and wound healing. World J Surg 28:321-326.

Haq MJ, Riaz M, Feo VD, Jaafar HZE. Moga M*Rubus fruticosus* L.: constituents, biological activities and health related uses. Molecules. 2014;19(8):10998–1029.

Hu H, Hilton M. J, X. Tu, K. Yu, D. M. Ornitz, and F. Long, "Sequential roles of Hedgehog and Wnt signaling in osteoblast development," *Development*, vol. 132, no. 1, pp. 49–60, 2005.

Hardjito K, Wijayanti LA, Saputri NM., 2012. Senam Kegel Dan Penyembuhan Luka Jahitan Perineum Pada Ibu Post Partum. *2- TRIK: Tunas-Tunas Riset Kesehatan* 2(4): 165-170.

Jameson J, Havran WL. 2007. Skin gammadelta T-cell functions in homeostasis and wound healing. Immunol Rev215:114 122.

Johannot L, Somerset SM. Age-Related Variations In flavonoid Intake and Sources In The Australian Population. Public Health Nutr. 2006;9:1045–54.

Nakashima K, Zhou X, G. Kunkel et al., "Te novel zinc fngercontaining transcription factor Osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation,"*Cell*,vol.108, no.1, pp.17–29, 2002.

Kalfas I.H., Principles of Bone Healing, Neurosurg Focus. 2001, 10 (4), Article 1-2.

Kierszenbaum AL. 2002. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology. St. Louis: Mosby. Inc. An Affiliate of Elsevier.

Kumar, Vinar., Cotran, Ramzi S., Robbins, Stanley L., 2007, Buku Ajar Patologi Robbins, Volume 2, Edisi 7, EGC, Jakarta, 622.

Koerniadi Al, Natalina, Kemal Y, Lessang R, Sukardi I, dan Masulli SLC: Perawatan Bedah Flep Periodontal dengan Cngkok Tulang pada Kasus Periodontal Agresif, *Majalah Kedokteran Gigi –UGM*, 2008; vol 15 no 2; 125-130.

Li S, Lo CY, Ho CT. Hydroxylated Polymethoxyflavones And Methylated Flavonoids In Sweet Orange (Citrus Sinensis) Peel. J Agric Food Chem 2006;54:4176-85.

Lizzo, M.R., Tundis, R., Bonesi, M., 2012, Evaluation of Citrus aurantifolia Peel and Leaves Extract for Their Chemical Composition, Antioxidant, and Anti- Cholinesterase Activities, J Sci Food Agric. 92(15), 2960-7.

Lou S. N, Hsu Y. S, Ho C. T. 2014. Flavonoid Compositions and Antioxidant Activity of Calamonin Ectracts Prepared Using Different Solvents. Journal of food and drug analysis. Vol 22. 290-295.

Mamun M. A. A, Hosen M. J, Islam K, Khatun A, Alam M. M, Bari M. A.A. A. 2015 Tridax Procumbens Flavonoids Promote Osteoblast Differentiation and Bone Formation. Biological Research.

Manolagas, S.C. 2000. Birth And Death Of Bone Cells; Basic Regulatory Mechanisms And Implications For The Pathogenesis And Treatment Of Osteoporosis. Endocrine Review 21(2):115-137.

Manthey, J.A., Grohmann, K., 2001. Phenols in citrus peel by products. Concentrations of hydroxycinnamates and polymethoxylated flavones in citrus peel molasses. J. Agric. Food Chem. 49 (7), 3268–3273.

Masulli SLC, Maulani C, & Sukardi I:Evaluasi Radiografis Cangkok Tulang Alograf dan Membran Periosteum pada Terapi Regeneratif untuk Periodontal Agresif, Majalah Kedokteran Gigi-UGM, 2008; vol 15 no 2; 169-174.

Mathieu D, Linke J-C, Wattel F. 2006. Non-healing wounds. In: Handbook on Hyperbaric Medicine, Mathieu DE, editor. Netherlands: Springer, pp. 401- 427.

Mills RE, Taylor KR, Podshivalova K, McKay DB, Jameson JM. 2008. Defects In Skin Gamma Delta T Cell Function Contribute To Delayed Wound Repair In Rapamycin-Treated Mice. *J Immunol* 181:3974-3983.

Mitra C, Das D, Das AS, Preedy VR. Black tea (*Camellia sinensis*) and Bone Loss Protection. In: Preedy VR, editor. Tea in Health and Disease Prevention. London: Academic Press; 2013. p. 603–12.

Moore, U.J. Principles of Oral Maxillofacial Surgery 6th ed. Chichester: Wiley Blackwell: 2011. hal. 24-42, 156-75.

Mosser DM, Edwards JP. 2008. Exploring the Full Spectrum of Macrophage Activation. Nat Rev Immunol 8:958-969.

Mueller M, Hobiger S, Jungbauer A. Anti-inflammatory Activity of Extracts from Fruits, Herbs and Spices. Food Chemistry. 2010;122.

Muliani, Karmaya, I. N. M, & Tirtayasa, K. 2014. Jurnal Veteriner. Pemberian Kalsium Laktat dan Berenang Meningkatkan *Osteoblas*t pada *Epiphysis* Tulang Radius Mencit *Perimenopause*. Vol.15 no I: 39-45.

Nash LA, Sullivan PJ, Peters SJ, Ward WE. Rooibos flavonoids, Orientin and Luteolin, Stimulate Mineralization In Human Osteoblasts Through the Wnt Pathway. Mol Nutr Food Res. 2015;59:443–53.

Ngatidjan, 2006. *Petunjuk Laboratorium. Metode Laboratorium dalam Toksikologi.* Yogyaarta. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada.

Nogata, Y., Sakamoto, K., Shiratsuchi, H., Ishii, T., Yano, M., Ohta, H., 2006, Flavonoid of Fruit Tissues of Citrus Species, Biosci Biothecnol Biochem, 70 (1), 178-92.

Notoatmodjo S. 2010. Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta: Rineka Cipta.

Orwoll, E.S. 2003. Toward an Expanded Understanding Of The Role Of The Periosteum In Skeletal Health. J. Bone Miner. Res. 18:949-954.

Park JE, Barbul A. 2004. Understanding the Role Of Immune Regulation Inwound Healing. *Am J Surg* 187:11-16.

Pedlar J, 2007. *Oral and Maxillofacial Surgery* 2ed. United States of America: Elsevier Saunders. pp. 24-45

Peterson, Larry. 2004. Principles of Oral and Maxillofacial Surgery. 2ndEd. London; BC DeckerInc.

Puspitasari, A. D & Prayogo, L. S. 2016. Jurnal Inovasi Teknik Kimia. Pengaruh Waktu Perebusan terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Kersen (*Muntingia calabura).*

Rajan, V. & Murray, R. 2008. The duplicitous nature of inflammation in wound repair. Wound practice and research, 16 (3), pp.122-129.

Rajavel, Sivakumar, Jagadeeswaran & Malliaga. 2007. Evaluation

of Analgesic And Antiinflammatory Activities of Oscillatoria Willei In Experimental Animal Models. Journal of medicinal plant research vol 3(7), hal 535-537.

Rathee, P., Chaudhary, H., Rathee, S., Rathee, D., Kumar, V., Kohli, K., 2009, Mecchanism of Action Of Flavonoids As Anti-Inflammatory Agents: A Review, Inflamm And Allerg - Drug Targets, Bentham Science Publisher 8 (3), 229- 35.

Razak, Abdul, dkk. 2013. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia s.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus Secara In Vitro. Jurnal Kesehatan Andalas. 2013; 2(1).

Ridwan E. 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan. J Indon Med Assoc.Vol. 63 (3), Page 112-6.

Saphiro F., Bone Development And It's Relation To Fracture Repair. The Role Of Mesenchimal Osteoblast And Surface Osteoblasts. Department Of Orthopaedic Surgery. Orthopaedic Research Laboratories. Children hospital Boston. USA, European Cells and Materials 2008; 15.

Sarwono, B. 2001. Khasiat dan Manfaat Jeruk Nipis. Jakarta: AgroMedia Pustaka.

Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover part I : biochemistry and variability. Clin Biochem Rev 2005; 26: 97-122.

Setyarini EA, Barus LS, Dwitari A., 2013. Perbedaan Alat Ganti Verband Antara Dressing Set Dan Dressing Trolley Terhadap Resiko Infeksi Nosokomial Dalam Perawatan Luka Post Operasi. Jurnal Kesehatan STIKes Santo Borromeus 1(1): 11-23

Sjamsuhidayat, Jong W.D. 2010. *Buku Ajar Ilmu Bedah.* Edisi 3. Jakarta: EGC.

Sularsih, S. 2012. Perbandingan Jumlah Sel Osteoblas pada Penyembuhan Luka antara Penggunaan Kitosan. Jmkg. Pp. 145-152.

Supranto, J. 2007. *Statistik untuk Pemimpin Berwawasan Global.* Edisi 2. Jakarta: Penerbit Salemba Empat, hal, 70-4.

Swift ME, Burns AL, Gray KL, DiPietro LA. 2001. Age-related alterations in the inflammatory response to dermal injury. J Invest Dermatol 117:1027- 1035.

Thomas SDC. Bone turnover markers. Aust Prescr 2012; 35: 156-158.

Timby BK. Fundamental nursing skills and concepts 9thed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health; 2009, p.199

(Online), (http://books.google.co.id/books, diakses 27 Juli 2017).

Tolar J, Teitelbaum SL, Orchard PJ. Osteopetrosis. N Engl J Med [serial online]. 2018 Juli 29 [cited 2010 Jan 19]; 351(27):2839-49. Available from: URL: http://content.nejm.org/cgi/reprint/351/27/2839.pdf

Topazian RG, Goldberg MH. Hupp JR, 2002. *Oral and maxillofacial infections* 4ed. United States of America: Elsevier Saunders. pp. 2-157.

Welch AA, Hardcastle AC. The effects of flavonoids on bone. Curr Osteo-poros Rep. 2014;12:205–10.

Widyastomo, Wulan, K., dan Sari, I. Pengaruh Jus Buah Belimbing Manis (*Averrhoacarambola Linn.*) terhadap Peningkatan Jumlah Fibroblas Pada Soket Tikus Strain Wistar Pasca Ekstraksi Gigi. *Prodenta Journal of Dentistry*, 2013,volume 1, no. 2, hal. 62-70.

Zenia Adindaputri U. 2013. Pengaruh Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (Citrus Aurantifolia Swingle) Konsentrasi 10% Terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase Streptococcus mutans.

Zhang J.y, Zhang Q, Zhang H.X, Ma Q, Lu J.Q, Qiao Y.J. Characterization of Polymethoxylated Flavonoids (Pmfs) in The Peels of 'Shatangju' Mandarin (Citrus Reticulata

Blanco) by Online High-Performance Liquid Chromatography Coupled to Photodiode Array Detection And Electrospray Tandem Mass Spectrometry. 2012. J Agric Food Chem. 60(36):9023-34.

Zulkarnain, Joni. 2003. *Kumpulan Rumus Fisika SLTP*. Jakarta: Kawan Pustaka.

Yilgor P, Tuzlaklogu K, Reis R. Incorporation of a sequential BMP-2/ BMP-7 delivery system into chitosan-based scaffolds for bone tissue engineering. J Biomaterials 2009;10:1-9.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA