repository.ub.ac.id

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis*) TERHADAP ANGIOGENESIS PADA PENYEMBUHAN LUKA PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

SKRIPSI

UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN

MEMPEROLEH GELAR SARJANA

Oleh:

HANIAH TAUFIK ALKATIRI

NIM: 155070401111037

PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK iv
ABSTRACT v
KATA PENGANTAR vi
DAFTAR ISI viii
DAFTAR GAMBAR xi
DAFTAR TABEL xii
DAFTAR SINGKATAN xiii
BAB 1. PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 4
1.3.1 Tujuan umum 4
1.3.2 Tujuan khusus 4
1.4 Manfaat Penelitian 4
1.4.1 Manfaat Akademik 4
1.4.2 Manfaat Praktis 4
1.4.3 Bagi Peneliti 5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Daun Tempuyung 6
2.1.1 Taksonomi 6
2.1.2 Morfologi 6
2.1.3 Deskripsi 7
2.1.4 Kandungan Kimia 7
2.1.5 Skrining Fitokimia 7
2.2 Flavonoid 9
2.2.1 Deskripsi 9
2.2.2 Peran Flavonoid pada Angiogenesis dan Penyembuhan Luka 10
2.3 Penyembuhan Luka 11
2.3.1 Definisi Luka 11
2.3.2 Fase Penyembuhan Luka 11
2.3.3 Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi 16
2.4 Angiogenesis 18
2.4.1 Definisi 18
2.4.2 Morfologi 18
2.4.3 Angiogenesis dalam Penyembuhan Luka 19

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2.5 Pencabutan Gigi 21
2.5.1 Definisi 21
2.5.2 Indikasi 22
2.5.3 Kontraindikasi 22
2.5.4 Komplikasi 22
2.6 Tikus Putih 22
2.6.1 Taksonomi 22
2.6.2 Deskripsi 23
2.6.3 Anatomi Gigi Tikus Putih 23
2.7 Ekstrak 24
2.7.1 Definisi 24
2.7.2 Maserasi 24
2.7.3 Pelarut 25
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS
3.1 Kerangka Konsep Penelitian 27
3.2 Hipotesis Penelitian 29
BAB 4. METODE PENELITIAN
4.1 Rancangan Penelitian 30
4.2 Sampel 31
4.3 Variabel Penelitian 32
4.3.1 Variabel tergantung 32
4.3.2 Variabel bebas 32
4.3.3 Variabel kontrol 32
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitpian 32
4.5 Alat dan Bahan Penelitian 33
4.5.1 Perawatan dan Pembuatan Makanan Hewan Coba 33
4.5.2 Pembuatan Ekstrak Daun Tempuyung 33
4.5.3 Pencabutan Gigi Tikus Putih 33
4.5.4 Pemberian Ekstrak pada Tikus Putih 33
4.5.5 Perawatan Tikus Putih Pasca Pencabutan 33
4.5.6 Dekaputasi Tikus Putih 34
4.5.7 Pembuatan Sediaan Histologi 34
4.5.8 Persiapan Analisis Histologi 34
4.6 Definisi Operasional 34
4.6.1 Ekstrak Daun Tempuyung 34
4.6.2 Pencabutan Gigi 35
4.6.3 Soket Gigi 35
4.6.4 Jumlah Angiogenesis 35
4.7 Prosedur Penelitian 35
4.7.1 Perawatan Tikus Putih 35

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

4.7.2 Pembuatan Sediaan Ekstrak Daun Tempuyung.....36
4.7.3 Pencabutan Gigi Tikus Putih.....37
4.7.4 Perawatan Tikus Putih Pasca Pencabutan.....38
4.7.5 Pemberian Ekstrak Daun Tempuyung.....38
4.7.6 Dekaputasi Tikus Putih.....38
4.7.7 Pembuatan Sediaan Histologi.....39
4.7.8 Penghitungan Angiogenesis.....41
4.8 Analisis Data.....42
4.9 Alur Penelitian.....43
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN
5.1 Hasil Penelitian.....44
5.2 Analisa Data.....47
5.2.1 Uji Normalitas.....47
5.2.2 Uji-T Tidak Berpasangan.....47
5.2.3 Uji Korelasi Pearson dan Uji Regresi.....47
5.3 Pembahasan.....48
BAB 6. PENUTUP
6.1 Kesimpulan.....53
6.2 Saran.....54
DAFTAR PUSTAKA.....55
LAMPIRAN
Lampiran 1 Uji Kelaikan Etik.....62
Lampiran 2 Surat Determinasi Daun Tempuyung.....63
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian.....64
Lampiran 4 Hasil Penghitungan Jumlah Angiogenesis.....67
Lampiran 5 Hasil Uji Statistik.....68

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Tanaman Tempuyung 7
Gambar 2. Struktur Kimia Triterpenoid, saponin, dan steroid 9
Gambar 3. Struktur dasar flavonoid 10
Gambar 4. Respon Inflamasi 14
Gambar 5. Penyembuhan luka hari ke 3-7 16
Gambar 6. Histologi pembuluh darah baru 21
Gambar 7. Angiogenesis 21
Gambar 8. Tikus Putih 24
Gambar 9. Anatomi Gigi Tikus 25
Gambar 10. Kerangka Konsep 29
Gambar 11. Rancangan Penelitian 33
Gambar 12. Alur Penelitian 45
Gambar 13. Angiogenesis hari ke-3 47
Gambar 14. Angiogenesis hari ke-5 48
Gambar 15. Angiogenesis hari ke-7 48
Gambar 16. Diagram hasil rata-rata angiogenesis 49

repository.ub.ac.id

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Kandungan Daun Tempuyung 8

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

ABSTRAK

Haniah Taufik Alkatiri, NIM:155070401111037, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang, 26 November 2018, **Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis*) terhadap Angiogenesis pada Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**, Tim Pembimbing: drg. Nenny Prasetyaningrum, M.Ked.

Tindakan pencabutan gigi menimbulkan terjadinya luka dan memerlukan penggantian jaringan baru agar fungsi dapat kembali normal, salah satunya dengan pembentukan pembuluh darah baru atau angiogenesis. Daun tempuyung memiliki kandungan flavonoid yang dapat membantu proses penyembuhan luka dan meningkatkan angiogenesis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) terhadap angiogenesis pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*). Metode yang digunakan adalah *true experimental* secara *in vivo*. Pencabutan dilakukan pada gigi insisivus kiri rahang bawah dan dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok yang tidak diberi ekstrak daun tempuyung (K3, K5, K7) dan kelompok yang diberi ekstrak daun tempuyung per oral (P3, P5, P7), lalu dilakukan dekaputasi pada hari ke-3, 5 dan 7 pasca pencabutan. Soket gigi diambil dan dilakukan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* kemudian angiogenesis diamati menggunakan mikroskop digital dengan perbesaran 40x. Analisa data menggunakan uji T tidak berpasangan menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p<0,05$). Uji korelasi *Pearson* menunjukkan adanya korelasi yang kuat antara ekstrak daun tempuyung dengan lamanya pemberian untuk meningkatkan angiogenesis. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) berpengaruh terhadap peningkatan angiogenesis pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih *(Rattus norvegicus).*

Kata Kunci: Ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis)*, flavonoid, pencabutan gigi, angiogenesis.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

ABSTRACT

Haniah Taufik Alkatiri, NIM:155070401111037, Dentistry Study Programs, Faculty of Dentistry University of Brawijaya Malang, November 26, 2018, **The Effect of Tempuyung (*Sonchus arvensis)* Leaf Extract towards Angiogenesis for Wound Healing After Tooth Extraction in White Rats (*Rattus Norvegicus*)**, Adviser: drg. Nenny Prasetyaningrum, M.Ked

Tooth extraction can cause the formation of the wound area and requires new tissue replacement untill the function can return to normal, one of the main phase is the formation of new blood vessels or angiogenesis. Tempuyung *(Sonchus arvensis)* leaves contain of flavonoids which can help the wound healing process and increase angiogenesis. The purpose of this study was to determine the effect of giving tempuyung leaf extract to the amount of angiogenesis in wound healing process after tooth extraction in white rat *(Rattus norvegicus)*. This study method was true experimental by using white rats. The sample was the mandibular left icisive socket in white rats and divided into 6 groups, the group that were not given tempuyung leaf extract (K3, K5, K7) and the treatment group that were given tempuyung leaf extract by oral (P3, P5, P7). Each groups was decaputated on the 3rd, 5th and 7th day after extraction. Tooth sockets were taken and stained with Haematoxylin-Eosin then observed using a digital microscope with 40x magnification. Data analysis using unpaired T test showed there were significant differences between the control group and the treatment group ($p < 0.05$). The Pearson correlation test showed a strong correlation between tempuyung leaf extract and the duration of administration to increase angiogenesis. Based on this study, it can be concluded that tempuyung leaf extract (Sonchus arvensis) is effective in increasing angiogenesis in healing wounds after tooth extraction of white mice (Rattus norvegicus).

Keywords: Tempuyung leaf extract (*Sonchus arvensis)*, flavonoid, tooth extraction, angiogenesis.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 1
PENDAHULUAN

1.1Latar Belakang

Tindakan medik terbanyak pada bidang kedokteran gigi yang dilakukan di Indonesia ialah pencabutan gigi. Berdasarkan Riskesdas 2007, tindakan pencabutan gigi di Indonesia mencapai angka 79,6%. Pencabutan gigi atau ekstraksi adalah pengeluaran gigi dari tulang alveolar dan merupakan tindakan bedah minor yang melibatkan jaringan keras dan jaringan lunak pada rongga mulut (Harty dan Ogston, 2012; Pedersen, 2013).

Tindakan pencabutan akan menyebabkan terjadinya luka pada daerah operasi yang menimbulkan rusaknya mukosa serta gangguan jaringan di bawahnya yaitu pembuluh darah, otot, saraf, tulang, dan selaput tulang (Kumar *et al*., 2014). Terjadinya daerah perlukaan membutuhkan penggantian jaringan melalui proses penyembuhan luka agar fungsi jaringan kembali normal dengan terbentuknya jaringan baru (Nuryana, 2007). Penyembuhan luka dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain usia, gender, hormon, stress, diabetes, kebiasaan merokok dan mengkonsumsi alkohol, medikasi, imunitas tubuh, serta nutrisi (Guo dan Dipietro, 2010). Penyembuhan yang berlangsung lama dapat menyebabkan beberapa keluhan pada penderita, antara lain pembengkakan, pendarahan, rasa sakit, gangguan fungsi kunyah dan bicara, serta terjadinya infeksi (Rosanto *et al*., 2012).

Proses penyembuhan setelah pencabutan berlangsung dalam tiga fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi (Larjava, 2012). Fase-fase tersebut berlangsung tumpang tindih. Fase inflamasi

dimulai setelah terjadinya luka hingga 4-6 hari, yang ditandai dengan pola perubahan leukosit (Larjava, 2012). Pada fase proliferasi mulai terjadi perbaikan kerusakan, yaitu re-epitelisasi, aktivasi fibroblas, dan angiogenesis (Gurtner *et al.*, 2007).

Angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru adalah salah satu elemen penting yang terjadi pada proses penyembuhan luka (Nugroho, 2005). Luka dapat ditutup oleh difusi oksigen dari pembuluh darah utuh yang berdekatan. Dalam keadaan iskemia, penutupan luka sangat bergantung pada vaskularisasi yang dicapai dengan adanya angiogenesis. Proses angiogenesis dimulai dengan adanya stimulasi oleh *vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor beta (TGF-β,) dan basic fibroblast growth factor (bFGF)* yang dihasilkan oleh makrofag (Diegelmann dan Evans, 2004). Sedangkan fase terakhir yaitu maturasi yang berlangsung pada hari ke-21 hingga berbulan-bulan bahkan bertahun-tahun (Hess, 2005).

Penggunaan obat herbal di Indonesia telah digunakan masyarakat sejak zaman dahulu. Dalam 10 tahun terakhir, penggunaan obat herbal semakin terlihat. Hal ini dibuktikan dengan data WHO, bahwa pada tahun 2001 perdagangan herbal dunia sekitar 12-15 miliar USD, sedangkan saat ini mencapai 60 miliar USD (Kadarusman, 2011). Sesuai dengan program jangka pendek terkait perkembangan pelaksanaan program Saintifikasi Jamu, pada tahun 2011 ditetapkan 15 jenis tanaman obat yang sangat dibutuhkan, yang salah satunya adalah tanaman Tempuyung (Januwati, 2012).

Penelitian menunjukkan bahwa daun tempuyung mempunyai efek imunomodulator, antibakteri, serta digunakan untuk mengobati

bengkak, demam, peradangan, asam urat, kencing batu, batuk, dan asma (Sukmayadi, 2014). Daun tempuyung mengandung flavonoid, alkaloid, glikosida, saponin, polifenol, tanin, dan antrakinon (Winarto dan Karyasari, 2004). Kandungan flavonoid pada tumbuhan dapat berperan sebagai antioksidan, menangkap radikal bebas, antiinflamasi, antikanker, dan antivirus (Kumar dan Pandey, 2013). Flavonoid dapat meningkatkan makrofag, sehingga terjadi peningkatan metabolik seperti pada fase proliferasi dengan meningkatnya *growth factor* (Paul, 2003).

Untuk mengetehaui efektivitas senyawa aktif pada tumbuhan seperti flavonoid pada daun tempuyung, maka perlu dibuat ekstrak menggunakan zat pelarut yang sesuai. Teknik untuk pembuatan ekstrak tersebut adalah maserasi yaitu mengekstrak dengan berulangkali pengadukan. Maserasi merupakan metode ekstraksi tanpa pemanasan, sehingga dapat digunakan untuk senyawa yang tahan panas maupun tidak tahan panas (Agoes, 2007; Depkes RI, 2000).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) terhadap angiogenesis pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

2.1 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, permasalahan yang akan dibahas dalam penelitian ini adalah "Apakah pemberian ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) berpengaruh terhadap angiogenesis pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*)?"

1.2 Tujuan Penelitian

1.2.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) terhadap angiogenesis pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.2.2 Tujuan Khusus

1. Menghitung angiogenesis pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvansis*) pada hari ke-3, 5, dan 7.
2. Menghitung angiogenesis pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvansis*) pada hari ke-3, 5, dan 7.
3. Menganalisa perbedaan angiogenesis pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvansis*) dengan kelompok yang diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvansis*) pada hari ke-3, 5, dan 7.

1.3 Manfaat Penelitian

1.3.1 Manfaat Akademik

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

1.3.2 Manfaat Praktis

Menambah informasi tentang manfaat daun tempuyung (*Sonchus*

arvansis) sebagai obat herbal pada penyembuhan luka pasca pencabutan.

1.4.3 Manfaat Bagi Peneliti

1. Sebagai wadah untuk mengaplikasikan ilmu serta melatih berfikir kritis.
2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) terhadap angiogenesis dalam penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Daun Tempuyung

2.1.1. Taksonomi

Taksonomi tanaman tempuyung menurut Winarto dan Karyasari (2004):

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Class	: Angiospermae
Ordo	: Monokotiledon
Familia	: Asteraceae
Genus	: Sonchus
Species	: *Sonchus arvensis*

Gambar 1. TanamanTempuyung

Sumber: Winarto dan Karyasari, 2004

2.1.2. Morfologi

Tanaman tempuyung memiliki akar tunggang, batang berbentuk bulat, berongga, berusuk dan bergetah putih. Tinggi tanaman ini sekitar 0,6-2 meter. Daun berupa daun tunggal, berbentuk lonjong, panjang daun 6-48 cm, lebar daun 3-12 cm.

Bagian daun yang mengarah ke pangkal melekuk-lekuk dan menyempit. Perbungaan majemuk dan berwarna kuning cerah dan lama kelamaan menjadi kecoklatan (Muhlisah, 2007).

2.1.3. Deskripsi

Tanaman ini berasal dari Eurasia yang biasa ditemukan pada daerah dengan curah hujan tinggi, dan biasanya terdapat pada ketinggian 50-1.650 meter di atas permukaan laut. Tempuyung adalah tanaman tahunan, yang memiliki perakaran cukup dalam yaitu mencapai 0,3-1,8 m, bergetah, memiliki bunga, tumbuh liar pada tempat terbuka yang disinari matahari atau di daerah yang sedikit terlindung seperti tebing, tepi saluran air. Tanaman ini memiliki perkembangbiakan menyebar (Sulaksana, *et al*., 2004).

2.1.4. Kandungan Kimia

Kandungan kimia dalam daun tempuyung berupa ion-ion mineral, yaitu silikat; kalium; magnesium; natrium; dan senyawa organik, seperti flavonoid, kumarin, taraksesterol, inositol, serta asam fenolat (Winarto dan Karyasari, 2004).

2.1.5. Skrining Fitokimia

Fitokimia yang dimiliki daun tempuyung yaitu adanya senyawa flavonoid dan triterpenoid, dengan uraian sebagai berikut:

Tabel 1. Kandungan Daun Tempuyung

Kandungan	Daun	*Ethanolic extract*	*Ethyl acetate extract*
Alkaloid	-	-	-
Flavonoid	+	+	+
Steroids/Triterpenoid	+	+	+
Saponin	-	-	-

Sumber: Hendriani *et al*., 2014

Flavonoid dalam daun tempuyung yaitu sebesar 0,1044%, sedangkan pada akarnya 0,5%. Senyawa kimia dalam daun tempuyung selain flavonoid yaitu triterpenoid, alkaloida, saponin, tanin, serta polifenol (Hendriani, 2014; Winarto dan Karyasari, 2004).

a. Triterpenoid

Triterpenoid merupakan jenis turunan saponin pada berbagai macam flora dan fauna (Garai, 2014). Triterpenoid berfungsi untuk pembentukan kartilago dan berperan untuk mempercepat penyembuhan tulang dengan proliferasi pre-osteoblas serta mineralisasi tulang (Spoorn *et al.*, 2008).

Gambar 2. Struktur Kimia Triterpenoid, saponin, dan steroid

Sumber: Azmir *et al.*, 2013

b. Alkaloida

Manfaat alkaloid dalam bidang kesehatan adalah untuk melawan infeksi mikroba, memacu sistem saraf, dan sebagai obat anti hipertensi (Carey, 2006).

c. Saponin

Secara luas, saponin diklasifikasikan sebagai triterpenoid, steroid atau steroidal glycoalkaloids berdasarkan struktur aglikon (Moses, 2014). Saponin adalah senyawa yang banyak ditemukan. Penelitian telah mengungkapkan bahwa saponin

dapat mempercepat banyak aktivitas biologis termasuk hemolitik, anti bakteri, anti-virus, dan fungsi anti-oksidatif (Kim *et al.*, 2011).

d. Tanin

Tanin merupakan zat aktif yang memberikan efek anti-inflamasi (Winarto dan Karyasari, 2004).

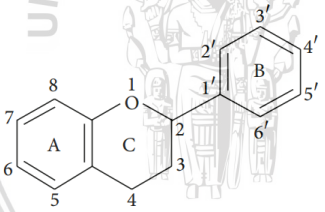
e. Polifenol

Senyawa polifenol pada tumbuhan bermanfaat sebagai antioksidan. Selain itu, senyawa dari polifenol juga mempunyai aktivitas antihipertensi (Dhianawaty, 2015).

2.2. Flavonoid

2.2.1 Deskripsi

Gambar 3. Struktur dasar flavonoid



Sumber: Kumar dan Pandey, 2013

Flavonoid merupakan golongan fenol alam terbesar yang mengandung 15 atom karbon dan terdiri dari dua cincin benzena (A dan B seperti ditunjukkan pada Gambar 2.2) yang dihubungkan melalui cincin pirometer heterosiklik (C). Flavonoid dapat dibagi menjadi berbagai kelas seperti flavon (misalnya *flavon, apigenin, dan luteolin*), flavonol (misalnya *quercetin, kaempferol, myricetin, dan fisetin*), flavanon (misalnya *flavanone, hesperetin,* dan *naringenin*), dan lainnya (Kumar dan Pandey, 2013).

Flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Pelarut polar seperti etanol, etilasetat, metanol, atau campuran dari pelarut tersebut yang digunakan untuk mengekstrak flavonoid pada tumbuhan (Rijke, 2005). Pengambilan bahan aktif tanaman dapat dilakukan dengan ekstraksi. Bahan aktif akan terlarut oleh zat pelarut yang sifat kepolarannya sesuai. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam membuat ekstrak (Sjahid, 2008). Kandungan flavonoid pada tumbuhan dapat berperan sebagai antioksidan, menangkap radikal bebas, antiinflamasi, antikanker, dan antivirus (Kumar dan Pandey, 2013).

2.2.2 Peran Flavonoid pada Angiogenesis dan Penyembuhan Luka

Flavonoid berperan penting dalam meningkatkan resistensi pembuluh darah kapiler, oleh karena itu flavonoid sering digunakan pada keadaan patologis seperti pada saat terjadi gangguan permeabilitas dinding pembuluh darah. Rusaknya pembuluh darah saat akibat luka menyebabkan meningkatnya permeabilitas kapiler, sehingga darah akan keluar dari kapiler (terutama plasma darah), kemudian diikuti fase inflamasi. Flavonoid bekerja pada endotelium mikrovaskular dalam mengurangi hiperpermeabilitas dan oedem (Fitriyani dkk., 2011).

Flavonoid dapat meningkatkan aktivitas IL-2 serta proliferasi limfosit. Hal ini akan mempengaruhi sel CD4+ dan menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Sel Th1 akan mempengaruhi SMAF (*Specific Makrofag Activating Factor*) yaitu molekul IFNγ yang mengaktifkan

makrofag, sehingga terjadi peningkatan metabolik dan *growth factor* untuk angiogenesis, fibroplasia, dan re-epitelisasi. (Paul, 2003).

2.3. Penyembuhan Luka

2.3.1 Definisi Luka

Luka adalah terputusnya kontinuitas permukaan tubuh atau permukaan internal organ yang disebabkan karena cedera, dilakukannya tindakan bedah, dan juga trauma (Gardner dan Tweedle, 2002). Luka yang terjadi pada rongga mulut merupakan hal yang sering terjadi, baik karena trauma maupun karena pencabutan (Larjava, 2012). Ketika terjadi luka, tubuh akan menginisiasi agar penyembuhan terjadi (Andreasen *et al.*, 2007).

2.3.2 Fase Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka yaitu proses paling kompleks dalam fisiologi manusia dengan melibatkan reaksi dan interaksi antar sel dan mediator (Prasetyono, 2009). Penyembuhan luka merupakan proses dinamis yang terdiri dari empat tahapan yang terus-menerus dan tumpang tindih. Setiap fase terjadi secara tepat dan teratur (Guo and Dipietro, 2010). Fase tersebut antara lain yaitu fase hemostatis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling (Gurtner *et al.*, 2007).

1. Fase Hemostatis dan Inflamasi

Hemostatis adalah suatu proses fisiologis yang menjaga fluiditas darah dan membatasi kehilangan darah setelah terjadinya cedera dengan mempertahankan jaringan dan merangsang terjadinya perbaikan. Proses hemostasis sangat cepat, yaitu terjadi dalam beberapa jam hingga satu hari. Saat luka ringan terjadi, sangat penting bahwa reaksi prokoagulan tetap terlokalisir ke tempat yang

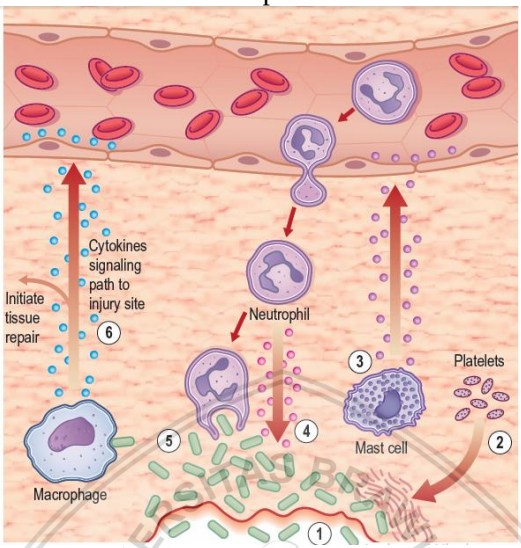
cedera dan tidak disebarluaskan ke seluruh sistem vaskular (Dahlback, 2005).

Fase hemostasis memerlukan platelet dan sistem koagulasi darah. Proses pembekuan darah terbagi menjadi inisiasi dan amplifikasi. Inisiasi disebabkan oleh jalur ekstrinsik, sedangkan amplifikasi dipengaruhi oleh jalur intrinsik. *Tissue factor* (TF) menghasilkan *"trombin brust"* yaitu proses dimana trombin dilepaskan seketika. Trombin merupakan faktor utama terjadinya koagulasi darah. Jalur ekstrinsik yang bertanggung jawab terhadap inisiasi koagulasi darah terdiri dari reseptor transmembran TF dan plasma FVII / VIIa. Disisi lain, jalur intrinsik terdiri dari plasma FXI, IX dan FVIII (Gurtner *et al*., 2007).

Dalam hemostasis, terdapat trombin yang memegang peran penting setelah terjadinya cedera yaitu dengan mengubah fibrinogen menjadi gumpalan fibrin yang tidak larut dan dengan mempromosikan agregasi trombosit. Trombin mengaktifkan komponen lain dalam koagulasi, termasuk FV dan FVII yang akan mengaktifkan FXI dan FIX. Trombin juga akan mengaktifkan dan melepaskan FVIII (Gurtner *et al*., 2007).

Cedera yang terjadi pada jarigan akan memicu terjadinya peradangan (inflamasi) yang dimaksudkan untuk mempersiapkan penutupan luka. Mediator kimia selama peradangan akut menimbulkan beberapa gejala yang ditandai oleh Celsus pada abad pertama, yaitu rubor (kemerahan), tumor (pembengkakan), kalor (panas), dan dolor (nyeri). Selama penyembuhan, respon inflamasi ditandai dengan pola perubahan leukosit (Larjava, 2012).

Gambar 4. Respon Inflamasi.



Keterangan: 1. Bakteri dan patogen lain masuk menuju daerah luka, 2. Platelet membentuk bekuan darah, 3. Sekresi sel mast yang memediasi vasodilatasi dan kostriksi vaskular, 4. Neutrofil dan makrofag memakan patogen dengan patogenesis, 5. Makrofag mensekresi hormon sitokin yang membuat sel sistem imun menuju daerah luka dan mengaktivasi perbaikan jaringan, 6. Respon inflamasi terjadi hingga benda asing mati dan luka sembuh.

Sumber: Gurtner *et al.*, 2007

Bekuan darah atau trombus bergantung pada aktivasi platelet. Gumpalan darah yang kaya platelet juga mengandung leukosit polimorfonuklear (neutrofil). Dalam hitungan jam setelah cedera, sejumlah neutrofil melintasi dinding sel endotel kapiler darah ke lokasi luka. Untuk mengaktifkannya, pembuluh darah lokal diaktifkan oleh sitokin proinflamasi seperti IL-1β, TNF-α, dan interferon-γ. Sitokin ini menginduksi ekspresi molekul adhesi yang diperlukan untuk adhesi leukosit dan diapedesis (Gurtner *et al.*, 2007).

Neutrofil memiliki berbagai fungsi, mulai dari fagositosis agen infeksi hingga pembersihan jaringan. Bila dilapisi dengan opsonin

(umumnya komplemen dan atau antibodi), mikroorganisme berikatan dengan reseptor spesifik pada permukaan fagosit dan invaginasi membran sel terjadi penggabungan mikroorganisme ke dalam fagosom intraseluler. Sitoplasma akan mengeluarkan isinya ke dalam fagosom, dan kematian mikroorganisme yang tertelan akan segera terjadi. Karena berikatan dengan keseluruhan proses inflamasi yang timbul terhadap respon akibat cedera, neutrofil merupakan pemeran utama karena dapat memodifikasi fungsi makrofag dan dengan demikian mengatur respon imun selama penyembuhan luka (Gurtner *et al.*, 2007).

Pada penyembuhan luka, infiltrasi neutrofil akan berhenti setelah beberapa hari setelah cedera. Di lokasi luka, makrofag berfungsi sebagai sel antigen-presenting dan fagosit yang mengangkut sel-sel mati. Selain itu, terdapat *growth factor* yang memiliki kemampuan untuk melakukan penyembuhan luka. Faktor tersebut melliputi TGF-β, TGF-α, FGF (bFGF), VEGF, dan PDGF. *Growth factor* ini memungkinkan terjadinya proliferasi sel dan sintesis ECM serta menginduksi angiogenesis (Gurtner *et al*., 2007).

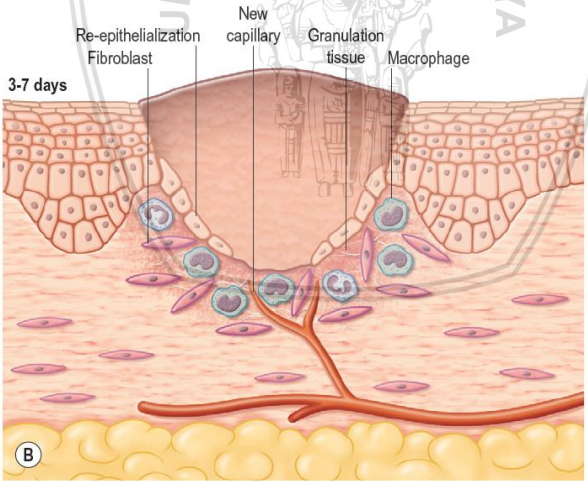
Makrofag mewakili sel predominan dalam penyembuhan luka 3-5 hari setelah cedera. Fungsi utama dari makrofag luka yaitu sebagai fagosit yang membersihkan luka dari sisa matriks dan sel, termasuk fibrin dan apoptosis neutrofil. Makrofag menghasilkan berbagai faktor sitokin, pertumbuhan dan angiogenik yang mendorong proliferasi fibroblas dan angiogenesis (Gurtner *et al.*, 2007).

2. Fase Proliferasi

Fase proliferasi dimulai sekitar 2 hari hingga 3 minggu setelah terjadinya cedera. Fase ini tumpang tindih dengan fase inflamasi dan

mendukung re-epitelisasi, pembentukan pembuluh darah baru dan masuknya fibroblas. Saat fase ini dimulai, degradasi bekuan fibrin oleh makrofag telah dimulai dan menyerang sel endotel serta fibroblas. Migrasi fibroblas menghasilkan sitokin yang menginduksi keratinosit untuk bermigrasi dan berkembang biak. Makrofag aktif menghasilkan beberapa sitokin, seperti PDGF dan TNF-α, yang juga menginduksi fibroblas untuk menghasilkan faktor pertumbuhan keratinosit. Keratinosit akan aktif bekerja beberapa jam setelah cedera. Matriks fibrin akan didominasi oleh platelet dan makrofag dan digantikan jaringan granulasi dari kumpulan fibroblas, sel endotel yang berperan membentuk maktriks ekstraseluler, makrofag dan neovaskular (Gurtner *et al.*, 2007).

Gambar 5. Penyembuhan Luka pada hari ke 3-7



Sumber: Gurtner *et al.*, 2007

Sel fibroblas adalah sel utama pada fase proliferasi yang akan mengalami migrasi keratinosit. Makrofag akan menghasilkan growth factor seperti PDGF dan TGF-β yang menginduksi fibroblas untuk

berproliferasi, migrasi dan pembentukan matriks ekstraseluler. Matriks tersebut akan digantikan oleh kolagen tipe III. Pembuluh darah akan terbentuk dari sel endotel yang dibantu oleh FGF, VEGF, dan TSP-1. Kolagen akan menggantikan matriks ini, dan fase proliferasi berakhir dan dilanjutkan *fase remodelling* (Gurtner *et al.*, 2007).

Faktor angiogenik yang diproduksi oleh makrofag seperti fibroblas growth factor (FGF)-2, vascular endothelial growth factor (VEGF), angiopeptin-1 dan thrombospondin yang akan menstimulasi sel endotel membentuk neovaskular dengan pembentukan pembuluh darah kapiler. Fibroblas kemudian akan menghilang setelah matriks kolagen mengisi kavitas luka dan pembentukan neovaskular akan mengalami apoptosis sehingga jumlahnya menurun (Gurtner *et al,. 2007).*

3. Fase Remodeling

Fase *remodelling* merupakan fase terakhir atau juga disebut sebagai fase maturasi. Pada tahap ini jaringan akan dibentuk seperti jaringan asalnya. Tahap ini berlangsung pada hari ke-21 sampai 1 tahun, dimulai setelah kavitas daerah luka terisi oleh jaringan granulasi dan berakhirnya proses reepitelisasi. Adapun perubahan yang terjadi pada tahap ini yaitu kepadatan sel, vaskularisasi, dan pembuangan matriks yang berlebihan. Proses ini dapat terjadi selama bertahun-tahun (Gurtner *et al*., 2007).

2.3.3 Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi

Ekstraksi gigi meliputi serangkaian proses reparatif yang melibatkan jarigan keras dan jaringan lunak. Jaringan yang terlibat dalam proses penyembuhan pasca ekstraksi yaitu bekuan darah (BC),

yang terdiri atas eritrosit dan leukosit yang tertanam dalam jaringan fibrin; jaringan granulasi (GT), kaya akan struktur vaskular yang baru terbentuk, sel-sel inflamasi dan eritrosit, matriks provisional (PM), sel mesenkimal padat, serat kolagen dan pembuluh darah, *wooven bone*, yang terdiri dari tulang yang belum matang yang disematkan dalam spongiosa primer; tulang lamellar dan sumsum (LB/BM), yaitu *lamellae* dari tulang dewasa yang mengandung mineral yang didalamnya terkandung osteon sekunder dikelilingi oleh ruang sumsum yang kaya pembuluh darah, adiposit, sel mesenkim, dan sel inflamasi (Larjava, 2012). Jaringan fibrin yang mengandung sel darah merah akan menutup pembuluh darah yang robek dan mengurangi ukuran luka. Organisasi gumpalan dimulai 24 jam hingga 48 jam pasca ekstraksi diikuti dengan pembengkakan dan pelebaran pembuluh darah dalam sisa ligamen periodontal, diikuti migrasi leukosit dan pembentukan lapisan fibrin (Miloro, 2004).

Pada minggu pertama, gumpalan membentuk suatu struktur sementara dimana sel-sel akan bermigrasi. Epitel pada tepi luka tumbuh diatas permukaan gumpalan pengorganisasian. Osteoklas akan terakumulasi pada puncak tulang alveolar. Angiogenesis terjadi di sepanjang sisa ligamen periodontal. Pada minggu kedua, gumpalan akan diorganisir melalui fibroplasia dan pembuluh darah baru yang menembus ke pusat gumpalan. Trabekula dari osteoid meluas kedalam gumpalan dari alveolus dan resorpsi osteoklas dari margin kortikal soket alveolar. Di minggu ketiga, soket diisi jaringan granulasi dan kalsifikasi tulang. Permukaan luka telah ter-epitelisasi dengan minimal atau tidak ada jaringan parut. *Remodelling* tulang aktif oleh pengendapan dan resorpsi berlanjut beberapa minggu.

Bukti radiografi pembentukan tulang tidak tampak pada minggu ke-enam sampai ke-delapan setelah pencabutan gigi. Karena proses *remodelling* sedang berlangsung, produk penyembuhan akhir setelah ekstraksi tidak dapat dilihat pada radiografi setelah 4 sampai 6 bulan (Miloro, 2004).

2.4 Angiogenesis

2.4.1 Definisi

Angiogenesis adalah pertumbuhan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang telah ada (Adair, 2011). Proses pembentukan pembuluh darah dimulai pada hari ke-3 hingga hari ke-7 setelah terjadi luka (Gurtner *et al*., 2007). Angiogenesis merupakan suatu proses fisiologis yang mendasar mengenai respon jaringan terhadap cedera. Ketika sel endotel terpapar rangsangan fisiologis atau patologis, dengan cepat akan memasuki siklus sel, dimana laju pertumbuhannya mendekati populasi sel sumsum tulang belakang dan melebihi kapasitas replikatif beberapa sel tumor. Angiogenesis adalah ciri khas penyembuhan luka. Pembuluh darah baru akan tumbuh di lingkungan yang kaya protein dan sel. Angiogenesis diketahui sebagai ciri peradangan dan perbaikan luka selama bertahun-tahun (Larjava, 2012).

2.4.2 Morfologi

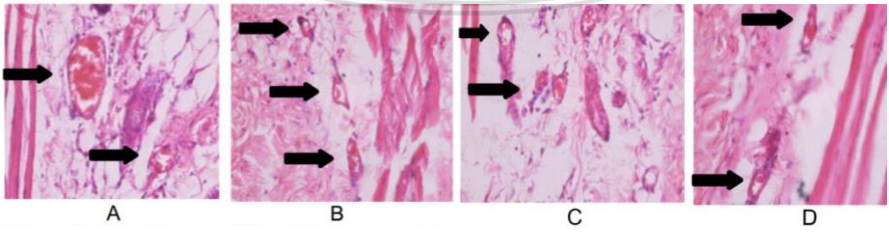
Sel endotel adalah sel yang terdiri dari lapisan paling dalam dari semua pembuluh darah (Larjava, 2012). Dinding Pembuluh darah mengandung 3 komponen dasar yaitu endotelium squamosa simpleks, otot polos, dan jaringan ikat dengan elemen elastis selain kolagen. Jumlah dan pengaturan jaringan di pembuluh darah dipengaruhi oleh faktor mekanis, terutama tekanan darah, dan faktor

metabolik yang mencerminkan kebutuhan lokal jaringan. Endotelium adalah epitel khusus yang bertindak sebagai penghalang semipermeabel antara dua kompartemen internal, yaitu plasma darah dan cairan jaringan interstisial. Endotel memediasi dan memantau pertukaran molekul kecil dalam dua arah serta membatasi pengangkutan makromolekul (Mescher, 2012).

Meski secara morfologis serupa, sel endotel pada pembuluh darah yang berbeda memiliki sifat fungsional yang berbeda. Sel endotel pada arteri mengandung vesikel yang sangat kecil dan memanjang, disebut *Weibel-Palade* yang terlibat dalam pembekuan darah (Mescher, 2012).

Faktor pertumbuhan seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) membantu mempertahankan pembuluh darah, mengatur pembentukan sistem vaskular dari mesenkim embrionik (vaskulogenesis) dan meningkatkan pertumbuhan kapiler dari pembuluh darah yang ada (angiogenesis) pada kondisi normal dan patologis (Mescher, 2012).

Gambar 6. Histologi pembuluh darah baru dengan pengecatan HE



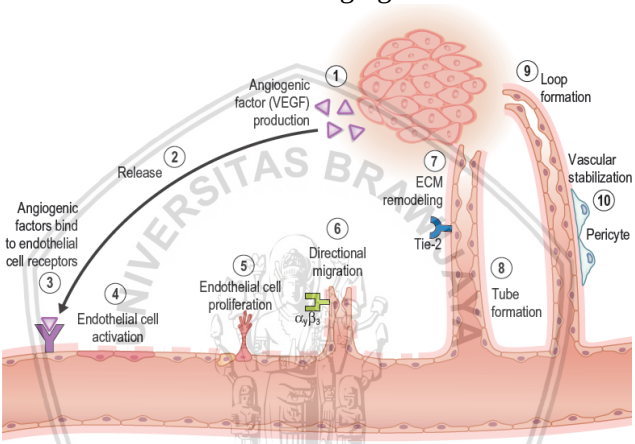
Sumber: Nugroho dkk ., 2016

2.4.3 Angiogenesis dalam Penyembuhan Luka

Luka dapat ditutup oleh difusi oksigen dari pembuluh darah utuh yang berdekatan. Dalam keadaan iskemia, penutupan luka

sangat bergantung pada vaskularisasi. Vaskularisasi tersebut dapat dicapai dengan angiogenesis atau vaskulogenesis. Angiogenesis mewakili pertumbuhan kapiler dari pembuluh darah yang ada di tepi jaringan luka. Sedangkan vaskulogenesis bergantung pada pembentukan pembuluh darah baru dengan mobilisasi sel endotel (Gurtner *et al.*, 2007).

Gambar 7.Angiogenesis



Sumber: Gurtner, *et al.*, 2007

Vaskularisasi pada luka diatur oleh semua fase dalam penyembuhan luka, yaitu: hemostasis, inflamasi, pembentukan jaringan, serta remodelling jaringan. Pada fase hemostatik tersedia tempat istirahat bagi sel darah untuk kembali ke jaringan. Saat sel ini mencapai tempat, lingkungan ECM akan memodifikasi fungsi sel menuju penyembuhan yang berhasil. Trombosit dalam gumpalan berfungsi sebagai sumber *growth factor* dan sitokin yang merekrut beberapa jenis sel, termasuksel endotel, menuju ke lokasi luka. Selama fase inflamasi, leukosit berfungsi sebagai sumber utama faktor proangiogenik seperti VEGF-A dan IL-8 sebagai dasar untuk

vaskularisasi. Karena neutrofil dikeluarkan dan mengalami kematian sel, jumlah makrofag akan meningkat. TGF-β, TGF-α, bFGF, PDGF, dan VEGF yang berasal dari makrofag berperan penting dalam mendorong angiogenesis luka. Tidak ada bukti yang menunjukkan bahwa terdapat faktor angiogenik tunggal yang efektif dalam mempengaruhi hasil luka secara signifikan (Gurtner *et al.*, 2007).

Isyarat angiogenik diperoleh oleh sinyal lingkungan mikro seperti hipoksia dan diperkuat oleh faktor angiogenik seperti VEGF yang ditunjukkan dan dilepaskan oleh sel-sel di lokasi luka. VEGF pada awalnya diidentifikasi sebagai *endothelial cell-specific growth factor-stimulating angiogenesis* dan *vascularpermeability*. Sel endotel mikrovaskular yang telah aktif merespon dengan proliferasi dan migrasi dari sel ini. Remodelling ECM oleh protease mendorong migrasi sel. Oleh karena itu, molekul ECM dan remodeling ECM memainkan peran penting dalam mengatur angiogenesis. Angiogenesis tidak hanya bergantung pada invasi dan proliferasi sel endotel, tetapi juga membutuhkan pericyte dari vaskular sebagai stabilisasi. Proses ini dikoordinasikan oleh VEGF dan PDGF melalui reseptor kognitif pada sel endotel dan sel otot polos pembuluh darah (Gurtner *et al.*, 2007).

2.5 Pencabutan Gigi

2.5.1 Definisi

Pencabutan gigi termasuk dalam tidakan bedah minor yang melibatkan jaringan keras dan jaringan lunak di rongga mulut, yang mana terdapat suatu proses untuk mengeluarkan gigi dari tulang alveolus dengan keadaan gigi tersebut tidak bisa dilakukan perawatan kembali (Pedersen, 2013).

2.5.2 Indikasi

Menurut Balaji (2013) indikasi pencabutan gigi antara lain gigi dengan karies dan kondisi pulpa patologis, gigi non vital, periodontitis, malposisi, impaksi, gigi sulung persistensi, gigi pada garis fraktur, fraktur akar, keperluan ortodontik, pertimbangan prostetik, sebelum terapi radiasi tertentu, serta sisa akar.

2.5.3 Kontraindikasi

Kontraindikasi dari pencabutan menurut Balaji (2013) antara lain penyakit diabetes melitus yang tidak terkontrol**,** pasien menderita leukemia, pasien gagal ginjal, pasien mengalami sirosis hati**,** penyakit jantung**,** diabetes mellitus**,** hipertensi**,** terapi steroid**,** hamil**,** kelainan darah**,** perawatan dengan antikoagulan**,** *toxic goiter***,** *jaundice***,** demam yang parah**,** serta pasien nefritis.

2.5.4 Komplikasi

Tindakan pencabutan gigi seringkali menimbulkan komplikasi setelah pencabutan. Komplikasi yang ditimbulkan antara lain *haemorhage, dry socket,* osteomielitis, pembengkakan, nyeri, *echymosis*, squestra, trismus, anastesi yang berkepanjangan, aktinomikosis, fistula, dan infeksi (Wray et al., 2012).

2.6 Tikus Putih

2.6.1 Taksonomi

Gambar 8. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Sumber: Kusumawati, 2004

Klasifikasi tikus putih *(Rattus Norvegicus)* menurut Kusumawati (2004):

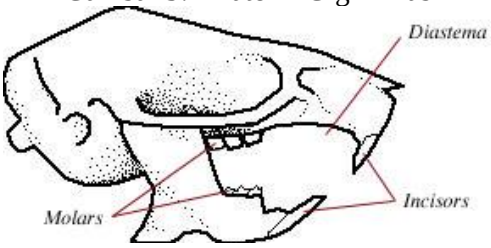
Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Class	: Mammalia
Order	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Rattus
Species	: *Rattus Norvegicus*

2.6.2 Deskripsi

Tikus putih (*Rattus Norvegicus)* merupakan tikus yang sering digunakan sebagai hewan coba di laboratorium. Sifat yang dimiliki oleh tikus ini memeiliki perkembangbiakan cepat, ukuran lebih besar dari mencit, dan dalam jumlah banyak dapat dpelihara dengan mudah. Selain itu terdapat ciri fisik dari tikus ini yaitu albino, ekor lebih panjang dibandingkan dengan badannya, memiliki kepala yang kecil, tempramen baik, dan kemampuan laktasi yang baik (Akbar, 2010).

2.6.3 Anatomi Gigi Tikus Putih

Gambar 9. Anatomi Gigi Tikus



Sumber: Marcin, 2000

Tikus memiliki 2 jenis gigi, yaitu insisivus dan molar. Gigi insisivus berjumlah 4, yaitu 2 pada rahang atas dan 2 pada rahang bawah. Sedangkan gigi molar berjumlah 12, setiap sisi terdiri dari gigi 3 molar. Gigi insisivus tikus bersifat *open-rooted* atau mengalami pertumbuhan terus menerus. Sehingga, untuk mencegah tumbuhnya gigi hingga menembus tengkorak, tikus akan mengasah dengan mengerikiti benda keras (Hanson, 2014).

Tikus hanya memiliki satu set gigi selama hidupnya, sehingga ia bersifat monophyodont. Tikus tidak memiliki gigi caninus dan premolar, sehingga gigi insisivus dan molar terdapat ruang atau diastema. Rumus untuk gigi tikus adala I 1-1, C 0-0, P 0-0, M 3-3, sehingga setiap rahang berjumlah 8 gigi dan total gigi pada rahang atas dan bawah yaitu 16 gigi (Hanson, 2014).

2.7 Ekstrak

2.7.1 Definisi

Ekstrak merupakan sediaan dalam wujud kental yang diperoleh dari senyawa aktif yang diekstraksi baik dari simplisla nabati ataupun simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian pelarut diuapkan seluruhnya atau hampir seluruhnya dan massa atau serbuk yang tersisa diolah sedemikian hingga mencapai baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000).

2.7.2 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan atau pengocokan pada temperatur ruangan (kamar) (Depkes RI, 2000). Maserasi adalah metode ekstraksi dengan sistem tanpa pemanasan atau disebut ekstraksi dingin, sehingga pelarut dan sampel tidak mengalami

pemanasan sama sekali. Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas ataupun tahan panas (Hamdani, 2014). Maserasi adalah metode pembuatan filtrat yang sederhana, dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan pelarut (Afifah,2012). Lama proses maserasi yaitu 4-10 hari (Setyaningsih, 2006).

Kelebihan metode maserasi adalah prosesdur dan pengerjaannya sederhana, paling sering digunakan, serta peralatan yang digunakan mudah ditemukan (Agoes, 2007). Sedangkan kelemahan metode maserasi adalah waktu yang dibutuhkan lama dan penyarian kurang sempurna (Depkes RI, 2000).

2.7.3 Pelarut

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak yaitu air, etanol atau campuran air dengan etanol (BPOM, 2004).

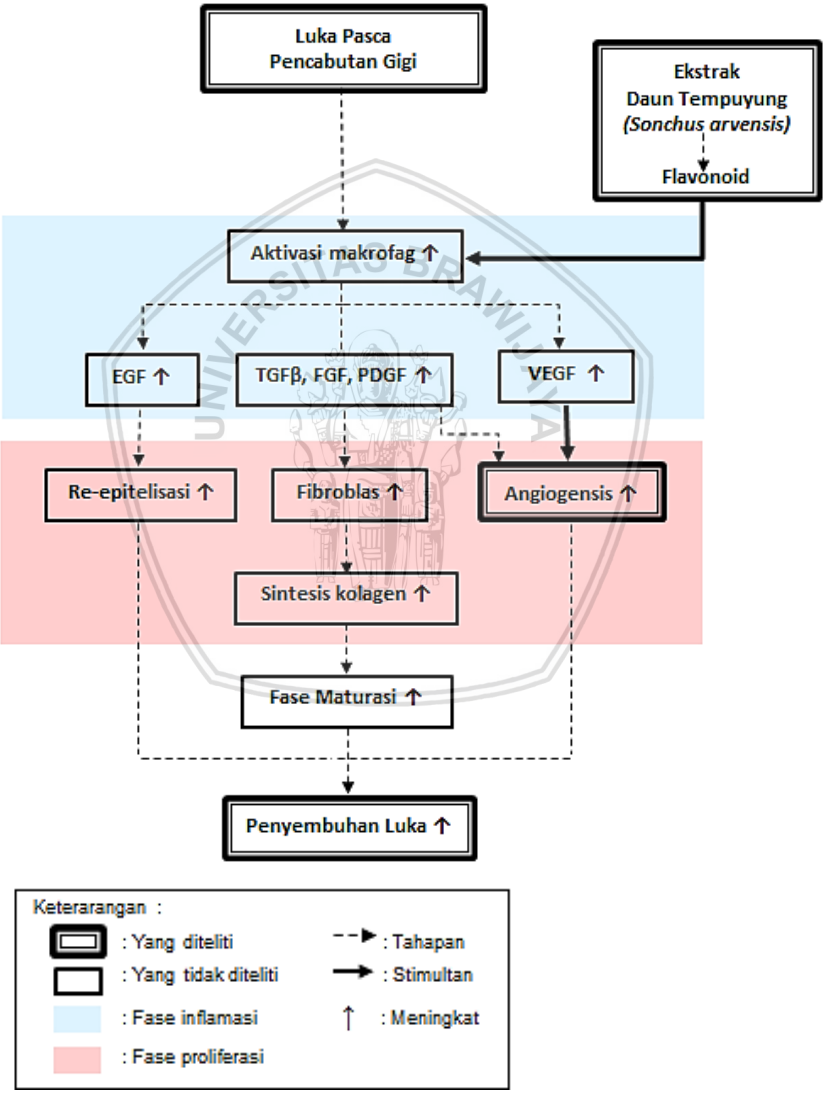
Etanol adalah pelarut yang efektif karena sifatnya netral, tidak beracun, memiliki daya absorbsi yang baik, kuman akan sulit tumbuh dalam etanol yang konsentrasinya lebih dari 20%, dapat dicampurkan dengan air dengan perbandingan yang bebas, serta hanya perlu sedikit panas untuk pemekatan. Kandungan fitokimia yang dapat larut dalam etanol antara lain flavonoid, alkaloida basa, anrakinon, klorofil, dammar, dan steroid. Sedangkan lemak, saponin, dan tanin hanya sedikit yang dapat larut dalam etanol. Disamping keunggulan tersebut, pelarut etanol juga memiliki kelemahan yaitu harganya yang mahal. Etanol merupakan pelarut terbaik untuk ekstraksi simplisia yang akan dijadikan obat herbal (BPOM, 2004). Selain etanol, air juga dapat dipertimbangkan sebagai pelarut karena sifatnya stabil, tidak beracun, dan tidak mudah menguap (Sa'adah

dan Nurhasnawati, 2015). Etanol memiliki titik didih yang rendah yaitu 70ºC sehingga suhu ekstraksi yang digunakan dapat melarutkan komponen fitokimia pada bahan baku (Kealey *et al*., 2004).

BAB III
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Gambar 10. Kerangka Konsep



Proses pencabutan gigi akan menyebabkan daerah luka pada soket gigi. Pada fase inflamasi akan terjadi respon seluler berupa peradangan ditandai dengan infiltrasi sel radang yaitu makrofag menuju luka. Makrofag akan melepas sitokin untuk mengaktifkan *growth factor*. *Growth factor* akan menghasilkan FGF *(Fibroblas Growth Factor),* TGF-β *(Transforming Growth Factor),* PDGF *(Platelet Derived Growth Factor),* EGF *(Epithelial Growth Factor)* dan VEGF *(Vascular Endothelial Growth Factor).* Faktor pertumbuhan tersebut memungkinkan terjadinya penyembuhan luka dengan adanya proliferasi sel. Pada angiogenesis, *growth factor* FGF, TGF-β, dan PDGF akan menstimulasi angiogenesis secara tidak langsung. Sedangkan VEGF merupakan faktor utama yang berperan sebagai stimulus dalam angiogenesis. Beberapa growth factor tersebut akan membantu terjadinya proses proliferasi yang kemudian dilanjutkan dengan fase maturasi.

Daun tempuyung *(Sonchus arvensis)* memiliki beberapa kandungan diantaranya flavonoid. Flavonoid dapat meningkatkan aktivitas IL-2 serta proliferasi limfosit. Hal ini akan mempengaruhi sel CD4+ dan menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Sel Th1 akan mempengaruhi SMAF (*Specific Makrofag Activating Factor*) yaitu molekul IFNγ yang mengaktifkan makrofag. Aktivitas makrofag dapat meningkatkan proses proliferasi sel fibroblas yang akan menstimulasi serabut kolagen, re-epitelisasi, dan angiogenesis. Dalam terjadinya angiogenesis, flavonoid juga bekerja untuk meningkatkan aktivitas endotelium mikrovaskular dan berperan penting dalam meningkatkan resistensi pembuluh darah kapiler.

Sehingga dengan terjadinya peningkatan pada proses proliferasi, penyembuhan luka akan semakin cepat.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) berpengaruh terhadap proses angiogenesis pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus).*

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

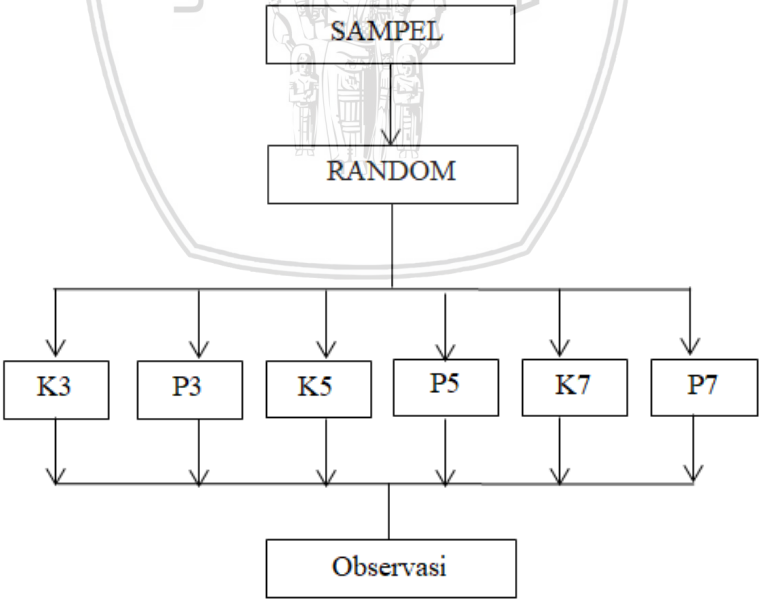
BAB IV
METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian dikerjakan di laboratorium secara *In Vivo* menggunakan metode *true eksperimental* menggunan rancangan percobaan *Randomized Group Post Test Only Design*, yang merupakan desain eksperimen paling simpel dan dibagi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan dan kelompok yang diberi perlakuan. Pengumpulan data diambil setelah kelompok eksperimen diberi perlakuan.

Penelitian ini dibagi menjadi 2 kelompok dengan 3 *time series*. Desain Penelitian adalah sebagai berikut :

Gambar 11. Rancangan Penelitian



Keterangan :

K3: Kelompok kontrol 3 tanpa diberi gel ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) sampai hari ke-3 pasca pencabutan dan kemudian dilakukan dekaputasi.

P3: Kelompok perlakuan 3 diberi gel ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) 100% yang diaplikasikan sekali sehari selama 3 hari pasca pencabutan dan kemudian dilakukan dekaputasi.

K5: Kelompok kontrol 5 tanpa diberi gel ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) sampai hari ke-5 pasca pencabutan dan kemudian dilakukan dekaputasi.

P5: Kelompok perlakuan 5 diberi gel ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) 100% yang diaplikasikan sekali sehari selama 5 hari pasca pencabutan dan kemudian dilakukan dekaputasi.

K7: Kelompok kontrol 7 tanpa diberi gel ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) sampai hari ke-7 pasca pencabutan dan kemudian dilakukan dekaputasi.

P7: Kelompok perlakuan 7 diberi gel ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*) 100% yang diaplikasikan sekali sehari selama 7 hari pasca pencabutan dan kemudian dilakukan dekaputasi.

4.2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih *(Rattus Norvegicus)* yang telah dipelihara di Parasitologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pemilihan sampel didasarkan pada kriteria inklusi dan eksklusi.

Kriteria inklusi antara lain:

1. Tikus putih galur *Wistar*
2. Jenis kelamin jantan
3. Sehat
4. Usia 10 minggu
5. Berat badan 180-200 gram.

Sedangkan kriteria eksklusi dalam pemilihan sampel yaitu tikus yang mati selama penelitian berlangsung.

Dalam penelitian ini terdapat 6 kelompok sampel. Untuk mengetahui jumlah yang dibutuhkan dihitung menggunakan perhitungan rumus Federer yaitu: $(n-1)\ (t-1) \geq 15$.

Keterangan:

n: jumlah tikus dalam 1 perlakuan

t: jumlah kelompok sampel

Sehingga perhitungan menjadi:

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

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

$(n-1) \geq 3$

$n \geq 4$

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, maka tikus yang digunakan setiap kelompok percobaan yaitu 4 ekor dan ditambah dengan 1 tikus cadangan, sehingga total tikus yang digunakan adalah 30 ekor.

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1. Variabel Tergantung

Angiogenesis

4.3.2. Variabel Bebas

Ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis L.*)

4.3.3. Variabel Kontrol

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

4.4. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Materia Medika Kota Batu, serta Laboratorium Parasitologi Klinik dan Patologi

Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan berlangsung selama kurang lebih 2 bulan.

4.5. Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1. Perawatan dan Pembuatan Makanan Tikus Putih

Alat dan bahan untuk merawat tikus sebagai hewan coba antara lain bak plastik sebagai kandang sejumlah tikus yaitu 30 buah berukuran 45 cm x 35.5 cm x 14.5 cm yang ditutup anyaman kawat. Selain itu diperlukan botol air, sekam, neraca Sartorius (untuk menimbang berat badan tikus), serta pakan tikus.

4.5.2. Pembuatan Ekstrak Daun Tempuyung

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak yaitu toples bertutup, corong gelas, timbangan analitik, gelas ukur, botol, *waterbath*, erlenmeyer, *rotary evaporator*, *beaker glass*, alkoholmeter, dan *digital shaker*. Bahan yang dibutuhkan yaitu daun tempuyung 250 gram, penyaring, dan alkohol 96%.

4.5.3. Pencabutan Gigi Tikus Putih

Alat yang digunakan dalam pencabutan gigi tikus adalah lecron, pinset, *needle holder*, spuit, dan *petridisk*. Bahan yang dibutuhkan yaitu masker, handscoon, kassa, kapas, alkohol 70%, aquades steril dan ketamin 0,2 ml.

4.5.4. Pemberian Ekstrak pada Tikus Putih

Alat yang digunakan untuk pemberian ekstrak daun Tempuyung *(sonchus arvensis)* adalah sonde gastrik dan syringe. Bahan yang digunakan antara lain masker, handscoon, serta ekstrak kental daun Tempuyung dan air.

4.5.5. Perawatan Tikus Putih Pasca Pencabutan

Metamizole 500 mg/ml sebagai analgesik dan pakan lunak.

4.5.6. Dekaputasi Tikus Putih

Alat yang dibutuhkan antara lain gunting bedah, scalpel no. 11, jarum pantul, pinset, strereform, serta kapas. Sedangkan bahan yang dibutuhkan antara lain Buffer Neutral Formalin (BNF) 10% sebanyak 200 ml, alkohol, larutan dekalsifikasi EDTA, serta tabung organ sebanyak 30 buah.

4.5.7. Pembuatan Sediaan Histologi

Alat yang dibutuhkan untuk membuat sediaan antara lain scalpel, object glass, cover/deck glass, pinset, telenan, saringan, *tissue cassette, , water bath 46*^{o} C, mesin mikrotom, *automatic tissue tek processor*, mesin bloking, mesin vakum, kotak paraffin, entellan, rak khusus pewarnaan serta oven. Adapun bahan yang digunakan antara lain, alkohol 1%, alkohol 70%, 80%, 96%, alkohol absolut, air mengalir, *amonia lithium carbonate*, xylol, parafin cair, meyer egg albumin, serta larutan hematoksilin dan eosin.

4.5.8. Persiapan Analisis Histologi

Alat yang dibutuhkan untuk melakukan analisis histologi antara lain *object glass, cover glass,* wadah pembuangan zat warna, mikroskop digital dengan kamera, dan *image analizer*. Sedangkan bahan yang digunakan adalah preparat histologi.

4.6. Definisi Operasional

4.6.1. Ekstrak Daun Tempuyung

Ekstrak daun tempuyung adalah eskrak yang dibuat menggunakan teknik maserasi dengan pelarut alkohol 96% dan sehingga diperoleh hasil sediaan kental dengan konsentrasi 100% yang akan diencerkan menggunkan air dan diberikan per oral pada tikus. Ekstrak diperoleh dari daun tempuyung yang didapatkan dari

perkebunan Materia Medika dan diidentifikasi di Laboratorium Materia Medika.

4.6.2. Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi merupakan tindakan untuk mengeluarkan gigi dari soket

yaitu pada tulang alveolar dengan elemen gigi insisivus kiri rahang bawah menggunakan alat *needle holder* modifikasi dan *lecron*.

4.6.3. Soket Gigi

Soket gigi adalah lubang pada tulang alveolar yang merupakan tempat melekatnya akar gigi dan terbentuk setelah pencabutan gigi dengan elemen gigi insisivus kiri rahang bawah pada tikus putih.

4.6.4. Angiogenesis

Angiogenesis adalah pembuluh darah yang muncul setelah dilakukan pencabutan gigi insisivus kiri rahang bawah pada tikus putih yang dapat dilihat secara histologi pada preparat yang telah diberi pewarna *Haemetoksilin Eosin* dengan menggunakan mikoskop digital dan dilihat dari lima lapang pandang dengan perbesaran 40 kali menggunakan software *OlyVIA*. Angiogenesis ditandai dengan gambaran berbentuk bulat atau oval dengan tepi berwarna merah yang terdiri dari lapisan endotel dikelilingi oleh membran basal dengan serat otot polos dan sering kali tampak adanya eritrosit pada lumen pembuluh darah.

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. Perawatan Tikus Putih

Prosedur perawatan hewan coba menurut Sihombing (2010);Widyastomo (2013) antara lain:

1. Tikus diseleksi sesuai kriteria
2. Tikus diadaptasikan selama 7 hari. Masing-masing tikus diletakkan diletakkan dalam wadah atau bak berukuran 45 cm x 35.5 cm x 14.5 cm yang ditutup kawat kassa dan dasar sekam yang diganti setiap pekan.
3. Kebutuhan makan dan air harus terpenuhi.
4. Berat badan tikus ditimbang dan dikelompokkan secara acak menjadi 6 kelompok (masing-masing kelompok terdapat 5 tikus). Berat badan tikus ditimbang kembali sebelum pencabutan (berat badan yang diperlukan sekitar 180-200 gram)

4.7.2. Pembuatan Sediaan Ekstrak Daun Tempuyung

Daun tempuyung didapatkan dari perkebunan Materia Medika Kota Batu. Ekstrak kental yang didapatkan dari daun tempuyung tidak kurang dari 7,5%. Daun yang dibutuhkan untuk 30 ekor tikus yaitu sebanyak 250 gram, sehingga diperoleh ekstrak kental daun tempuyung 18,75 gram. Sebagai antisipasi, ekstrak kental dibuat dua kali jumlah kebutuhan penelitian, sehingga total ekstrak yang diperoleh yaitu 37 gram. Pembuatan ekstrak kental melalui prosedur maserasi, yaitu:

1. Daun tempuyung sebanyak 250 gram dicuci dengan air mengalir, dipotong-potong, lalu dikeringkan.
2. Pengeringan dilanjutkan menggunakan oven pada suhu 45ºC, dan dihaluskan menjadi serbuk.
3. Pembasahan serbuk dengan pelarut alkohol 96% sebanyak 500ml.

4. Serbuk yang telah dibasahi pelarut dimasukkan ke dalam toples dan diratakan. Ditambahkan pelarut alkohol 96% hingga terendam, yaitu sebanyak 1,5 liter. Toples ditutup rapat selama 24 jam dan diletakkan diatas *digital shaker* dengan kecepatan 50 rpm.
5. Ekstrak cair disaring menggunakan kain dan ditampung pada erlenmeyer.
6. Ampas dimasukkan kembali ke dalam toples dan pelarut ditambahkan sampai terendam, alkohol 96% yang dibutuhkan adalah 1 liter.
7. Biarkan selama 24 jam pada *shaker* digital dengan kecepatan 50 rpm.
8. Remaserasi hingga filtrat atau ekstrak lebih jernih, menggunakan pelarut alkohol 96% sebanyak 1 liter.
9. Hasil ekstrak pertama hingga terakhir dicampur dan diuapkan (evaporasi) menggunakan *rotary evaporator* selama 5 jam.
10. Ekstrak yang dihasilkan diuapkan diatas *water bath* selama 2 jam.

4.7.3. Pencabutan Gigi Tikus Putih

Prosedur pencabutan gigi tikus yaitu:

1. Tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari.
2. Bagian tikus yang akan dianstesi diulasi alkohol 70%.
3. Injeksi ketamin dengan dosis 1.000 mg/10 ml 0,2 ml secara intramuskular. Aspirasi perlu dilakukan setelah bagian jarum dimasukkan.

4. Jika posisi jarum sudah benar maka anastesi dapat disuntikkan. 3 menit kemudian, tikus akan tertidur dan sadar kembali setalah 1 jam.
5. Pada saat tikus tertidur, dapat dilakukan pencabutan dengan memisahkan akar gigi dari gingiva menggunakan lecron.
6. Gigi diekstraksi menggunakan *needle holder* modifikasi.
7. Soket diirigasi dengan aquades steril untuk membersihkan sisa fragmen gigi.
8. Kontrol pendarahan menggunakan kasa steril.

4.7.4. Perawatan Tikus Putih Pasca Pencabutan

Perawatan hewan coba pasca pencabutan dilakukan dengan pemberian pakan lunak dan analgesik metamizole 500mg/ml secara intramuskular dengan dosis 500mg/ml 0.3 ml sebanyak 1 kali.

4.7.5. Pemberian Ekstrak Daun Tempuyung

Ekstrak kental hasil dari maserasi diberikan satu kali sehari secara per oral melalui *gastric tube* dengan dosis 100mg/kgBB (Sukmayadi, *et al.*, 2014). Berdasarkan dosis tersebut, maka dosis ekstrak yang diberikan pada satu ekor tikus yaitu sebanyak sebanyak 18-20 mg yang di larutkan dalam 2 ml air. Hal ini telah disesuaikan dengan kapasitas maksimal lambung tikus dengan berat badan 200 gram yaitu 5 ml.

4.7.6. Dekaputasi Tikus Putih

Dekaputasi tikus putih dilakukan pada hari ke-3, 5, dan 7 setelah dilakukan pencabutan, dengan prosedur:

1. Tikus dikorbankan dengan dilakukan injeksi ketamin dosis lethal sebanyak 0,9 ml.

2. Rahang bawah dipisahkan dari bagaian kepala dengan scalpel no. 11.
3. Rahang bawah dimasukkan tabung berisi Buffered Neutral Formalin (BNF) 10% untuk fiksasi jaringan minimal selama 7 jam sebelum proses selanjutnya.
4. Sisa organ tikus yang sudah tidak digunakan dikuburkan dalam tanah dengan bantuan tenaga ahli.
5. Dekalsifikasi jaringan keras (tulang rahang dan gigi) menggunakan larutan EDTA selama 15-20 hari.

4.7.7. Pembuatan Sediaan Histologi

a) Proses Pemotongan Jaringan Berupa Makros

1. Jaringan yang terdapat soket dipotong 2-3 mm,
2. Potongan dimasukkan ke dalam *tissue cassette* dan diberi kode.
3. Jaringan kemudian diproses dengan alat *Automatic Tissue Tek Processor* atau dengan cara manual. Standar yang digunakan pada Laboratorium Patologi Anatomi FKUB yaitu menggunakan *Automatic Tissue Tek Processor* selama 90 menit.
4. Jika alarm berbunyi maka prosedur pemotongan jaringan selesai.

b) Proses Pengeblokan dan Pemotongan Jaringan

1. Jaringan diambil dari *Automatic Tissue Tek Processor.*
2. Jaringan diblok menggunakan paraffin sesuai kode.
3. Jaringan dipotong dengan *rotary microtome* ketebalan 3-5 mikron.

c) Proses Deparafinisasi

1. Setelah disayat dengan ketebalan 3-5 mikron, sayatan dimasukkan ke dalam oven selama 30 menit dengan suhu panas 70-80°C.
2. Masukkan ke dalam 2 tabung larutan xylol masing-masing 20 menit.
3. Hidrasi dengan cara dimasukkan ke dalam 4 tabung alkohol, masing-masing tempat 3 menit.
4. Sayatan dimasukkan pada air mengalir selama 15 menit.

d) Proses Pewarnaan

1. Pewarnaan sayatan menggunakan *Harris Haematoksilin* selama 10-15 menit.
2. Membilas dengan air mengalir selama 15 menit.
3. Sayatan dimasukkan kedalam alkohol 1% 2-5 celup.
4. Apabila warna kurang biru, sayatan dicelupkan ke dalam *amonia lithium carbonat* 3-5 celup.
5. Merendam sayatan pada *eosin* selama 10-15 menit.

e) Alkohol Bertingkat

Merendam sayatan dalam:

1. Alkohol 70% selama 3 menit
2. Alkohol 80% selama 3 menit
3. Alkohol 96 % selama 3 menit
4. Alkohol absolut selama 3 menit

f) Penjernihan (Clearing)

Clearing menggunakan xylol sebanyak 2 kali.

g) Mounting dengan Entelan dan Deck Glass

Object glass ditutup menggunakan *deck glass* dan dibiarkan

slide kering pada suhu ruangan. Setelah slide kering, maka siap untuk diamati.

4.7.8. Penghitungan Angiogenesis

Sediaan dibagi menjadi lima lapang pandang secara random. Pembuluh darah dilihat menggunakan mikroskop digital dengan perbesaran 40 kali. Kemudian preparat discan dan dilihat menggunakan komputer dengan softwere *OlyVIA (Olympus Viewer for Imaging Application)*. Angiogenesis ditandai dengan gambaran berbentuk bulat atau oval dengan tepi berwarna merah yang terdiri dari lapisan endotel dikelilingi oleh membran basal dengan serat otot polos dan sering kali tampak adanya eritrosit pada lumen pembuluh darah.

4.8 Analisa Data

Data yang diperoleh berupa jumlah pengukuran angiogenesis yang dianalisa secara statistika. Untuk menguji hipotesis komparatif, berikut adalah langkah yang perlu dilakukan:

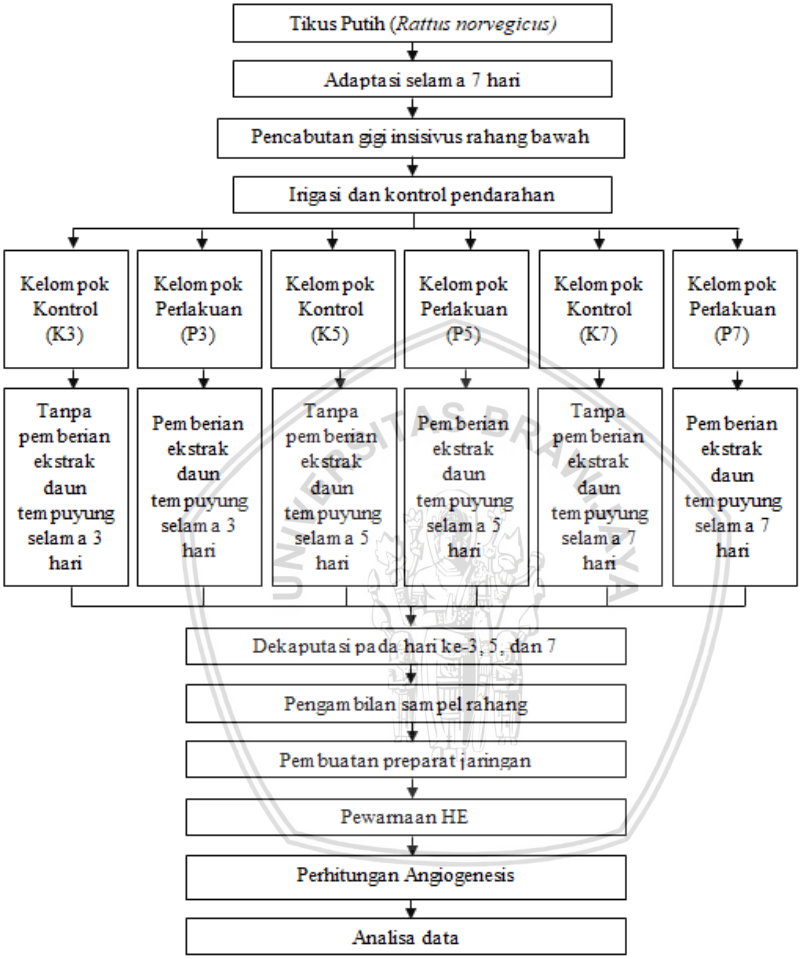
Uji normalitas data untuk mengetahui normal atau tidaknya distribusi sebuah data, menggunakan *Shapiro-Wilk* dengan tingkat signifikansi 0,05 (p = 0,05). Kemudian dilakukan uji homogenitas data menggunakan *lavene's test*. Apabila data homogen, maka rumus yang digunakan adalah *equal variance case.* Sedangkan apabila data tidek homogen, rumus yang digunakan adalah *unequal variance case.*

Jika data berdistribusi normal, maka dilakukan uji parametrik yaitu uji T tidak berpasangan untuk mengetahui kemaknaan perbedaan antar kelompok perlakuan. Hipotesis yang diperoleh yaitu apabila p < 0,05 maka Ho ditolak. Ho pada penelitian ini yaitu tidak

terdapat perbedaan bermakna pada angiogenesis pada sampel yang diberi ekstrak daun tempuyung dengan sampel yang tidak diberi estrak daun tempuyung. Sedangkan apabila data tidak berdistribusi normal, maka digunakan uji non parametrik menggunakan uji *Mann Withney*.

4.9 Alur Penelitian

Gambar 12. Alur Penelitian



repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

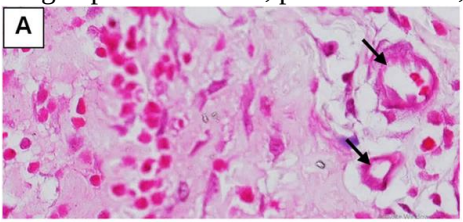
BAB 5
HASIL DAN PEMBAHASAN

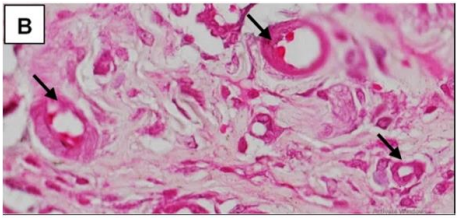
5.1 Hasil Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu untuk mengetahui angiogenesis yang terjadi pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih *(Rattus norvegicus)*. Terdapat 2 kelompok, yaitu kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun tempuyung *(Sonchus arvensis)* dan kelompok kontrol. Masing-masing kelompok tersebut diamati penyembuhan yang terjadi yaitu pada hari ke-3, 5, dan 7 pasca pencabutan. Sampel didapatkan dengan mengambil bagian soket gigi insisif rahang bawah sebelah kiri pada tikus putih yang telah didekaputasi, kemudian dilakukan pembuatan preparat dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* dan diamati menggunakan mikroskop digital dengan perbesaran 40 kali. Angiogenesis ditandai dengan gambaran bulat atau oval dengan tepi berwarna merah dan sering kali tampak adanya eritrosit pada lumen pembuluh darah.

Pada gambar 13, dapat dilihat adanya perbedaan angiogenesis yang terjadi pada hari ke-3 pasca pencabutan antara kelompok kontrol K3 (gambar A) dan kelompok perlakuan P3 (gambar B). Gambar tersebut menunjukkan angiogenesis pada P3 lebih banyak dibandingkan pada K3.

Gambar 13. Gambaran angiogenesis hari ke-3,
dengan pewarnaan HE, perbesaran 40x,

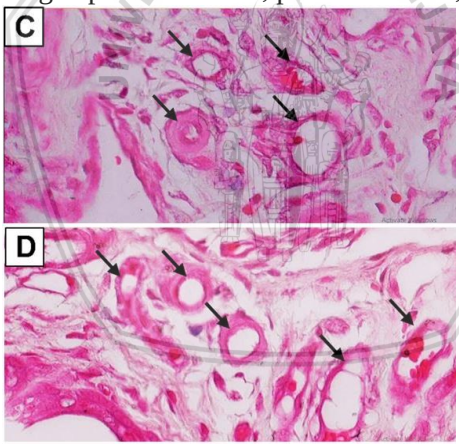




A: kelompok kontrol (K3), B: kelompok perlakuan (P3)

Pada gambar 14, terdapat perbedaan jumlah angiogenesis yang terjadi pada hari ke-5 pasca pencabutan antara kelompok kontrol K5 (gambar C) dan kelompok perlakuan P5 (gambar D). Angiogenesis pada P5 tampak lebih banyak dibandingkan dengan K5, meskipun keduanya meningkat dari hari ke-3.

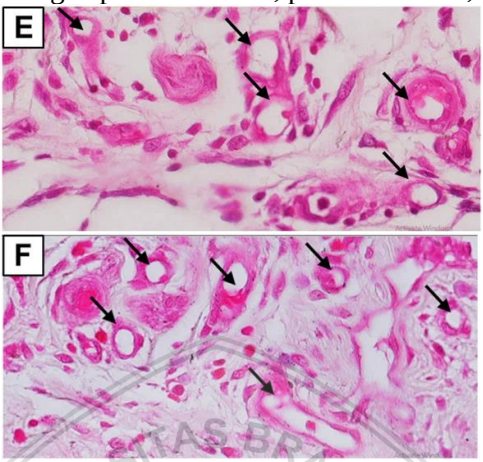
Gambar 14. Gambaran angiogenesis hari ke-5, dengan pewarnaan HE, perbesaran 40x,



C: kelompok kontrol (K5), D: kelompok perlakuan (P5)

Pada gambar 15, terlihat adanya perbedaan jumlah angiogenesis yang terjadi pada hari ke-7 pasca pencabutan antara kelompok kontrol K7 (gambar E) dan kelompok perlakuan P7 (gambar F). Pada hari ke-7, jumalah angiogenesis lebih banyak dibandingkan pada hari ke-3 dan ke-5. Namun, angiogenesis pada K7 masih lebih rendah dibandingkan dengan P7.

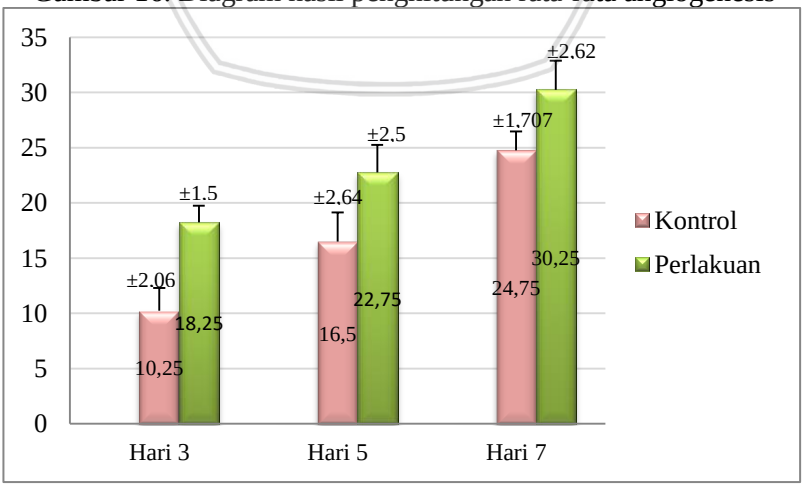
Gambar 15. Gambaran angiogenesis hari ke-7,
dengan pewarnaan HE, perbesaran 40x,



E: kelompok kontrol (K7), F: kelompok perlakuan (P7)

Berdasarkan diagram dibawah ini, rata-rata angiogenesis yang terjadi di hari ke-7 lebih tinggi dibandingkan dengan hari ke-3 dan ke-5. Serta pada kelompok perlakuan secara keseluruhan menunjukkan hasil angiogenesis yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Gambar 16. Diagram hasil penghitungan rata-rata angiogenesis



5.2 Analisa Data

Data penghitungan angiogenesis dianalisis menggunakan uji normalitas terebih dahulu kemudian dilakukan Uji T tidak berpasangan apabila data berdistribusi normal. Setelah itu untuk mengetahui hubungan dua variabel dilakukan uji korelasi *Pearson* dan regresi. Tabel penghitungan statistika penelitian ini terlampir.

5.2.1 Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan menggunakan *Shapiro- Wilk* karena jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50. Apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p>0,05$), maka data berdistribusi normal. Berdasarkan Uji Normalitas, nilai signifikansi yang didapatkan menggunakan uji *Shapiro- Wilk* yaitu 0,915 sehingga data dinyatakan berdistribusi normal.

5.2.2 Uji-T Tidak Berpasangan

Berdasarkan hasil Uji T tidak berpasangan, didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol K3 dengan K5 dan K7, serta pada K5 dengan K7. Selain itu, juga didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan P3 dengan P5 dan P7, serta P5 dengan P7. Perbandingan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang signifikan yaitu antara K3 dengan P3, serta P5 dan P7. Kelompok K5 menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan P5 dan P7, namun tidak signifikan bila dbandingkan dengan P3. Pada kelompok K7, perbedaan yang signifikan didapatkan apabila dibandingkan dengan P3 dan P7, namun tidak signifikan apabila dibandingkan dengan P5.

5.2.3 Uji Korelasi *Pearson* dan Uji Regresi

Uji korelasi *Pearson* dilakukan untuk mengetahui ada atau

tidaknya korelasi perlakuan yang diberikan pada hewan coba. Nilai koefisien korelasi yaitu sebesar 0,920 dengan arah korelasi positif. Nilai signifikansi yang diperoleh yaitu p=0,000 (p < 0,05), sehingga dapat dinyatakan bahwa terdapat korelasi yang signifikan antara pemberian ekstrak daun tempuyung *(Sonchus arvensis)* terhadap angiogenesis pasca pencabutan gigi tikus. Selanjutnya dilakukan uji regresi untuk mengetahui seberapa besar korelasi yang terjadi antara variabel bebas dan variebel terikat. Besarnya korelasi yaitu 0,920. Sedangkan koefisien determinasi *R square* yaitu sebesar 0,846.

5.3 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan tikus putih *(Rattus norvegicus)* sebagai hewan coba yang dilakukan prosedur pencabutan pada gigi insisif kanan rahang bawah yang kemudian diberi ekstrak daun tempuyung *(Sonchus arvensis)*. Ekstrak daun tempuyung didapatkan melalui metode maserasi karena ekstrak dibuat tanpa dilakukan pemanasan, sehingga tidak merusak kandungan fitokimia di dalamnya (Hamdani, 2014). Adapun pelarut dalam pembuatan ekstrak yaitu alkohol 96% yang efektif untuk mendapatkan kandungan flavonoid pada daun tempuyung karena keduanya bersifat polar. Selain itu, alkohol juga memiliki toksisitas yang rendah dan harga yang relatif murah (Prajnalaga dan Susilowati, 2014). Hasil ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak kental sehingga dalam pemberian per oral dilakukan pengenceran terlebih dahulu menggunakan aquades sebanyak 2 ml.

Hasil pengamatan secara mikroskopis didapatkan bahwa angiogenesis sudah terlihat pada penyembuhan hari ke-3 hingga hari ke-7 pasca pencabutan dengan jumlah yang semakin meningkat

setiap harinya. Hal ini membuktikan teori bahwa angiogenesis tampak pertama kali pada area luka mulai dari hari ke-3 hingga ke-5 setelah terjadinya luka (William dan Vincent, 2003).

Hasil analisis uji T tidak berpasangan, didapatkan nilai signifikan yang menunjukkan peningkatan angiogenesis dari hari ke-3, 5 dan 7 pada masing-masing kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Terjadi perbedaan angiogenesis yang bermakna pada perbandingan antara kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun tempuyung *(Sonchus arvensis)* dengan kelompok kontrol pada hari yang sama yaitu K3 dengan P3, K5 dengan P5, serta K7 dengan P7. Angiogenesis pada kelompok P3 dengan rata-rata 18,25 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K3 dengan rata-rata 10,25. Pada kelompok P5, rata-rata angiogenesis sebanyak 22,75 menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan K5 dengan rata-rata 16,5. Sedangkan pada kelompok P7 menunjukkan rata-rata angiogenesis yang paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya yaitu sebanyak 30,25.

Uji-T tidak berpasangan pada kelompok P3 dengan K5 serta pada P5 dengan K7 menunjukkan bahwa data yang diperoleh tidak signifikan. Hal ini terjadi karena perbedaan angiogenesis yang tidak bermakna, ditunjukkan oleh angiogenesis yang hampir sama pada P3 dengan K5 serta pada P5 dengan K7. Dengan demikian, menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun tempuyung *(Sonchus arvensis)* dapat meningkatkan angiogenesis.

Untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat, maka dilakukan uji korelasi *Pearson*. Berdasarkan hasil analisa, dapat diketahui nilai korelasi pada penelitian ini sebesar

0,920 yang berarti korelasi keduanya positif (kuat). Nilai signifikansi yang didapatkan yaitu sebesar 0,000. Karena signifikansi <0,05, maka hipotesis pada penelitian ini dapat diterima. Untuk mengetahui seberapa besar hubungan antara angiogenesis dengan pemberian ekstrak daun tempuyung, maka dilakukan metode analisis data dengan uji regresi linear sederhana. Didapatkan *R square* sebesar 0,846 yang berarti pemberian ekstrak daun tempuyung berpengaruh sebesar 84,6% terhadap terjadinya angiogenesis. Artinya, 15,4% peningkatan angiogenesis juga dipengaruhi oleh faktor lain seperti tingkat stress dan nutrisi.

Peningkatan angiogenesis mulai hari ke-3 hingga hari ke-7 menunjukkan adanya *self-healing* tanpa disertai faktor penghambat seperti infeksi. Selain itu, membuktikan bahwa proses pembentukan pembuluh darah dimulai pada hari ke-3 hingga hari ke-7 setelah terjadi luka (Gurtner *et al*., 2007). Hasil pengamatan menunjukkan angiogenesis paling banyak adalah pada kelompok hari ke-7 karena sel endotel mengalami puncak proliferasi (Nofikasari dkk., 2016). Angiogenesis dipengaruhi oleh adanya peran *gorwth factor*, diantaranya PDGF, FGF, TGF-β dan VEGF. *Growth factor* tersebut akan menginisiasi dan memediasi terjadinya perkembangan pembuluh darah baru. Menurut William dan Vincent (2003), pada endotelium vaskular yang mengalami luka dapat ditemukan adanya PDGF pada hari ke-1 dan TGF-β pada seminggu pertama. Sedangkan FGF akan mencapai puncaknya pada hari ke-5 dan menurun pada hari ke-7. Selain itu, terdapat VEGF yang dapat ditemukan mulai hari ke-3 dan mencapai puncaknya pada hari ke-7.

Angiogenesis yang terihat pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun tempuyung *(Sonchus arvensis)* lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Hal tersebut dikarenakan pada kelompok kontrol tidak diberi zat yang menstimulasi peningkatan angiogenesis, sehingga penyembuhan luka hanya bergantung pada kemampuan *self healing* (Pongsipulung, 2012). Dengan demikian membuktikan bahwa terdapat kandungan pada daun tempuyung *(Sonchus arvensis)* yang berperan dalam proses angiogenesis.

Kandungan flavonoid yang terdapat dalam daun tempuyung dipercaya memiliki peran dalam proses penyembuhan luka (Hendriani *et al*., 2014). Pernyataan tersebut didukung oleh Fitriyani dkk.,(2011) bahwa flavonoid bekerja pada endotelium mikrovaskular. Berdasarkan teori, daun tempuyung *(Sonchus arvensis)* mengandung flavonoid yang berperan dalam proses angiogenesis dengan meningkatkan IL-2 serta proliferasi limfosit dan akan mempengaruhi sel CD4+ sehingga sel Th1 teraktivasi. Kemudian terjadi aktivasi makrofag dan peningkatan *growth factor* untuk angiogenesis, fibroplasia, dan re-epitelisasi (Paul, 2003). Hal ini juga didukung oleh pernyataan Jeon *et al.* (2007) bahwa kandungan flavonoid akan merangsang HIF-1 (*Hipoxia Inducible Factor-1*) yang akan menginduksi VEGF sehingga mempercepat angiogenesis. Dengan demikian, pembentukan pembuluh darah pada tikus yang diberi ekstrak daun tempuyung akan lebih cepat dibandingkan tikus yang tidak diberi ekstrak daun tempuyung dan penyembuhan luka menjadi lebih efektif.

Berdasarkan analisis hasil penelitian diatas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) berpengaruh

terhadap angiogenesis pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus)*, sehingga hipotesis peneitian dapat diterima.

BAB VI
PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) terhadap angiogenesis pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*), maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) memiiki pengaruh terhadap angiogenesis pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus).*
2. Rata-rata angiogenesis pada hari ke-3 pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol yaitu sebesar 18,25.
3. Rata-rata angiogenesis pada hari ke-5 pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol yaitu sebesar 22,75.
4. Rata-rata angiogenesis pada hari ke-7 pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) lebih banyak dibandingkan pada kelompok kontrol yaitu sebesar 30,25.
5. Angiogenesis pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada hari ke-3, 5, dan 7 yang diberi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kelompok yang tidak diberi ektrak daun tempuyung.

6.2 Saran

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

1. Membuat kelompok K0 yaitu kelompok yang tidak dilakukan pencabutan sebagai pembanding angiogenesis dengan kelompok yang dilakukan pencabutan.
2. Melakukan penelitian dengan dosis ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) yang berbeda-beda untuk mengetahui dosis yang paling efektif pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.
3. Melakukan uji toksisitas pada ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) sebelum dilakukan uji klinis pada manusia sebagai pengobatan medis.

repository.ub.ac.id

DAFTAR PUSTAKA

Adair, T. H., & J. P. Montani. 2011. *Angiogenesis.* Morgan & Claypool Life

Afifah, Riski. 2012. Metode Maserasi (Online). (Diakses tanggal 16 Februari 2018 Pukul 16.02 WIB)

Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam.* Bandung : Penerbit ITB Press

Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta : Adabia Press

Andreasen, J. O., Andreasen, F. M., Andersson, L. 2007. *Textbook and Color Atlas of Traumatic Injuries to The Teeth,* edisi 4, Denmark: Blackwell Publishing Company

Azmir, J. Zaidul., I.S.M., Rahman, M.M. 2013. *Techniques For Extraction of Bioactive Compounds From Plant Materials:* A Review. Journal of Food Engineering vol. 117 : 426–436. Elsevier.

Balaji, S.M. 2013. *Textbook of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2nd Ed. Elvisier, India

BPOM, 2004. *Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia*. Jakarta: BPOM RI.

Carey, Francis A., 2006. *Organic Chemistry*, 6th ed., New York: McGraw Hill, 954

Dahlback, B. 2005. *Blood Coagulation And Its Regulation By Anticoagulant Pathways: Genetic Pathogenesis Of Bleeding And Thrombotic Diseases.* Journal of Internal Medicine. Vol.257, pp.209–223.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta

Dhianawaty, Diah., Ruslin. 2015. *Kandungan Total Polifenol dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Metanol Akar Imperata cylindrica (L) Beauv. (Alang-alang)*. Departemen Biokimia dan Biomolekular Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung. MKB, Volume 47 No. 1

Diegelmann, R.F. dan Evans, M.C. 2004. *Wound Healing: An Overview of Acute, Fibrotic and Delayed Healing, Front. Biosci.*, Vol 9: 283-9.

Fitriyani Atik, Lina Winarti, Siti Muslichah dan Nuri. 2011. *Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) pada Tikus Putih.* Vol. 16 No. 1.Majalah Obat Tradisional. hal 35.

Garai, S. 2014. Triterpenoid Saponin. Natural Product Chemical Research. 2(6):1-13

Gardner, D.L. and Tweedle, D.E.F. 2002. *Pathology for Surgeons Training.* 3th edition. Boca Raton: CRC Press

Guo, S. and Dipietro, L.A. 2010. *Factors Affecting Wound Healing.* Journal of Dental Research, 89, 219-229.

Gurtner G.C. 2007. *Wound healing: Normal and abnormal.* in Thorne C.H. editor. Grabb and Smith's Plastic Surgery. 6th edition. Philadelphia.

Hamdani.2014. Maserasi .(Online). (Diakses tanggal 16 Februari 2018 Pukul 16.09 WIB)

Hanson, Thomas Arn. 2014. *Vancomycin Gene Selection in The Microbiome of Urban Rattus Norvegicus from Hospital Environment*. Evolution medicine, and public health. 1 (1):219-226.

Harty, F.J., Ogston, R. 2012. *Kamus Kedokteran Gigi.* Alih Bahasa: Narlan Sumawinata dari "Concise Illustrated Dental Dictionary". Jakarta: EGC.

Hendriani, Rini., Sukandar, Elin Yulinah., Kusnandaranggadiredja., Sukrasno. 2014. *In Vitro Evaluation Of Xanthine Oxidase Inhibitory Activity Of Sonchus Arvensis Leaves*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science, Vol 6 Issue 2.

Hess, C. T. 2005. *Clinical Guide: Wound Care*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, USA.

Januwati, M. 2012. *Penanganan Pasca Panen Simplisia untuk Menghasilkan Bahan Baku Terstandar Mendukung Industri Minuman Fungsional* (Laporan Kemajuan). Bogor. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (BPTP).

Kadarusman, L. 2011. *Peningkatan Kualitas dan Kuantitas Bahan Baku Jamu untuk Terapi Kedokteran Modern.* Simposium Penelitian Bahan Obat Alami XV. Solo, 9-10 November 2011, NH Hikmayani dan MC Epid (Penyunting), 5-11. PERHIPBA dan Fakultas Kedokteran UNS.

Kealey, K.S., M. Rodney, J.F.Leo, F.John, Margaret, Giovani. 2004. Cocoa Extract Prepared from Cocoa Solids Having High Cocoa Polyphenol Content. United States Patent, 1-7.

Kim, Y. S., Choi, I., Jeong, M., Jeoung, S., Nah, S. Y., Cho, Y., Kim, S. H., Go, A., Kim, S. E., Kang, S. S., Moon, C. J., Kim, J. C., Kim, S. H., and Bae, C. S. 2011. *Therapeutik Effect of Total Gingseng Saponin on Skin Wound Healing, J. Gingseng Res*., 35 (5): 360-367.

Kumar, S., Pandey, A. K. 2013. *Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview*, The Scientific World Journal. ID162750.

Kumar, V., Abbas, A. K., dan Fausto, N. 2014. *Robbins and Cotran: Pathologic Basis of Disease*, Elsevier Saunders, Philadelphia,

p. 106-111.

Kusumawati, Diah. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba.* Edisi pertama, Yogyakarta : Universitas Gajah Mada, h : 88-91.

Larjava, H. 2012. *Oral Wound Healing: Cell Biology and Clinical Management*. John Wiley&Sons, Inc.: India.

Marcin, Richard. 2000. *Comparative Cranial Anatomy of* Rattus Norvegicus *and Proechimys Trinitatus.* CUNY Academic Works.

Mescher, Anthony L. 2012. *Buku Histologi Dasar Janqueira*. Jakarta: EGC

Miloro, M., Ghali, G.E., Larsen, P.E., dan Waite, P.D. 2004. *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery,* BC Decker, Ontario.

Moses, T., Papadopoulou, KK., Osbourn, A. *Metabolic and Functional Diversity of Saponins, Biosynthetic Intermediates and Semi-Synthetic Derivatives*. Crit Rev Biochem Mol Biol. 2014; 49(6): 439-62.

Muhlisah, Ir. Fauziah. 2007. *Tanaman Obat Keluarga (TOGA),* Jakarta, PT. Seri Agri Sehat

Narbuko, C., Achmadi, A. 2012. *Metodologi Penelitian*. Bumi Aksara: Jakarta. h. 48, 76-77, 156.

Nofikasari, I., Rufaida, A., Aqmarina, C.D., Failasofia., Fauzia, A.R., Handajani, Juni. 2016. *Efek Aplikasi Topikal Gel Ekstrak Pandan Wangi terhadap Penyembuhan Luka Gingiva.* Majalah Kedokteran Gigi Indonesia, Vol. 2 (2), 53-59.

Nugroho, Ardhina Mahadika., Elfiah, Ulfa., Normasari, Rena. 2016. *Pengaruh Gel Ekstrak dan Serbuk Mentimun (Cucumis sativus) terhadap Angiogenesis pada Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIB pada Tikus Wistar.* Jember: E-Jurnal Pustaka Kesehatan, vol. 4 No. 3.

Nugroho, TS. 2005. *Pengaruh Infiltrasi Levobupivakain 0,25 % Terhadap kuantitas Angiogenesis Tikus Wistar Pada Proses Penyembuhan Luka Insisi Hari Ke-5.* Universitas Diponegoro. Semarang.

Nuryana, C. T. 2007. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Teki (Cyperus rotundus) Secara Topikal Terhadap Proses Penyembuhan Luka Eksisi Kulit Punggung Mencit Galur BALB/C*, *Tesis*, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Paul D, et al. 2003. *Chemical Activation of Cytochrome C Proteins Via Crownether Complexation: Cold-active Synzymes for Enantiomer-selective Sulfoxide Oxidation in Methanol*. J Am Chem Soc 125(38):11478-9

Pedersen, Gordon W. 2013. *Buku Ajar Praktis Bedah Mulut* (4th ed). Jakarta: EGC.

Pongsipulung G.R., Yamlean P.V.Y., Banne Y. 2012. *Formulasi dan Pengujian Salep Ektrak Bonggol Pisang Ambon (Musa paradisiaca var. sapientum L.) Terhadap Luka Terbuka pada Kulit Tikus Putih Jantan Galur Wistar (Rattus norvegicus).* Pharmacon, 1 (2), 7–13.

Prajnalaga, Fantry Cristya., Susilowati, Endang. 2014. *Perbandingan Ekstrak Etanol dan Metanol Daun Gaharu (Aquilaria malaccensis) terhadap Aktivitas Antiradikal Bebas Dengan Metode DPPH*. Malang: Akademi Analis Farmasi dan Makanan Putra Indonesia Malang

Prasetyono, T.O.H. 2009. *General Concept of Wound Healing*. Revisited, Med. J Indones, 8(3): 206-214.

Rijke E. 2005. *Trace-level Determination of Flavonoids and Their Conjugates Application ti Plants of The Leguminosae Family* [disetasi]. Amsterdam: Universitas Amsterdam

[RISKESDAS] Riset Kesehatan Dasar. 2007. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan, Republik

Indonesia. Jakarta.

Rosanto, Yosaphat Bayu., Handajani, Juni. Susilowati, Heni. 2012. *Efek Pemberian Gel Getah Batang Tanaman Pisang Secara Topikal terhadap Kepadatan Serabut Kolagen pada Proses Penyembuhan Luka Pasca Ekstraksi Gigi Marmut*. Dentika Dental Journal:17(1): 3-39.

Sa`adah, Hayatus., Nurhasnawati, Henny. 2015. *Perbandingan Pelarut Etanol dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (Eleutherine Americana Merr) Menggunakan Metode Maserasi*. Jurnal Ilmiah Manuntung: 1(2), 149-153.

Setyaningsih, D. 2006. *Peranan Aktivitas Enzimβ-Glukosidase pada Pembentukan Flavor Vanilla selama Proses Kuring.* Disertasi Sekolah Pasca Sarjana (SPS). IPB. Bogor.

Sjahid, R. Landyyun. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru* (Eugenia uniflora L.). Skripsi. (http://www.pdfport.com/view/638561-isolasi-dan-identifikasi-flavonoid-dari-daun-dewandaru-eugenia.html, diakses pada 25 Januari 2018)

Spoorn, Michael B., Liby, Karen T., Honda, Tadashi., Mundy, Gregory., Garret, Ross., Redii, Hari., Niikura, Takahiro., Gribble, Gordon. 2008. *Synthetic Triterpenoids And Tricyclic-Bis-Enones For Use In Stimulating Bone And Cartilage.* United States Patent Application Hlm. 4.

Sugiyono. 2012. *Statistika untuk Penelitian*. Alfabeta: Bandung. h. 53-54, 61-74, 352-356, 365, 373.

Sukmayadi, Asep E., Sumiwi, Sri A., Barliana, Melisa, I. 2014. *Aktivitas Immunomodulator Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (Sonchus arvensis Linn.)*. IJPST, Vol.1(2) : 65-72.

Sulaksana, J., Budi, S., Dadang, I. J. 2004. *Tempuyung Budi Daya dan Pemanfaatan Untuk Obat*. Cetakan pertama. Jakarta: Penebar Swadaya.

Supriyadi. 2014. *Statistik Kesehatan*. Penerbit Salemba Medika, Jakarta.

Widyastomo., Kartika Andari Wulan., dan Indah Permatasari. 2013. *Pengaruh Jus Buah Belimbing Manis (Averrhoa CarambolaLinn) Terhadap Peningkata Jumlah Fibroblas Pada soket Gigi Tikus Strain Wistar Pasca Estraksi Gigi*. *Jurnal Prodental*, 1(2), p62-70.

William. W.Li., Vincent., W.Li. 2003. Agiogenesis in Wound Healing. Cambridge: The Angiogenesis Foundation

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

Wirakusuma, E.S. 2007. *Jus Buah dan Sayuran : 148 Resep untuk Menjaga Kesehatan dan Kebugaran Anda*. Niaga Swadaya, Jakarta.

Wray, David., Stenhouse, David., Lee David., Clark-Andrew., J E. 2003. *General and Oral Surgery*. Toronto: Churchill Livingstone:78-69.