



**PENGARUH REBUSAN KULIT JERUK
NIPIS (*Citrus aurantifolia swingle*)
TERHADAP JUMLAH SEL FIBROBLAS
PADA PENYEMBUHAN LUKA PASCA
PENCABUTAN GIGI**

SKRIPSI

**UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

oleh :

**GADIS NOVI KRISDAYANTI
145070401111004**

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



**PENGARUH REBUSAN KULIT JERUK
NIPIS (*Citrus aurantifolia* swingle)
TERHADAP JUMLAH SEL FIBROBLAS
PADA PENYEMBUHAN LUKA PASCA
PENCABUTAN GIGI**

SKRIPSI

**UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

oleh :

**GADIS NOVI KRISDAYANTI
145070401111004**

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

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

PENGARUH REBUSAN KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia swingle*) TERHADAP JUMLAH SEL FIBROBLAS PADA PENYEMBUHAN LUKA PASCA PENCABUTAN GIGI

oleh :

**GADIS NOVI KRISDAYANTI
145070401111004**

Telah diujikan di depan Majelis Penguji pada tanggal 02 Mei 2018 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Bidang Kedokteran Gigi

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

**drg. Fidya, M.Si
NIK. 2009008301152001**

**drg. Robinson Pasaribu, Sp. BM
NIP. 197304052000121007**

**Malang,
Mengetahui,**

**Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya**

**drg. Kartika Andari Wulan, Sp.Pro
NIP. 197906112009122003**

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah skripsi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh SARJANA dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, 28 Juni 2018

Yang Menyatakan,

Gadis Novi Krisdayanti

145070401111004

ABSTRAK

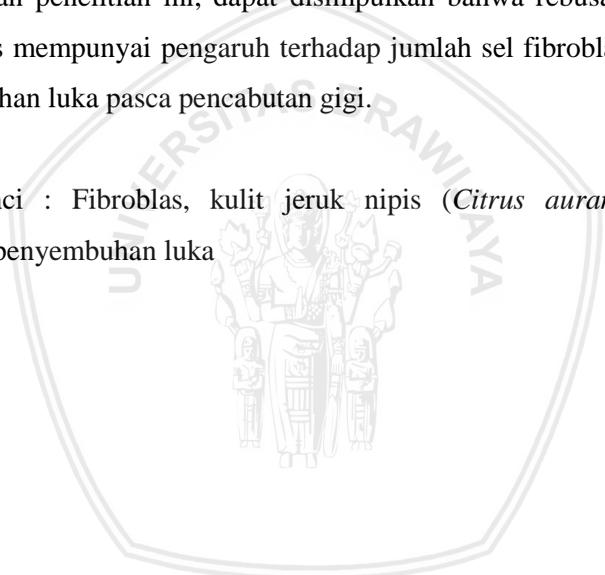
Gadis Novi Krisdayanti, 145070401111004, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang, 28 Juni 2018, “PENGARUH REBUSAN KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia swingle*) TERHADAP JUMLAH SEL FIBROBLAS PADA PENYEMBUHAN LUKA PASCA PENCABUTAN GIGI”, Tim Pembimbing: (1) drg. Fidyaa, M.Si. (2) drg. Robinson Pasaribu, Sp.BM.

Pencabutan gigi dalam bidang kedokteran gigi akan mengakibatkan kerusakan jaringan di sekitar gigi yang telah dicabut dan terjadi proses penyembuhan luka. Sel fibroblas merupakan sel yang berperan penting dalam perbaikan jaringan yang cidera dengan melakukan sintesis komponen matriks ekstrasel. Kulit jeruk nipis merupakan bagian tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia swingle*) yang memiliki kandungan flavonoid tertinggi. Salah satu efek flavonoid adalah memiliki efek antiinflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh rebusan kulit jeruk nipis terhadap jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi. Penelitian ini dilakukan dengan pendekatan eksperimental laboratoris secara *in vivo*. Desain penelitian yang digunakan adalah *Randomized Post-Test Only Control Group Design* dimana subyek dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol yang tidak diberi rebusan kulit jeruk nipis (K7, K14, K21) dan kelompok perlakuan yang diberi rebusan kulit jeruk nipis (P7, P14, P21) yang masing-masing didekaputasi pada hari ke-7, 14, 21 dan dibuat sediaan preparat

repository.ub.ac.id

histologi jaringan dengan pewarnaan HE untuk menghitung jumlah sel fibroblas. Analisis data menggunakan *One-Way Anova* menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan di hari ke-7 serta menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan di hari ke-14, 21. Uji korelasi Pearson menunjukkan adanya hubungan kuat dengan arah negatif yang berarti semakin bertambahnya hari maka jumlah sel fibroblas semakin menurun. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa rebusan kulit jeruk nipis mempunyai pengaruh terhadap jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.

Kata Kunci : Fibroblas, kulit jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia* swingle), penyembuhan luka



ABSTRACT

Gadis Novi Krisdayanti, 145070401111004, Dentistry undergraduate Program, Dentistry Faculty of Brawijaya University Malang, 28th June 2018, “THE EFFECT OF LIME PEEL DECOCTION (*Citrus aurantifolia swingle*) TO NUMBER OF FIBROBLASTS CELLS ON WOUND HEALING AFTER TOOTH EXTRACTIONS”, Supervisor: (1) drg. Fidya, M.Si. (2) drg. Robinson Pasaribu, Sp.BM.

Tooth extractions in Dentistry will cause tissues damage in tissues around the extraction area and process of wound healing. Fibroblasts cell is a cell that plays an important role in repairing of tissues injuries with synthesis component matrix ekstrasel. The pell of orange is part of plant lime (*Citrus aurantiifolia swingle*) that have highest flavonoid content. Flavonoid have effects inflammatory phase of wound healing process. The purpose of this research is to know the effect of lime peel decoction to number of fibroblasts cells on wound healing after tooth extractions. This research was conducted with an experimental approach laboratoris in in vivo. The research design used Randomized Post Test Only Control Group Design in which subjects are divided into 6 groups, there were the control group was not given the lime peel decoction (K7, K14, K21) and the treatment group was given the lime peel decoction (P7, P14, P21) each sacrificed on the day 7th, 14th, 21st and made the preparations of histology tissue with coloring HE to count the number of fibroblasts cells. Data analysis using one-way Anova showed significant differences between control group and treatment group on the 7th day and showed no difference between meaningful control group and treatment group in day 14th, 21st. Pearson correlation test showed a strong relationship with negative direction meaning more and increase of the day then the number of fibroblasts cells progressively decreased. Based on this research, it can be concluded that the lime peel decoction has an impact to number of fibroblasts cells on wound healing after tooth extractions.

Keywords: Fibroblast, the peel of lime (*Citrus aurantiifolia* Swingle), wound healing



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI.....	iii
ABSTRAK.....	iv
<i>ABSTRACT</i>	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan.....	4
1.3.1 Tujuan Umum Penelitian.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademik.....	5

1.4.2	Manfaat Praktis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....		7
2.1	Pencabutan Gigi	7
2.2	Luka.....	8
2.3	Proses Penyembuhan Luka.....	9
2.3.1	Regenerasi Sel dan Jaringan.....	9
2.3.1.1	Proliferasi Sel	10
2.3.1.2	Perbaikan Jaringan Melalui Deposisi Jaringan Ikat	11
2.4	Fibroblas.....	15
2.5	Jeruk Nipis	16
2.5.1	Morfologi Tumbuhan	17
2.5.2	Kandungan dan Khasiat Tumbuhan	18
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS		
PENELITIAN		21
3.1	Kerangka Konsep	21
3.2	Hipotesis Penelitian.....	23
BAB IV METODE PENELITIAN.....		25
4.1	Desain Penelitian.....	25

4.2	Sampel Penelitian.....	26
4.2.1	Jenis Sampel Penelitian.....	26
4.2.2	Jumlah Sampel Penelitian.....	27
4.3	Variabel Penelitian.....	28
4.4	Tempat dan Waktu Penelitian.....	28
4.5	Alat dan Bahan Penelitian.....	29
4.5.1	Pemeliharaan Hewan Coba.....	29
4.5.2	Pencabutan Gigi Tikus.....	29
4.5.3	Perlakuan Hewan Coba.....	29
4.5.4	Pengambilan Jaringan dan Pembuatan Preparat.....	29
4.5.5	Pembuatan Rebusan Kulit Jeruk Nipis.....	30
4.6	Definisi Operasional.....	30
4.7	Prosedur Penelitian.....	31
4.7.1	Alur Penelitian.....	31
4.7.2	Persiapan Hewan Coba.....	31
4.7.3	Pembuatan Rebusan Kulit Jeruk Nipis.....	31
4.7.4	Pencabutan Gigi Tikus.....	33
4.7.5	Perawatan tikus Pasca Pencabutan Gigi.....	34

4.7.6 Tahap Pengelompokkan dan Perlakuan	
Hewan Coba.....	34
4.7.7 Pengambilan Sampel	35
4.7.8 Pembuatan Sediaan Histologi.....	36
4.7.9 Perhitungan Jumlah Sel Fibroblas	37
4.8 Analisis Data	37
4.9 Alur Penelitian	38
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	39
5.1 Hasil Penelitian	39
5.2 Analisis Data	42
5.2.1 Uji Normalitas Data	42
5.2.2 Uji Homogenitas Varian.....	43
5.2.3 Uji <i>One Way Anova</i>	43
5.2.4 Uji <i>Post-Hoc Multiple Comparison</i>	43
5.2.5 Uji Korelasi <i>Pearson</i>	44
BAB VI PEMBAHASAN	47
BAB VII PENUTUP	51
7.1 Kesimpulan	51
7.2 Saran.....	52

DAFTAR PUSTAKA.....	53
LAMPIRAN	59



DAFTAR TABEL

No.	Judul Tabel	Hal.
5.1	rata-rata jumlah sel fibroblas (sel) pada jaringan ikat soket gigi tikus putih dan standar deviasi	41



DAFTAR GAMBAR

No.	Judul Gambar	Hal.
2.3	Sel Fibroblas dan Sel Fibrosit	16
2.4	Buah Jeruk Nipis	17
4.1	Desain Penelitian.....	25
4.9	Skema Alur Penelitian.....	38
5.1	Jaringan ikat socket tikus putih pasca pencabutan gigi setelah 7 hari perlakuan dengan pewarnaan HE perbesaran 400 kali (A) Fibroblas kelompok K7 (B) Fibroblas kelompok (B) P7.....	39
5.2	Jaringan ikat socket tikus putih pasca pencabutan gigi setelah 14 hari perlakuan dengan pewarnaan HE perbesaran 400 kali (C) Fibroblas kelompok K14 (D) Fibroblas kelompok P14.....	40
5.3	Jaringan ikat socket tikus putih pasca pencabutan gigi setelah 21 hari perlakuan dengan pewarnaan HE perbesaran 400 kali. (E) Fibroblas kelompok K21 (F) Fibroblas kelompok P21	41

DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

TGF- β	<i>Transforming Growth Factor β</i>
PDGF	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
ECM	<i>Extra Cellular Matrix</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
MMPs	<i>Metalloproteinase</i>
RAL	Rancangan Acak Lengkap
HCL	Hidrogen Klorida
EDTA	<i>Decalsification Agent</i>
HE	Hematoksilin dan Eosin



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Uji Statistik.....	59
Lampiran 2 <i>Ethical Clearance</i>	64
Lampiran 3 Foto Penelitian.....	66



repository.ub.ac.id

PENGARUH REBUSAN KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia swingle*) TERHADAP JUMLAH SEL FIBROBLAS PADA PENYEMBUHAN LUKA PASCA PENCABUTAN GIGI

ABSTRAK

Gadis Novi Krisdayanti, 145070401111004, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang, 28 Juni 2018, "PENGARUH REBUSAN KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia swingle*) TERHADAP JUMLAH SEL FIBROBLAS PADA PENYEMBUHAN LUKA PASCA PENCABUTAN GIGI", Tim Pembimbing: (1) drg. Fidyaa, M.Si. (2) drg. Robinson Pasaribu, Sp.BM.

Pencabutan gigi dalam bidang kedokteran gigi akan mengakibatkan kerusakan jaringan di sekitar gigi yang telah dicabut dan terjadi proses penyembuhan luka. Sel fibroblas merupakan sel yang berperan penting dalam perbaikan jaringan yang cidera dengan melakukan sintesis komponen matriks ekstrasel. Kulit jeruk nipis merupakan bagian tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia swingle*) yang memiliki kandungan flavonoid tertinggi. Salah satu efek flavonoid adalah memiliki efek antiinflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh rebusan kulit jeruk nipis terhadap jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi. Penelitian ini dilakukan dengan pendekatan eksperimental laboratoris secara *in vivo*. Desain penelitian yang digunakan adalah *Randomized Post-Test Only Control Group Design* dimana subyek dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol yang tidak diberi rebusan kulit jeruk nipis (K7, K14, K21) dan kelompok perlakuan yang diberi rebusan kulit jeruk nipis (P7, P14, P21) yang masing-masing didekaputasi pada hari ke-7, 14, 21 dan dibuat sediaan preparat histologi jaringan dengan pewarnaan HE untuk menghitung jumlah sel fibroblas. Analisis data menggunakan *One-Way Anova* menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan di hari ke-7 serta menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan di hari ke-14, 21. Uji korelasi Pearson menunjukkan adanya hubungan kuat dengan arah negatif yang berarti semakin bertambahnya hari maka jumlah sel fibroblas semakin menurun. Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa rebusan kulit jeruk nipis mempunyai pengaruh terhadap jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.

Kata Kunci : Fibroblas, kulit jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia swingle*), penyembuhan luka

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

THE EFFECT OF LIME PEEL DECOCTION (*Citrus aurantifolia swingle*) TO NUMBER OF FIBROBLASTS CELLS ON WOUND HEALING AFTER TOOTH EXTRACTIONS

ABSTRACT

Gadis Novi Krisdayanti, 145070401111004, Dentistry undergraduate Program, Dentistry Faculty of Brawijaya University Malang, 28th June 2018, "THE EFFECT OF LIME PEEL DECOCTION (*Citrus aurantifolia swingle*) TO NUMBER OF FIBROBLASTS CELLS ON WOUND HEALING AFTER TOOTH EXTRACTIONS", Supervisor: (1) drg. Fidya, M.Si. (2) drg. Robinson Pasaribu, Sp.BM.

Tooth extractions in Dentistry will cause tissues damage in tissues around the extraction area and process of wound healing. Fibroblasts cell is a cell that plays an important role in repairing of tissues injuries with synthesis component matrix ekstrasel. The pell of orange is part of plant lime (*Citrus aurantiifolia swingle*) that have highest flavonoid content. Flavonoid have effects inflammatory phase of wound healing process. The purpose of this research is to know the effect of lime peel decoction to number of fibroblasts cells on wound healing after tooth extractions. This research was conducted with an experimental approach laboratoris in in vivo. The research design used Randomized Post Test Only Control Group Design in which subjects are divided into 6 groups, there were the control group was not given the lime peel decoction (K7, K14, K21) and the treatment group was given the lime peel decoction (P7, P14, P21) each sacrificed on the day 7th, 14th, 21st and made the preparations of histology tissue with coloring HE to count the number of fibroblasts cells. Data analysis using one-way Anova showed significant differences between control group and treatment group on the 7th day and showed no difference between meaningful control group and treatment group in day 14th, 21st. Pearson correlation test showed a strong relationship with negative direction meaning more and increase of the day then the number of fibroblasts cells progressively decreased. Based on this research, it can be concluded that the lime peel decoction has an impact to number of fibroblasts cells on wound healing after tooth extractions.

Keywords: Fibroblast, the peel of lime (*Citrus aurantiifolia swingle*), wound healing

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencabutan gigi merupakan salah satu tindakan dalam praktek kedokteran gigi yang sering dilakukan oleh dokter gigi (Hutagalung dkk., 2015). Setelah pencabutan gigi, jaringan di sekitar gigi yang telah dicabut mengalami kerusakan. Selanjutnya akan terjadi proses penyembuhan luka (Junqueira *et. al.*, 2013). Kecepatan proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi merupakan suatu hal penting untuk meminimalisir bakteri yang mampu menginvasi luka dan masuk ke jaringan yang lebih dalam, serta menunjang perawatan kedokteran gigi yang selanjutnya sesuai indikasi maupun persetujuan dokter gigi dan pasien. Perawatan yang diberikan saat ini pasca dilakukan tindakan pencabutan gigi adalah dengan pemberian analgesik untuk meredakan rasa nyeri yang terjadi pasca tindakan pencabutan gigi dan tidak menimbulkan efek terhadap kecepatan penyembuhan luka pasca pencabutan gigi (Hutagalung dkk., 2015).

Penyembuhan luka adalah usaha tubuh untuk mengembalikan anatomi dan fungsi suatu jaringan setelah cedera. Pada saat penyembuhan luka terdapat 3 fase, yaitu inflamasi, proliferasi, dan remodeling. Terjadinya fase inflamasi pada tahap awal, akan membentuk bekuan darah pada permukaan luka. Reaksi inflamasi yang terdapat pada luka akan membatasi kerusakan, menghilangkan rangsangan yang mencederai, menghilangkan jaringan yang mengalami cedera, dan memulai pengendapan matriks

ekstraseluler di tempat cedera. Selanjutnya terjadi fase proliferasi berupa pembentukan jaringan granulasi, proliferasi sel-sel jaringan ikat, dan re-epitelisasi pada permukaan luka. Fase yang terakhir adalah remodeling jaringan (Basuki dkk., 2015).

Sel fibroblas merupakan sel yang berpengaruh dalam pembentukan jaringan granulasi pada fase proliferasi. Saat jaringan mengalami inflamasi, makrofag mengeluarkan beberapa faktor pertumbuhan seperti TGF- β , PDGF, FGF sehingga meningkatkan migrasi dan proliferasi fibroblas. Migrasi dan proliferasi sel fibroblas, deposisi jaringan ikat longgar bersama dengan pembuluh darah dan sel leukosit akan membentuk jaringan granulasi. Sel fibroblas merupakan sel yang paling banyak terdapat pada jaringan ikat dan termasuk jenis sel utama yang terlibat dalam proses perbaikan jaringan yang cedera. Secara progresif, sel fibroblas akan mengendapkan *Extra Cellular Matrix* (ECM) dengan jumlah yang semakin meningkat dan melakukan sintesa komponen matriks ekstrasel seperti kolagen, elastin, glikosaminoglikan, proteoglikan, dan glikoprotein multiadhesif. Sel fibroblas akan muncul pada hari ke-3 hingga mencapai puncak pada hari ke-7. Kolagen fibriler yang merupakan sintesa dari sel fibroblas akan membentuk sebagian besar jaringan ikat untuk menutup permukaan luka. Peningkatan jumlah sel fibroblas pada proses penyembuhan luka merupakan kombinasi proliferasi dan migrasi serta merupakan indikasi adanya proses penyembuhan luka yang cepat (Junqueira, 2013).

Obat herbal yang berasal dari bahan alami saat ini berkembang pesat di kalangan masyarakat, karena bahannya yang

mudah didapatkan dari alam dan harganya lebih ekonomis. Jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia* Swingle) merupakan salah satu jenis buah dari genus *Citrus* (jeruk) yang mengandung beberapa unsur senyawa kimia yang bermanfaat seperti asam sitrat, asam amino (triptofan dan lisin), minyak atsiri (sitral, limonen, felandren, lemon kamfer, kadinen, gerani-lasetat, linali-lasetat, aktilaldehid, nonilaldehid), damar, glikosida, asam sitrun, lemak, kalsium, fosfor, besi, belerang, vitamin B1, dan vitamin C. Selain itu, jeruk nipis juga mengandung senyawa saponin dan flavonoid (Zenia dkk., 2013).

Kulit jeruk nipis sering dianggap limbah dan dibuang pada pemanfaatan olahan minuman atau makanan, dan lain-lain. Padahal kulit jeruk nipis mengandung beberapa komponen penting yang masih bisa dimanfaatkan yaitu flavonoid dan vitamin C. Selain itu, di dalam kulit jeruk nipis juga terdapat kandungan *polymethoxylated flavones* (PMFs), karoten dan pigmen beta cryptoxanthin, terpen limonoid, serta minyak atsiri (Indah dan Supriyanto, 2013).

Konsentrasi flavonoid pada jeruk nipis yang paling tinggi adalah terdapat pada bagian kulitnya. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol yang bermanfaat bagi tubuh manusia yaitu sebagai antioksidan. Selain itu sebagai anti-alergi, anti-mikroba, anti-inflamasi, dan anti-kanker (Ebere, 2008). Flavonoid yang terkandung pada kulit jeruk nipis yaitu hesperidin, herperitin, nobiletin, tangeretin, naringin, naringenin, rutin, quercetin (Choi et al., 2007). Hesperidin dan quercetin merupakan turunan flavonoid yang ada pada kulit jeruk nipis dan memiliki efek anti-inflamasi (Ebere, 2008). Pada penelitian sebelumnya sudah pernah

diuji bahwa ekstrak etanol kulit jeruk nipis terbukti memiliki efek anti-inflamasi pada ulkus traumatik (Wardani, 2015). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh rebusan kulit jeruk nipis terhadap jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi. Penggunaan kulit jeruk nipis dalam penelitian ini yaitu dengan cara direbus karena penggunaannya aplikatif dalam masyarakat.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh rebusan kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia swingle*) terhadap jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum Penelitian

Tujuan umum penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh rebusan kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia swingle*) terhadap jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.

1.3.2 Tujuan Khusus Penelitian

Tujuan khusus penelitian antara lain :

- a. Menghitung jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi kelompok yang tidak diberi rebusan dan kelompok yang diberi rebusan kulit jeruk nipis pada hari ke-7.
- b. Menghitung jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi kelompok yang tidak diberi rebusan dan kelompok yang diberi rebusan kulit jeruk nipis pada hari ke-14.

- c. Menghitung jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi kelompok yang tidak diberi rebusan dan kelompok yang diberi rebusan kulit jeruk nipis pada hari ke-21.
- d. Menganalisis pengaruh pemberian rebusan kulit jeruk nipis terhadap jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi dengan membandingkan jumlah sel fibroblas antara kelompok yang tidak diberi rebusan dan kelompok yang diberi rebusan pada hari ke-7, ke-14, dan ke-21.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Menambah pengetahuan keilmuan di bidang kedokteran gigi
2. Meningkatkan kemampuan pemanfaatan bahan alam sebagai alternatif obat

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Memanfaatkan limbah kulit jeruk nipis yang memiliki efek anti-inflamasi
2. Rebusan kulit jeruk nipis dapat digunakan sebagai obat herbal yang aplikatif digunakan masyarakat umum

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi adalah tindakan pengambilan gigi dari alveolus, dimana gigi sudah tidak bisa dilakukan perawatan lagi. Tindakan pencabutan gigi merupakan salah satu tindakan yang sering dilakukan dalam kedokteran gigi. Pencabutan gigi yang ideal adalah tanpa menimbulkan rasa sakit dengan trauma minimal terhadap jaringan penyangga gigi, sehingga bekas pencabutan dapat sembuh dengan sempurna (Hutagalung dkk., 2015).

Terdapat beberapa indikasi dalam melakukan tindakan pencabutan gigi, antara lain kondisi gigi dengan karies parah yang sudah tidak bisa lagi dilakukan perawatan konservatif, adanya infeksi pada periapiks gigi, penyakit periodontal parah yang menyebabkan mobilitas gigi yang tinggi, anomali gigi seperti *supernumerary teeth*, gigi yang retak, gigi yang impaksi, dan sebelum terapi radiasi. Selain itu, apabila memerlukan tindakan pencabutan gigi pada perawatan orthodontic maupun prostetik (Andersson *et. al.*, 2010).

Ada beberapa kontraindikasi dilakukannya tindakan pencabutan gigi yang terbagi menjadi kontraindikasi lokal dan kontraindikasi sistemik. Kontraindikasi lokal pencabutan gigi antara lain, adanya infeksi pada rongga mulut seperti *Vincent's angina*, *herpetic gingivostomatitis* yang harus dilakukan perawatan terlebih dahulu sebelum tindakan pencabutan gigi. Pada kondisi infeksi akut

seperti perikoronitis akut, periodontitis akut, pulpitis akut juga harus dilakukan perawatan terlebih dahulu sebelum pencabutan gigi karena jika dilakukan pencabutan pada kondisi tersebut maka akan terjadi infeksi oleh bakteri yang bisa menjalar ke bawah kepala dan leher. Selain itu, gigi yang terletak pada kondisi tumor di rongga mulut, jika dilakukan pencabutan pada gigi tersebut bisa menyebabkan sel-sel cepat mengalami metastatik. Kontraindikasi sistemik dilakukannya pencabutan gigi antara lain, pasien penderita diabetes yang tidak terkontrol karena pasien penderita diabetes lebih rentan mengalami infeksi dan proses penyembuhan luka yang lama. Pasien yang memiliki penyakit jantung seperti hipertensi, infark miokard, gagal jantung, jantung koroner. Pasien dengan kelainan darah yang bisa mempengaruhi proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi. Pada pasien yang sedang hamil merupakan kontraindikasi untuk dilakukannya prosedur pencabutan gigi pada trimester pertama dan ketiga (Hupp *et. al.*, 2014).

Komplikasi akibat pencabutan gigi bisa terjadi karena berbagai faktor. Komplikasi dapat digolongkan menjadi komplikasi intraoperatif, segera sesudah pencabutan, dan jauh setelah pencabutan. Komplikasi yang sering ditemui pada pencabutan gigi antara lain perdarahan, pembengkakan, rasa sakit, *dry socket*, fraktur, dan dislokasi mandibula (Lande dkk., 2015).

2.2 Luka

Luka adalah kerusakan yang terjadi pada jaringan tubuh yang disebabkan oleh jejas baik fisik maupun kimia yang menyebabkan gangguan pada struktur jaringan (Sjamsuhidayat,

2010). Terdapat beberapa klasifikasi luka yang perlu diketahui antara lain, menurut usia luka ada luka akut dan luka kronis. Menurut kedalaman luka terbagi menjadi luka superfisial, *partial thickness*, dan *full thickness*. Menurut warna luka terbagi menjadi 3, yaitu warna merah (warna granulasi sehat), kuning (warna lapisan fibrin melekat jaringan), dan hitam (warna jaringan nekrotik). Menurut waktu terjadinya luka terbagi menjadi 2, yaitu luka kontaminasi (kurang 6 jam) dan luka infeksi (lebih dari 6 jam). Menurut jenis luka operasi terdiri dari luka bersih, luka bersih terkontaminasi, luka terkontaminasi, dan luka terinfeksi (Basuki dkk., 2015).

2.3 Proses Penyembuhan Luka

Perbaikan (*repair*) atau penyembuhan luka (*wound healing*) adalah usaha tubuh untuk mengembalikan struktur anatomi dan fungsi suatu jaringan setelah cedera. Istilah *repair* digunakan untuk perbaikan pada jaringan ikat dan parenkim, sedangkan *healing* digunakan untuk proses penyembuhan luka pada sel-sel epitel permukaan (Basuki dkk., 2015). Penyembuhan luka merupakan suatu proses dinamis yang melibatkan interaksi kompleks dan memerlukan koordinasi dari berbagai aktivitas seluler, termasuk fagositosis, kemotaksis, mitogenesis, dan sintesis komponen matriks ekstraseluler (Neck *et. al.*, 2012).

2.3.1 Regenerasi Sel dan Jaringan

Perbaikan pada kerusakan jaringan terjadi melalui 2 mekanisme yaitu mekanisme regenerasi melalui proliferasi sel epitel residual dan maturasi *stem cell*, dan mekanisme deposisi jaringan ikat untuk pembentukan jaringan parut. Regenerasi adalah proses

penggantian jaringan yang mengalami kerusakan akibat cedera agar dapat kembali normal. Proses regenerasi sel dan jaringan melibatkan proliferasi sel yang dipacu faktor pertumbuhan, bergantung pada integritas matriks ekstraseluler serta perkembangan maturitas dari sel punca. Deposisi jaringan ikat untuk pembentukan jaringan parut apabila jaringan yang cedera tidak mampu pulih secara normal atau jika struktur pendukung jaringan mengalami kerusakan, perbaikannya terjadi oleh jaringan ikat fibrous, yaitu pembentukan jaringan parut (Basuki dkk., 2015).

2.3.1.1 Proliferasi Sel

Ada beberapa tipe sel mengalami proliferasi selama perbaikan jaringan yaitu sisa sel yang masih hidup pada jaringan yang cedera, sel-sel endothelial pembuluh darah sebagai membentuk pembuluh darah baru yang menyediakan nutrisi untuk proses perbaikan, serta sel fibroblas sebagai sumber jaringan fibrous yang membentuk jaringan parut pengisi defek yang tidak dapat diperbaiki melalui sistem regenerasi. Sel dan jaringan memiliki kapasitas yang berbeda dalam memperbaiki dirinya. Berdasarkan kriteria tersebut, maka jaringan dibagi menjadi 3 kelompok yaitu jaringan labil, jaringan stabil, dan jaringan permanen. Jaringan labil merupakan jaringan yang memiliki sel-sel yang terus membelah menggantikan jaringan yang mengalami jejas. Contohnya pada sel hematopoietik pada sumsum tulang, mayoritas permukaan epitel seperti kulit, rongga mulut, vagina, serviks, epitel kubus pada duktus organ kelenjar eksokrin, epitel silindris dari traktus gastrointestinal dan uterus, epitel transisional pada traktus urinarius. Semua jaringan

tersebut akan tetap beregenerasi selama masih terdapat deposit sel punca (Basuki dkk., 2015).

Jaringan stabil merupakan jaringan yang memiliki sel-sel dengan tingkat replikasi rendah (berada pada stadium G_0 siklus sel). Contohnya pada sel-sel hepar pankreas, ginjal; sejumlah sel mesenkimal seperti fibroblas, otot polos, sel endotel pembuluh darah. Proliferasi dari sel-sel tersebut merupakan bagian terpenting dari proses penyembuhan luka. Jaringan permanen merupakan jaringan yang terdiri sel-sel yang telah keluar dari siklus pembelahan sel sehingga setelah lahir tidak dapat meneruskan mitosis. Contohnya pada sel saraf, sel otot jantung, sel otot lurik (Kumar *et. al.*, 2015).

2.3.1.2 Perbaikan Jaringan Melalui Deposisi Jaringan Ikat

Tujuan proses perbaikan adalah memulihkan jaringan ke keadaan semula. Reaksi peradangan yang diaktifkan oleh cedera akan membatasi kerusakan, menghilangkan rangsangan yang mencederai, menyingkirkan jaringan yang cedera dan memulai pengendapan matriks ekstrasel di tempat cedera. Jika perbaikan jaringan tidak dapat diselesaikan dengan regenerasi saja maka terjadi penggantian sel-sel yang mengalami cedera dengan jaringan ikat, menyebabkan pembentukan jaringan parut atau kombinasi regenerasi dengan pembentukan jaringan parut (Basuki dkk., 2015).

Pembentukan jaringan parut dapat terjadi pada jejas yang menyebabkan kerusakan berat pada struktur matriks ekstraseluler, dan jejas yang secara persisten menimbulkan inflamasi kronis sehingga meningkatkan produksi faktor pertumbuhan dan sitokin yang memicu proliferasi fibroblas serta sintesis kolagen. Proses

pembentukan jaringan parut antara lain angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi, dan remodeling jaringan. Angiogenesis yaitu proses pembentukan pembuluh darah baru berfungsi sebagai sarana untuk mensuplai nutrisi dan proses penyembuhan. Faktor pertumbuhan VEGF mendorong angiogenesis, meningkatkan permeabilitas vaskuler (Neck *et. al.*, 2012).

Pembentukan jaringan granulasi merupakan proses migrasi dan proliferasi fibroblas dan deposisi jaringan ikat longgar bersama dengan pembuluh darah dan leukosit akan membentuk jaringan granulasi. Ciri dari jaringan granulasi adalah jaringan yang berwarna merah cerah, lunak, permukaan irreguler. Secara histopatologi jaringan granulasi adalah kombinasi dari elemen seluler termasuk fibroblas dan sel inflamasi beserta vaskularisasi baru dalam matriks kolagen, fibronektin, dan asam hialuronik. Jaringan granulasi akan mengisi lubang cedera secara progresif dengan jumlah tergantung ukuran defisit jaringan yang diderita serta intensitas radang. Remodeling jaringan merupakan proses pergantian jaringan granulasi oleh jaringan parut disertai transisi dalam komposisi matriks ekstraseluler. Sebagian besar faktor pertumbuhan yang merangsang sintesis kolagen juga memodulasi sintesis dan aktivasi *metalloproteinase* (MMPs) serta enzim-enzim pengurai kolagen (Kumar *et. al.*, 2015).

Penyembuhan luka pada kulit terdiri dari 3 fase yaitu inflamasi, proliferasi, dan remodeling (Basuki dkk., 2015). Fase inflamasi merupakan tahapan pertama pada proses penyembuhan luka yang terjadi selama 3 sampai 5 hari. Pada fase inflamasi terjadi

vasokonstriksi pembuluh darah, dan setelah perdarahan terkontrol, sel-sel inflamasi bermigrasi ke tempat terjadinya luka, yaitu adanya infiltrasi sel netrofil, makrofag, dan limfosit (Neck *et al.*, 2012).

Pada tahap inflamasi awal yaitu 24-36 jam terjadi infiltrasi netrofil, sel netrofil muncul pada tepi insisi yang bergerak menuju bekuan fibrin. Pada hari ke-2, sel-sel epitel bergerak dari tepi luka di sepanjang sayatan di dermis, mengendapkan komponen basal membran. Pada hari ke-3, netrofil mengalami penekanan jumlah sebagai hasil dari apoptosis sel dan diganti oleh makrofag. Makrofag akan tetap berada pada luka hingga proses penyembuhan luka berjalan sempurna. Saat diaktivasi, makrofag melepaskan faktor-faktor pertumbuhan dan sitokin pada lokasi luka untuk lebih memperbesar dan mempertahankan aksi kimiawi dan mediator seluler yang sebelumnya telah dilepas oleh platelet yang berdegranulasi dan netrofil (Pettersson, 2012).

Pada hari ke-3 hingga hari ke-21 terjadi fase proliferasi. Pada fase ini merupakan gabungan dari angiogenesis, formasi jaringan granulasi, deposisi kolagen, epitelisasi, dan terjadi kontraksi luka. Angiogenesis dipicu saat hemostatik telah dibentuk. Awalnya pusat luka relatif avaskular, karena hanya mengandalkan difusi dari kapiler yang rusak di tepi luka. Proses angiogenesis menghasilkan jaringan pembuluh darah kapiler baru yang berasal dari cabang pembuluh darah yang sehat (Young *et. al.*, 2011).

Jaringan granulasi mulai menggantikan ruang yang tersisa pada sekitar area insisi luka. Ciri dari jaringan granulasi adalah jaringan yang berwarna merah cerah, lunak, permukaan irreguler.

Secara histopatologi, jaringan granulasi adalah kombinasi dari elemen seluler termasuk fibroblas dan sel inflamasi beserta vaskularisasi baru dalam matriks kolagen, fibronektin, dan asam hialuronik. Fibroblas juga muncul bermakna pada hari ke-3 hingga mencapai puncak pada hari ke-7. Peningkatan jumlah fibroblas pada luka merupakan kombinasi proliferasi dan migrasi. Pada hari ke-5 rongga insisi terisi penuh jaringan granulasi, dan neovaskularisasi mencapai puncak. Serat kolagen bertambah, ketebalan epidermis mencapai normal disertai keratinisasi permukaan kulit. Pada minggu ke-2 terjadi akumulasi kolagen dan proliferasi fibroblas. Sudah tidak ada infiltrat leukosit, edema, dan neovaskularisasi. Kolagen yang mulai tampak pada hari ke-3 mengalami peningkatan pada minggu ke-2 dan menetap hingga 3 bulan. Pada akhir bulan pertama, jaringan parut terdiri dari jaringan ikat seluler yang tidak mengandung infiltrat peradangan dan ditutup oleh epidermis yang utuh (Basuki dkk., 2015). Kontraksi luka terjadi pada fase proliferasi yang menjadi bagian penting dari proses penyembuhan luka. Kontraksi luka memiliki dampak positif dan negatif bagi manusia. Manfaat terjadinya kontraksi luka dapat membantu penutupan luka, namun jika berlebihan ada dampak negatif yaitu berkurangnya nilai estetika pada kulit akibat terbentuk jaringan parut (Li *et. al.*, 2011).

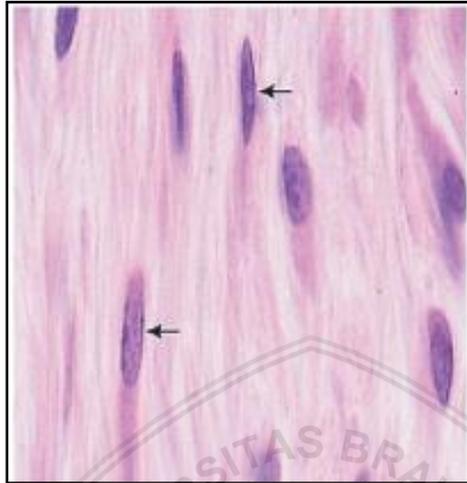
Fase remodeling jaringan adalah tahapan terakhir dari proses penyembuhan luka. Tahap ini terjadi mulai hari ke 21 sampai 1 tahun atau lebih setelah terjadinya luka (Reinke, 2012). Pada tahapan ini terdapat pengendapan matriks ekstraseluler yaitu kolagen dalam jaringan. Selama fase ini, makrofag, sel endotel, fibroblas, dan

myofibroblasts mengalami apoptosis. Sel-sel tersebut meninggalkan massa yang terdiri sebagian besar dari kolagen dan protein matriks lainnya. Selanjutnya matriks ekstraseluler mengalami pengendapan, serat kolagen tipe III yang mengandung matriks sementara akan digantikan oleh kolagen tipe I yang lebih kuat. Luka tidak bisa kembali mencapai kekuatan aslinya. Pada kekuatan maksimal, menyembuhkan luka adalah 80% dari kekuatan kulit normal (Neck *et. al.*, 2012).

2.4 Fibroblas

Fibroblas merupakan sel yang terdapat pada jaringan ikat. Sel yang respon terhadap hemostatis jaringan pada kondisi yang tidak normal. Ketika jaringan mengalami cedera, fibroblas menjadi aktif dan berdiferensiasi menjadi myofibroblas yang berperan dalam kontraksi sel dan memproduksi protein matriks ekstraseluler untuk memfasilitasi penutupan luka (Li *et. al.*, 2011).

Fibroblas mensintesis kolagen, elastin, glikosaminoglikan, proteoglikan, dan glikoprotein multiadhesif. Ciri-ciri sel fibroblas antara lain memiliki banyak percabangan sitoplasma yang irreguler, memiliki inti yang lonjong, besar, terpusat-pucat, dengan kromatin halus, dan anak inti yang nyata. Sitoplasma fibroblas banyak mengandung retikulum endoplasma kasar dan apparatus golgi yang berkembang baik (Junqueira, 2013).

Gambar 2.3 Sel fibroblas (Junqueira, 2013)

Fibroblas merupakan target berbagai faktor pertumbuhan yang mempengaruhi pertumbuhan dan diferensiasi sel. Pada orang dewasa, fibroblas dalam jaringan ikat jarang membelah, mitosis akan berlanjut bila memerlukan tambahan fibroblas, seperti pada penyembuhan luka. Kemampuan regeneratif jaringan ikat akan tampak jelas bila jaringan rusak oleh peradangan atau cedera traumatik. Pada keadaan tersebut, ruang-ruang yang terbentuk akibat cedera di jaringan dengan sel-sel yang tidak membelah, akan diisi oleh jaringan ikat, yang membentuk jaringan parut. Fibroblas merupakan jenis sel utama yang terlibat dalam proses perbaikan suatu jaringan yang cidera (Junqueira, 2013).

2.5 Jeruk Nipis

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae

Klas	: Dicotyledone
Bangsa	: Rutales
Famili	: Rutaceae
Genus	: Citrus
Species	: <i>Citrus aurantiifolia</i> (Cristm.) swingle

Gambar 2.4 Buah Jeruk Nipis (Adina, dkk., 2014)



2.5.1 Morfologi Tumbuhan

Jeruk nipis merupakan salah satu tumbuhan jenis citrus jeruk yang paling banyak memiliki dahan dan ranting. Tinggi tumbuhan ini sekitar 0,5-3,5 m dengan batang pohon yang berkayu ulet, berduri, dan keras. Permukaan kulit luarnya berwarna coklat tua dan kusam. Daunnya majemuk dengan berbentuk elips, pangkal membulat, ujung tumpul, dan tepi beringgit. Panjang daun jeruk nipis mencapai 2,5-9 cm dan lebarnya 2-5 cm dengan tulang daunnya menyirip dengan tangkai bersayap, lebar 5-25 mm (Anna, 2012).

Bunga tanaman jeruk purut berukuran majemuk/ tunggal yang tumbuh di ketiak daun atau di ujung batang dengan diameter 1,5-2,5 cm. Kelopak bunganya berbentuk seperti mangkok sebanyak

4-5 kelopak dengan diameter 0,4-0,7 cm berwarna putih kekuningan dan tangkai putik silindris putih kekuningan. Daun mahkota berjumlah 4-5, berbentuk bulat telur atau lanset dan berwarna putih dengan panjang 0,7-1,25 cm dan lebar 0,25-0,5 cm (Adina dkk., 2014).

Tanaman jeruk nipis mulai berbuah pada umur 2,5 tahun dengan bentuk buah bulat sebesar bola pingpong, memiliki diameter 3,5-5 cm dan warna kulitnya hijau atau kekuning-kuningan. Buah yang sudah tua memiliki rasa yang asam (Adina dkk., 2014).

2.5.2 Kandungan dan Khasiat Tumbuhan

Jeruk nipis termasuk genus *Citrus* (jeruk) yang mengandung beberapa unsur senyawa kimia yang bermanfaat seperti asam sitrat, asam amino (triptofan dan lisin), minyak atsiri (sital, limonen, felandren, lemon kamfer, kadinen, gerani-lasetat, linali-lasetat, aktialdehid, nonilaldehid), damar, glikosida, asam sitrun, lemak, kalsium, fosfor, besi, belerang, vitamin B1, dan vitamin C. Selain itu, jeruk nipis juga mengandung senyawa saponin dan flavonoid yaitu hesperidin (herperetin 7-rutinosida), tangeretin, naringin, eriocitrin, eriocitroside (Purwanti dkk., 2013). Sedangkan kandungan yang terdapat dalam kulitnya antara lain flavonoid, *polymethaxylated flavones* (PMFs), vitamin C, karoten dan pigmen beta cryptoxanthin, terpenoid limonoid, serta minyak atsiri (Indah dan Supriyanto, 2013). Konsentrasi flavonoid pada jeruk nipis yang paling tinggi adalah terdapat pada bagian kulitnya.

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol yang bermanfaat bagi tubuh manusia yaitu sebagai

antioksidan. Selain itu sebagai anti-alergi, anti-mikroba, anti-inflamasi, dan anti-kanker (Ebere, 2008). Flavonoid yang terkandung pada kulit jeruk nipis yaitu hesperidin, herperitin, nobiletin, tangeretin, naringin, naringenin, rutin, quercetin (Choi et al., 2007). Hesperidin dan quercetin merupakan turunan flavonoid yang ada pada kulit jeruk nipis dan memiliki efek anti-inflamasi (Ebere, 2008). *Polymethoxylated flavones* (PMFs) adalah jenis senyawa fenol methoxylated yang ditemukan secara eksklusif pada kulit jeruk. PMFs memiliki efek antivirus dan antibakteri. Vitamin C berperan penting terhadap penyembuhan luka melalui kemampuannya dalam meningkatkan produksi kolagen dengan cara menghidroksi lisin dan prolin. Minyak atsiri memiliki efek antibakteri. Terpenoid limonoid adalah senyawa yang larut dalam lemak dan terdapat dalam sitoplasma sel tumbuhan. Terpenoid Memiliki efek antitumor dan antivirus. Karotenoid merupakan salah satu jenis senyawa yang banyak memiliki manfaat antara lain antioksidan, mencegah kanker, meningkatkan sistem imun. Selanjutnya pigmen beta cryptoxanthin yang merupakan salah satu jenis karotenoid, memiliki ciri warna kuning oranye pada buah dan sayuran yang berfungsi sebagai antioksidan, mencegah kanker, mencegah penyakit jantung, mencegah penyakit di saluran pernapasan (Indah dan Supriyanto, 2013).

Pemilihan kulit jeruk nipis pada penelitian ini berdasarkan kadar flavonoid. Kadar flavonoid dan senyawa fenolik lainnya di dalam tanaman berbeda-beda di setiap bagian dan jaringan tanaman. Selain itu dipengaruhi juga oleh faktor-faktor lingkungan antara lain

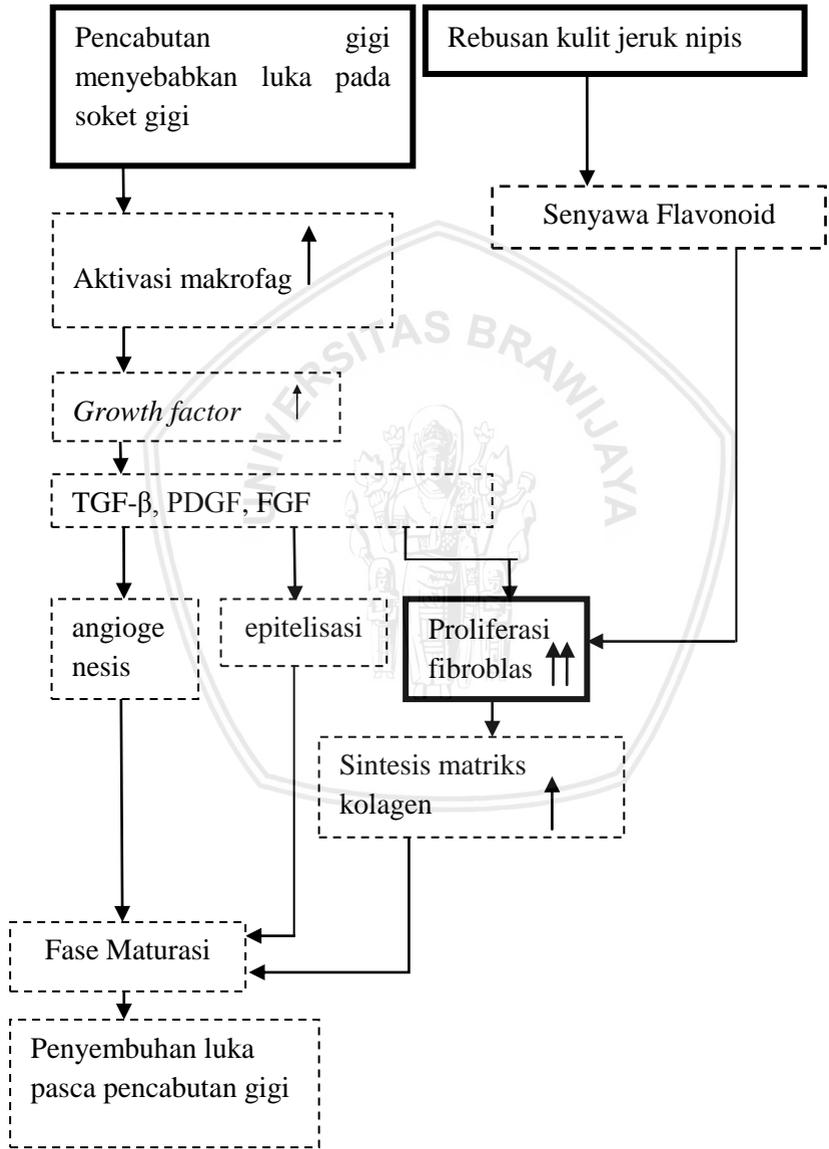
temperature, sinar UV, nutrisi, ketersediaan air, kadar CO₂ di atmosfer. Pada penelitian uji kandungan flavonoid pada suatu tanaman, perbedaan usia panen suatu tanaman tidak mempengaruhi banyaknya jumlah kandungan kimia yang terdapat pada tanaman, suatu kandungan kimia akan bertambah apabila diberi perlakuan khusus atau tambahan (Neldawati dkk., 2013).



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :



: variabel yang diteliti



: variabel yang tidak diteliti

Pasca tindakan pencabutan gigi dapat menimbulkan luka pada soket gigi dan akan mengalami proses penyembuhan luka. Pada penyembuhan luka terjadi peningkatan jumlah makrofag di daerah luka, kemudian makrofag mengeluarkan faktor pertumbuhan (*growth factors*) seperti TGF- β , PDGF, dan FGF sehingga terjadi pembentukan pembuluh darah baru (*angiogenesis*), meningkatkan proliferasi fibroblas, serta epitelisasi. Fibroblas secara progresif akan meningkatkan sintesis matriks kolagen untuk memperbaiki jaringan yang rusak. Adanya *angiogenesis*, peningkatan sintesis matriks kolagen, dan epitelisasi dapat mempengaruhi terjadinya penyembuhan luka.

Kulit jeruk nipis merupakan bagian tanaman jeruk nipis yang memiliki kandungan flavonoid tertinggi. Flavonoid yang terdapat pada rebusan kulit jeruk nipis dapat mempengaruhi peningkatan aktivasi makrofag sehingga mempengaruhi peningkatan produksi *growth factor* seperti TGF- β , PDGF, FGF yang berpengaruh terhadap peningkatan proliferasi fibroblas. Peningkatan proliferasi fibroblas dapat mempengaruhi peningkatan sintesis matriks kolagen. Selanjutnya terjadi fase maturasi sehingga luka pasca pencabutan gigi dapat sembuh.

3.2 Hipotesis Penelitian

Terdapat pengaruh pemberian rebusan kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia swingle*) terhadap jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.



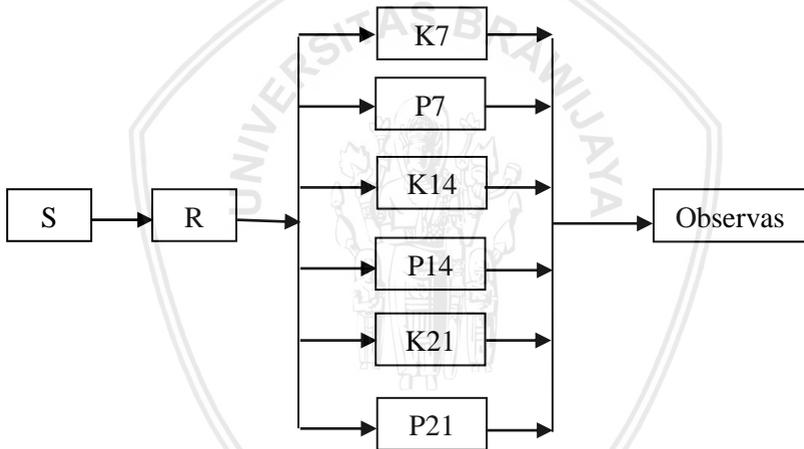
BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

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*

K7 = Kelompok kontrol 1 yang dilakukan pencabutan gigi tanpa diberi rebusan kulit jeruk nipis kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-7

P7 = Kelompok perlakuan 1 yang dilakukan pencabutan gigi dan diberi rebusan kulit jeruk nipis kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-7

K14 = Kelompok kontrol 2 yang dilakukan pencabutan gigi tanpa diberi rebusan kulit jeruk nipis kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-14

- P14 = Kelompok perlakuan 2 yang dilakukan pecabutan gigi dan diberi rebusan kulit jeruk nipis kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-14
- K21 = Kelompok kontrol 3 yang dilakukan pecabutan gigi tanpa diberi rebusan kulit jeruk nipis kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-21
- P21 = Kelompok perlakuan 3 yang dilakukan pecabutan gigi dan diberi rebusan kulit jeruk nipis kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-21

4.2 Sampel Penelitian

4.2.1 Jenis 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).

4.2.2 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* (Christm.) Swingle)
- Variabel terikat/ dependen
Jumlah sel fibroblas 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 kurang lebih 3 bulan dimulai pada bulan Januari sampai bulan 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 cm³ 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

Rebusan kulit jeruk nipis adalah cairan yang diperoleh dari kulit jeruk nipis yang direbus hingga mendidih (Anna, 2012).

2. Perhitungan jumlah sel fibroblas

Perhitungan jumlah sel fibroblas daerah luka pada sediaan preparat jaringan dilakukan dengan menggunakan program Master Olyvia dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang. Tiap 1 lapang pandang sediaan preparat jaringan, sel fibroblas pada jaringan ikat dihitung, dilanjutkan pada lapang pandang kedua hingga kelima. Selanjutnya menghitung rerata jumlah sel fibroblas dari 5 lapang pandang pada potongan jaringan tersebut.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Alur Penelitian

Tahapan-tahapan yang akan ditempuh dalam penelitian ini tertulis dalam akhir bab IV.

4.7.2 Persiapan Hewan Coba

- a. Adaptasi tikus dalam kandang kurang lebih selama 1 minggu pada temperatur konstan (20-25°C) dengan 12 jam siklus terang gelap untuk proses aklimatisasi (Rajavel, 2012). Tikus dipelihara dalam box plastik berukuran 15 x 30 x 42 cm³ 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 dipuaskan selama (12-18) jam sebelum perlakuan, namun air *aquadest* untuk minum tetap diberikan (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.

4.7.3 Pembuatan Rebusan Kulit Jeruk Nipis

Menghitung kebutuhan rebusan kulit jeruk nipis yang diperlukan selama penelitian. Pemberian rebusan kulit jeruk nipis

pada masing-masing tikus sebanyak 2 ml yang 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 P7 dengan jumlah 6 ekor tikus selama 7 hari, kelompok P14 dengan jumlah 6 ekor tikus selama 14 hari, dan kelompok P21 dengan jumlah 6 tikus selama 21 hari. Didapatkan perhitungan $\{(2\text{ml} \times 7 \text{ hari} \times 6 \text{ ekor tikus}) + (2\text{ml} \times 14 \text{ hari} \times 6 \text{ ekor tikus}) + (2\text{ml} \times 21 \text{ hari} \times 6 \text{ ekor tikus})\}$, 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 pemuaiian 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. 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 yaitu $F_a = W_c$ (F_a adalah gaya angkat ke atas, W_c adalah berat zat cair yang dipindahkan) (Agusni, 2015). Konsep dasar hukum Archimedes tersebut berbunyi bahwa suatu benda yang dicelupkan sebagian atau seluruhnya ke dalam zat cair akan mengalami gaya ke atas yang besarnya sama dengan berat zat cair yang dipindahkan oleh benda tersebut, sehingga 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.

4.7.4 Pencabutan Gigi Tikus

Pencabutan gigi tikus dilakukan pada gigi insisivus satu kiri mandibula dikarenakan ukuran mahkota gigi insisivus lebih tinggi dibandingkan gigi molar yang lebih dekat dengan mukosa pipi sehingga meminimalisir resiko robeknya mukosa tikus dan lokasi pencabutannya yang mudah serta antara insisivus kiri maupun kanan tidak ada perbedaan yang signifikan jadi bisa dilakukan pencabutan pada gigi insisivus kiri mau insisivus kanan mandibula. Sebelum

dilakukan pencabutan, melakukan aplikasi alkohol 70% terlebih dahulu pada area yang akan diinjeksi dan melakukan anestesi injeksi intra peritoneal dengan ketamine 0,3-0,4 ml. Setelah itu dilakukan pencabutan gigi tikus dengan arah sejajar dengan soket gignya secara hati-hati dengan kekuatan yang sama untuk meminimalkan risiko patahnya gigi tikus. Pencabutan gigi dilakukan dengan menggunakan alat pisau model dan *needle holder* yang telah dimodifikasi. Modifikasi pisau model 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. Selanjutnya, 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, dilakukan pencabutan gigi dan pengambilan sampel rahang pada hari yang berbeda, sebagai berikut:

- i. Kelompok K7 hari ke-7 : Pada hari ke-7, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.
- ii. Kelompok K14 hari ke-14 : Pada hari ke-14, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.
- iii. Kelompok K21 hari ke-21 : Pada hari ke-21, 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, dilakukan pencabutan gigi dan pengambilan sampel rahang pada hari yang berbeda, sebagai berikut:

- i. Kelompok P7 hari ke-7 : Pada hari ke-7, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.
- ii. Kelompok P14 hari ke-14 : Pada hari ke-14, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.
- iii. Kelompok P21 hari ke-21 : Pada hari ke-21, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.

4.7.7 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-7, 14, dan 21 untuk melihat jumlah sel fibroblas di jaringan granulasi soket gigi hewan coba. Dilakukan anestesi pada tikus masing-masing kelompok

perlakuan dengan menggunakan injeksi ketamin 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 55-80⁰C 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 50⁰C.

- 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 fibroblas

Perhitungan jumlah sel fibroblas daerah luka pada sediaan mikroskopik dilakukan menggunakan mikroskop digital Olympus dengan perbesaran 400 kali pada satu lapang pandang untuk setiap preparat jaringan, kemudian dibuat foto preparat. Sampel pada sediaan dibagi menjadi 5 lapang pandang kemudian fibroblas dihitung di tiap lapang pandang (Sorongan dkk., 2015).

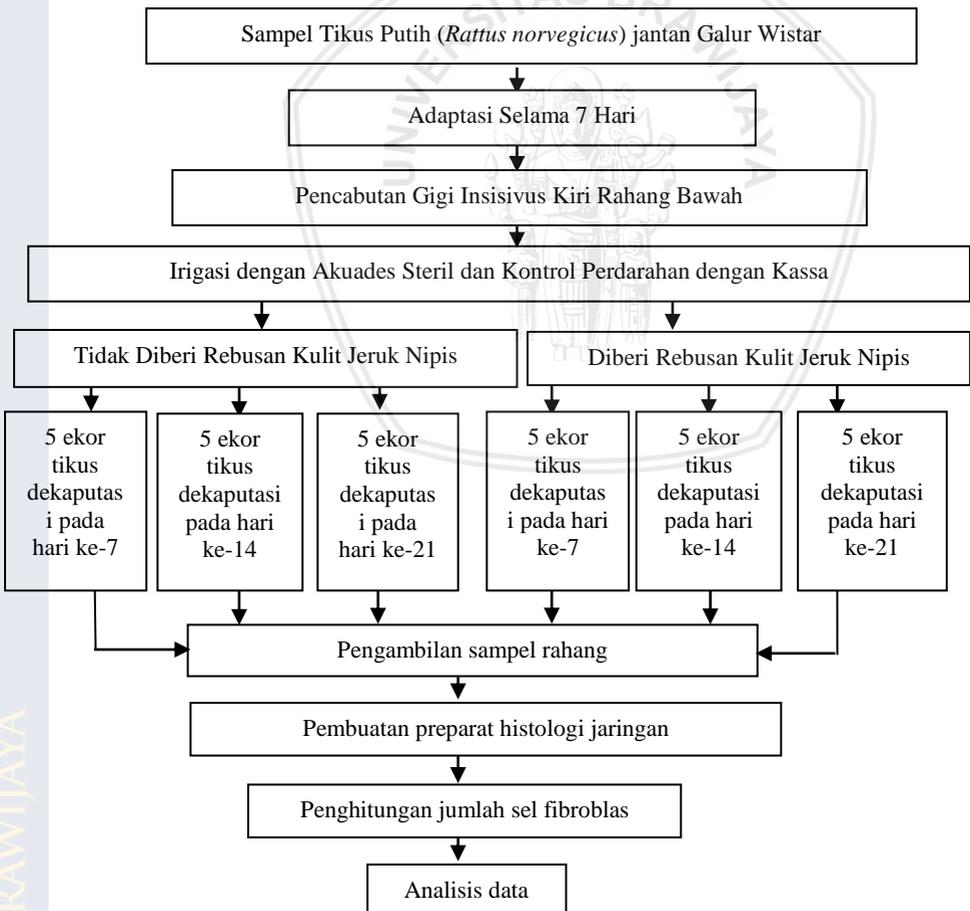
4.8 Analisis Data

Hasil pengukuran jumlah sel fibroblas pada tikus kontrol dan perlakuan dianalisa dengan menggunakan uji statistik. Langkah-langkah uji hipotesis komparatif dan korelatif adalah sebagai berikut. Uji statistik pertama yaitu uji normalitas yang bertujuan untuk menginterpretasikan apakah suatu data memiliki sebaran atau distribusi normal atau tidak, karena pemilihan penyajian data dan uji hipotesis bergantung dari normal tidaknya distribusi data. Uji

normalitas dapat menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena sampel ≤ 50 . Uji homogenitas dapat menggunakan uji *Levene*. Apabila data yang diperoleh berdistribusi normal dan homogenitas ragam terpenuhi, maka dilakukan uji Oneway ANOVA, kemudian dilanjutkan dengan uji Post Hoc dan Korelasi Pearson. Bila data penilaian tidak berdistribusi normal dan varian data tidak homogen, maka dilakukan uji Mann Whitney sebagai uji lanjutan Kruskal Wallis (Swarjana, 2016).

4.9 Alur Penelitian

Gambar 4.9 Skema Alur Penelitian



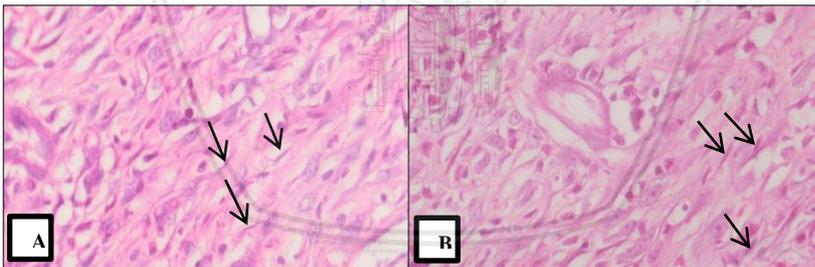
BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil penelitian

Pada kelompok kontrol hari ke-7 (K7) menunjukkan hasil perhitungan sel fibroblas yaitu didapatkan rata-rata sel fibroblas setiap lapang pandang adalah 20,44 sel. Pada kelompok perlakuan hari ke-7 (P7) menunjukkan hasil perhitungan fibroblas yaitu didapatkan rata-rata sel fibroblas setiap lapang pandang adalah 38,96 sel. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah sel fibroblas pada kelompok perlakuan P7 memiliki perhitungan tertinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol K7. Hasil scan preparat histologi dengan *software* OlyVIA pada kelompok K7 dan P7 tampak pada gambar 5.1.

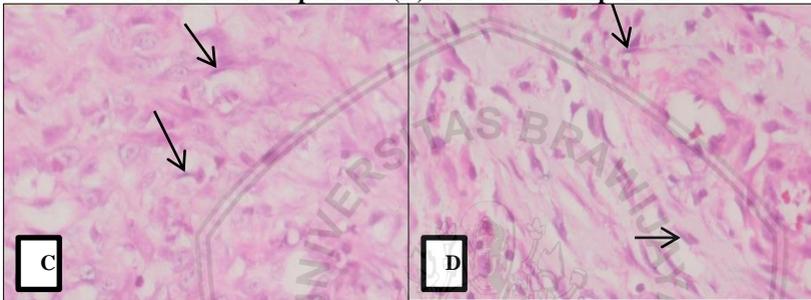
Gambar 5.1 Jaringan ikat soket tikus putih pasca pencabutan gigi setelah 7 hari perlakuan dengan pewarnaan HE perbesaran 400 kali. (A) Fibroblas kelompok K7 (B) Fibroblas kelompok P7



Pada kelompok kontrol hari ke-14 (K14) menunjukkan hasil perhitungan sel fibroblas yaitu didapatkan rata-rata sel fibroblas setiap lapang pandang adalah 6,16 sel. Pada kelompok perlakuan hari ke-14 (P14) menunjukkan hasil perhitungan fibroblas yaitu didapatkan rata-rata sel fibroblas setiap lapang pandang adalah 13,44

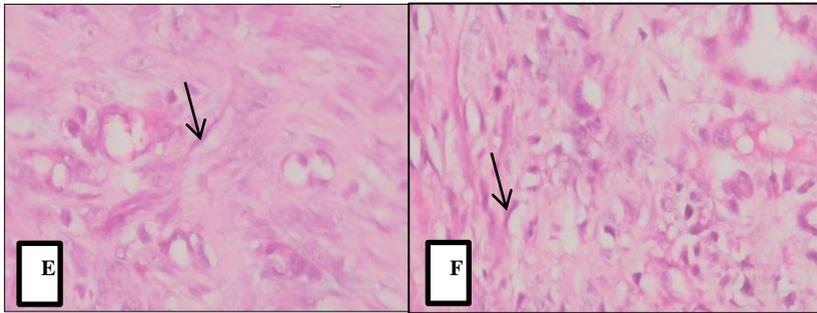
sel. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah sel fibroblas pada kelompok perlakuan P14 memiliki perhitungan tertinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol K14. Terjadi penurunan rata-rata sel fibroblas dari hari ke-7 menuju hari ke-14 pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hasil scan preparat histologi dengan *software* OlyVIA pada kelompok K14 dan P14 tampak pada gambar 5.2.

Gambar 5.2 Jaringan ikat soket tikus putih pasca pencabutan gigi setelah 14 hari perlakuan dengan pewarnaan HE perbesaran 400 kali. (C) Fibroblas kelompok K14 (D) Fibroblas kelompok P14



Pada kelompok kontrol hari ke-21 (K21) menunjukkan hasil perhitungan sel fibroblas yaitu didapatkan rata-rata sel fibroblas setiap lapang pandang adalah 2,96 sel. Pada kelompok perlakuan hari ke-21 (P21) menunjukkan hasil perhitungan fibroblas yaitu didapatkan rata-rata sel fibroblas setiap lapang pandang adalah 5,36 sel. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah sel fibroblas pada kelompok perlakuan P21 memiliki perhitungan tertinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol K21. Terjadi penurunan rata-rata sel fibroblas dari hari ke-14 menuju hari ke-21 pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hasil scan preparat histologi dengan *software* OlyVIA pada kelompok K21 dan P21 tampak pada gambar 5.3.

Gambar 5.3 Jaringan ikat soket tikus putih pasca pencabutan gigi setelah 21 hari perlakuan dengan pewarnaan HE perbesaran 400 kali. (E) Fibroblas kelompok K21 (F) Fibroblas kelompok P21



Hasil perhitungan rata-rata jumlah sel fibroblas kemudian dianalisis standar deviasi pada setiap kelompok. Hasil perhitungan rata-rata jumlah sel fibroblas setiap lapang pandang dan standar deviasi dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 rata-rata jumlah sel fibroblas (sel) pada jaringan ikat soket gigi tikus putih dan standar deviasi

Kelompok	Mean (sel)	Standar Deviasi
Kelompok kontrol hari ke-7 (K7)	20.4400	7.26966
Kelompok kontrol hari ke-14 (K14)	6.1600	3.16986
Kelompok kontrol hari ke-21 (K21)	2.9600	1.05262

Kelompok perlakuan hari ke-7 (P7)	38.9600	5.07425
Kelompok perlakuan hari ke-14 (P14)	13.4400	4.27878
Kelompok perlakuan hari ke-21 (P21)	5.3600	1.73436

Pada tabel 5.1 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah sel fibroblas pasca pencabutan gigi tikus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada hari yang sama (hari ke-7, hari ke-14, dan hari ke-21).

5.2 Analisis Data

Data dari hasil penelitian mengenai perubahan jumlah fibroblas dianalisis menggunakan program analisis statistik pada komputer menggunakan uji statistik *One Way Anova*. Sebelum dilakukan analisis data dengan uji *One Way Anova*, maka harus memenuhi syarat terlebih dahulu yaitu populasi yang akan diuji terdistribusi normal, varian dari populasi homogen, dan sampel tidak berhubungan dengan lainnya, maka dari itu dibuktikan dengan menggunakan uji normalitas dan homogenitas ragam.

5.2.1 Uji Normalitas Data

Uji *Saphiro-Wilk* digunakan dalam menguji normalitas data karena sampel yang digunakan kurang dari 50. Uji normalitas terpenuhi jika nilai signifikansi hasil perhitungan lebih besar dari $p=0,05$. Dengan menggunakan *software* didapatkan nilai signifikansi

sebesar 0,959. Nilai signifikansi yang didapatkan lebih besar daripada $p=0,05$ ($0,959>0,05$). Sehingga dari pengujian normalitas dapat disimpulkan bahwa uji normalitas telah terpenuhi dan data terdistribusi normal.

5.2.2 Uji Homogenitas Varian

Uji homogenitas varian yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan uji *Levene*. Pada uji homogenitas *Levene*, suatu data dapat dikatakan memiliki varian yang sama apabila memiliki nilai signifikansi $p>0,05$. Pada uji homogenitas didapatkan nilai signifikansi 0,618 sehingga dapat disimpulkan bahwa data tersebut homogen. Dengan demikian analisis data dapat dilakukan dengan menggunakan uji *One Way Anova*.

5.2.3 Uji *One Way Anova*

Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas ragam telah terpenuhi, selanjutnya dilakukan uji *One Way Anova* yang bertujuan untuk mengetahui jumlah fibroblas antar kelompok. Didapatkan hasil pengujian *One Way Anova* didapatkan nilai signifikansi 0,000. Nilai signifikansi yang didapatkan dari proses perhitungan lebih kecil daripada $p=0,05$ ($0,000<0,05$). Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan jumlah fibroblas antar kelompok penelitian setelah dilakukan pencabutan gigi dikarenakan ada kelompok yang diberi perlakuan dan tidak diberi perlakuan.

5.2.4 Uji *Post-Hoc Multiple Comparison*

Analisis mengenai perbedaan rata-rata dari keenam kelompok dapat diketahui melalui uji *Post-Hoc Multiple*

Comparison. Metode *Post-Hoc* yang digunakan adalah *Turkey HSD*.

Pada uji ini, suatu data dikatakan berbeda secara bermakna apabila nilai signifikansi $p < 0,05$ serta pada interval kepercayaan 95%.

Berdasarkan hasil uji HSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol K7 dengan kelompok kontrol K14, kelompok kontrol K7 dengan kelompok kontrol K21, kelompok perlakuan P7 dengan kelompok perlakuan P14, kelompok perlakuan P7 dengan kelompok perlakuan P21, kelompok kontrol K7 dengan kelompok perlakuan P7. Hal tersebut dikarenakan nilai signifikansi $p = 0,000 < 0,05$.

Ada beberapa kelompok yang menunjukkan hasil tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompoknya, antara lain kelompok kontrol K14 dengan kelompok perlakuan P14 karena $p = 0,118 > 0,05$. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol K21 dengan kelompok perlakuan P21 karena $p = 0,947 > 0,05$. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol K14 dengan kelompok perlakuan K21 karena $p = 0,844 > 0,05$. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol P14 dengan kelompok perlakuan P21 karena $p = 0,065 > 0,05$. Pengujian ini dapat disimpulkan bahwa rebusan kulit jeruk nipis berpengaruh terhadap jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus Wistar.

5.2.5 Uji Korelasi *Pearson*

Korelasi *Pearson* digunakan dengan tujuan untuk mengukur kekuatan hubungan dua variabel atau lebih dalam skala interval. Dalam hal ini, uji korelasi *Pearson* digunakan untuk membuktikan

korelasi antara pemberian rebusan kulit jeruk nipis terhadap jumlah fibroblas.

Signifikansi hubungan dua variabel dapat dianalisis dengan ketentuan, jika probabilitas atau signifikansi $p < 0,05$, maka hubungan kedua variabel signifikan. Jika probabilitas atau signifikansi $p > 0,05\%$, maka hubungan kedua variabel tidak signifikan.

Hasil dari uji korelasi *Pearson* didapatkan koefisien korelasi sebesar 0,825 (negatif) pada kelompok kontrol (tanpa diberi rebusan kulit jeruk nipis) dengan nilai signifikansi sebesar 0,000. Koefisien korelasi pada kelompok perlakuan (diberi rebusan kulit jeruk nipis) sebesar 0,930 (negatif) dengan nilai signifikansi sebesar 0,000.

Signifikansi kurang dari 0,05 menunjukkan bahwa terdapat hubungan atau korelasi yang signifikan antara pemberian rebusan kulit jeruk nipis dengan jumlah fibroblas. Koefisien negatif menunjukkan hubungan yang terbentuk negatif, yaitu semakin bertambah hari perlakuan maka akan terjadi penurunan jumlah sel fibroblas.

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini mengamati jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi. Rata-rata jumlah sel fibroblas tertinggi terdapat pada kelompok P7 (kelompok perlakuan hari ke-7), sedangkan rata-rata jumlah sel fibroblas yang terendah terdapat pada kelompok K21 (kelompok kontrol hari ke-21). Penurunan jumlah fibroblas yang terjadi dari hari ke-7 hingga hari ke-21 menunjukkan bahwa terjadinya kemajuan penyembuhan luka. Hal ini didukung oleh teori bahwa jumlah sel fibroblas akan mencapai puncaknya pada hari ke-7 dan semakin bertambahnya hari, proliferasi sel fibroblas maupun pembuluh darah baru akan semakin berkurang yang menandakan bahwa telah terjadi kemajuan proses penyembuhan luka, sehingga jumlah sel fibroblas pada hari ke-7 memiliki jumlah yang tertinggi dan jumlah sel fibroblas pada hari ke-21 memiliki jumlah yang terendah (Kumar *et. al.*, 2015).

Kelompok K7 dengan P7 merupakan perbandingan jumlah sel fibroblas pada luka pasca pencabutan gigi antara kelompok kontrol dan perlakuan pada hari ke-7. Perbandingan kelompok K7 dan P7 menunjukkan rata-rata jumlah sel fibroblas pada kelompok K7 lebih rendah dibandingkan kelompok P7 dan perbedaan tersebut bermakna. Hal ini dikarenakan kelompok P7 dipengaruhi oleh pemberian rebusan kulit jeruk nipis yang memiliki kandungan fitokimia seperti flavonoid yang berfungsi sebagai immunomodulator dalam mengaktivasi makrofag yang mempengaruhi produksi faktor-

faktor pertumbuhan seperti TGF- β , PDGF, FGF yang berperan penting terhadap peningkatan proliferasi sel fibroblas (Duarte *et. al.*, 2009).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan perbedaan jumlah sel fibroblas yang bermakna antar kelompok kontrol pada hari yang berbeda, dan antar kelompok perlakuan pada hari yang berbeda antara lain kelompok K7 dengan K14, K7 dengan K21, P7 dengan P14, P7 dengan P21. Perbandingan tersebut menunjukkan bahwa rata-rata jumlah sel fibroblas tertinggi antar kelompok kontrol pada hari yang berbeda adalah kelompok K7, sedangkan rata-rata jumlah sel fibroblas tertinggi antar kelompok perlakuan pada hari yang berbeda adalah P7. Perbedaan yang bermakna tersebut sesuai dengan teori bahwa pada proses penyembuhan luka, proliferasi sel fibroblas akan mencapai puncaknya pada hari ke-7 (Basuki dkk., 2014).

Ada beberapa kelompok setelah dibandingkan memiliki perbedaan yang tidak bermakna. Kelompok tersebut antara lain kelompok K14 dengan K21, kelompok P14 dengan P21. Hasil tersebut menunjukkan rata-rata jumlah sel fibroblas dari hari ke-14 hingga hari ke-21 mengalami penurunan tetapi tidak bermakna baik pada kelompok kontrol (tidak diberi rebusan kulit jeruk nipis) maupun kelompok perlakuan (diberi rebusan kulit jeruk nipis). Pada kelompok K14 dan K21 menunjukkan terjadinya penurunan jumlah sel fibroblas secara fisiologis tanpa adanya pengaruh dari pemberian rebusan kulit jeruk nipis, berbeda dengan kelompok P14 dan P21 yang menunjukkan penurunan jumlah sel fibroblas yang dipengaruhi oleh pemberian rebusan kulit jeruk nipis. Penurunan jumlah sel

fibroblas menunjukkan bahwa proses penyembuhan luka telah mengalami kemajuan, karena secara progresif fibroblas akan lebih mengambil fenotip sintesis sehingga terjadi peningkatan deposisi matriks ekstraseluler dalam proses perbaikan jaringan ikat pada luka. Deposisi matriks ekstraseluler pada kelompok perlakuan lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol. Matriks ekstraseluler ini sangat penting untuk memberikan kekuatan luka pada area penyembuhan luka (Kumar *et. al.*, 2015).

Ada beberapa kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada hari yang sama setelah dibandingkan memiliki perbedaan yang tidak bermakna. Kelompok tersebut antara lain kelompok K14 dengan P14, kelompok K21 dengan P21. Hasil tersebut menunjukkan bahwa rata-rata jumlah sel fibroblas pada kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol pada hari yang sama tetapi perbedaan tersebut tidak bermakna. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dikarenakan kelompok perlakuan telah dipengaruhi oleh pemberian rebusan kulit jeruk nipis yang didalamnya memiliki kandungan flavonoid, flavonoid ini yang berperan dalam mengaktivasi pemberian sinyal intraseluler yang penting dalam proliferasi sel fibroblas. Apabila jalur pemberian sinyal intraseluler ini telah aktif, maka sensitivitas sel makrofag untuk menghasilkan faktor pertumbuhan juga akan meningkat. Sehingga faktor-faktor pertumbuhan seperti FGF, PDGF, TGF- β tersebut akan mempengaruhi peningkatan proliferasi sel fibroblas (Duarte *et. al.*, 2009). Jika pada kelompok perlakuan jumlah sel fibroblas lebih banyak, maka pembentukan kolagen juga akan lebih

banyak. Selain itu, rebusan kulit jeruk nipis mengandung vitamin C berperan penting terhadap penyembuhan luka melalui kemampuannya dalam meningkatkan produksi kolagen dengan cara menghidroksi lisin dan prolin. Fungsi vitamin C dapat distabilkan oleh *rutin* yang termasuk golongan *flavones* dari *flavonoid* (Kurnia dkk., 2014). Pembentukan kolagen ini memberikan pengaruh terhadap perbaikan jaringan pada luka (Mitchell dan Richard, 2008).

Uji korelasi *Pearson* pada penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah sel fibroblas pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada hari ke-7, ke-14, ke-21 memiliki hubungan yang kuat, yaitu dari hari ke-7 sampai hari ke-21 mengalami penurunan. Hal tersebut sesuai dengan teori bahwa pada hari ke-7 akan terjadi puncak proses proliferasi fibroblas dan setelah hari ke-7 sel fibroblas sudah mulai meninggalkan jaringan granulasi, pembuluh darah juga mulai berkurang dan deposisi kolagen akan bertambah banyak untuk memperkuat jaringan parut pada luka (Kumar *et. al.*, 2015).

Hasil penelitian di atas semakin menguatkan hipotesis penelitian ini bahwa terdapat pengaruh pemberian rebusan kulit jeruk nipis terhadap jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.

BAB VII

PENUTUP

7.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

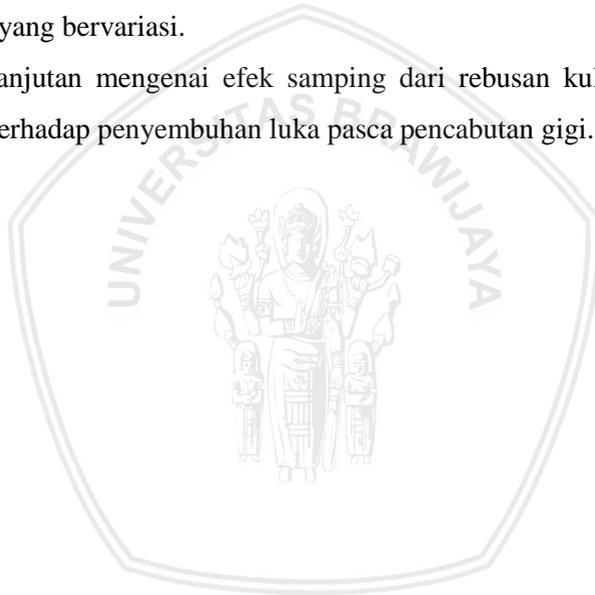
1. Terdapat pengaruh pemberian rebusan kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia swingle*) terhadap jumlah sel fibroblas pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.
2. Jumlah sel fibroblas yang terdapat pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi pada hari ke-7 menunjukkan rata-rata jumlah sel fibroblas tertinggi pada kelompok yang diberi rebusan kulit jeruk nipis dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi rebusan kulit jeruk nipis.
3. Jumlah sel fibroblas yang terdapat pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi pada hari ke-14 menunjukkan rata-rata jumlah sel fibroblas tertinggi pada kelompok yang diberi rebusan kulit jeruk nipis dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi rebusan kulit jeruk nipis.
4. Jumlah sel fibroblas yang terdapat pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi pada hari ke-21 menunjukkan rata-rata jumlah sel fibroblas tertinggi pada kelompok yang diberi rebusan kulit jeruk nipis dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi rebusan kulit jeruk nipis.
5. Perbandingan jumlah sel fibroblas pada semua kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menunjukkan rata-rata jumlah sel fibroblas tertinggi pada kelompok perlakuan di hari ke-7,

sedangkan rata-rata jumlah sel fibroblas terendah pada kelompok kontrol di hari ke-21.

7.2 Saran

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

1. Pada penelitian lanjutan disarankan untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh rebusan kulit jeruk nipis terhadap jumlah sel fibroblas pada penyembuhan luka pencabutan gigi dengan konsentrasi yang bervariasi.
2. Penelitian lanjutan mengenai efek samping dari rebusan kulit jeruk nipis terhadap penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.



DAFTAR PUSTAKA

- Adina A.B., Handoko F. F., Setyarini I.I., dan Sulistyorini E. 2014. *Jeruk Nipis (Citrus aurantiifolia)*. CCRC: Farmasi UGM. (Online) (http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=183, diakses 27 Februari 2017).
- Agusni, A. 2015. *Fisika Dasar Tentang Penerapan Hukum Archimedes*. Aceh: Politeknik Indonesia Venezuela.
- Andersson L., Kahnberg K. E., and Pogrel M. A. 2010. *Oral and Maxillofacial Surgery*, 1st Edition. USA: Blackwell.
- Anna K. 2012. *Khasiat dan Manfaat Jeruk Nipis*. Edisi 1. Stomata. Surabaya.
- Ardiana T., Rizkia A., dan Dian M. 2015. Efektivitas Pemberian Gel Binahong (*Anredera cordifolia*) 5% Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia cobaya*). *ODONTO Dental Journal*. Vol. 2(1): 64-70.
- Basuki S., Mintaroem K., Sarwono I., Noramahmawati E., Anita K.W., Bektu R. S., dkk. 2015. *Dasar-Dasar Patologi Umum dan Pemeriksaan Patologi*. Edisi 1. Malang: Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, hal. 49-56.
- Choi Soo-Youn, Ko Hee-Chul, Ko Soo-Youn, Hwang Joon-Ho, Park J.G., Kang S. H., *et. al.* 2007. Correlation between Flavonoid Content and the No Production Inhibitory Activity of Peel Extracts from Various Citrus Fruits, *Journal of Biol. Pharm. Bull.* Vol. 30(4): 772-778.
- Dorland dan Newman W.A. 2011. *Kamus Kedokteran Dorland*. Edisi 28. Jakarta: EGC.

- Duarte T.L., Cooke M. S., and Jones G.D.D. 2009. Gene expression profiling reveals new protective roles for vitamin C in human skin cells. *Free Radical Biology and Medicine*. Vol. 46 : 78-87.
- Ebere Okwu D. 2008. Citrus fruits: A rich source of phytochemicals and their roles in human health. *Int. J Chem Sci*. Vol. 6(2): 451 (Online) ([http://www.sadgurupublications.com/ContentPaper/2008/1_6\(2\)2008.pdf](http://www.sadgurupublications.com/ContentPaper/2008/1_6(2)2008.pdf) diakses 16 Januari 2017).
- 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. 73-76.
- Harty, F.J. dan R. Ongston. 1995. *Kamus Kedokteran Gigi*. Jakarta: EGC.
- Hupp J.R., Ellis E., and Tucker M.R. 2014. *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery*, 6th Edition. C.V. Mosby Company St. Louis Missouri. Page, 91-92.
- Hutagalung Bernat S.P., Anindita Pritartha S., dan Payung H. 2015. Gambaran Kontraindikasi Pencabutan Gigi di RSGM UNSRAT Tahun 2014. *Jurnal Kedokteran Komunitas dan Tropik*. Vol. 3(3): 170-179.
- Indah S.Y., dan Supriyanto B. 2013. *Keajaiban Kulit Buah : Tuntas Penyakit*. Surabaya: Tibbun Media. Hal. 52-9.
- Junqueira, L. C. Carneiro, J. dan Kelly, R.O. 2013. *Histologi Dasar*, Edisi 10. Jakarta : EGC.
- Kumar V., Abbas A. K., and Aster J. C. 2015. *Robbins and Cotran : Pathologic Basis of Disease*, 9th Edition. Philadelphia: Elsevier Saunders.

- Kurnia P.A., Ardhiyanto H.B., dan Suhartini. 2015. Potensi Ekstrak The hijau (*Camelia sinensis*) Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Fibroblas Soket Pasca Pencabutan Gigi Pada Tikus Wistar. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. Vol. 3(1): 122-127.
- Lande R., Kepel B. J., dan Siagian K. V. 2015. Gambaran Faktor Risiko Dan Komplikasi Pencabutan Gigi di RSGM PSPDG-FK Unsrat. *Jurnal e-Gigi (eG)* Vol. 3(2).
- Li Bin, C.H. James, and Wang. 2011. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing: Force generation and measurement. *Journal of Tissue Viability*. Vol. 20, page 108-120.
- Mandalari G., Bennett RN., Bisignano G., Saija A., Dugo G., Lo Curto RB., et al. 2006. Characterization of flavonoids and pectins from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a major byproduct of essential oil extraction. *J Agric Food Chem*. Vol. 54(1): 197–203. (Online) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16390199> diakses 16 Januari 2017).
- Mitchell dan Richard N. 2008. *Buku Saku Dasar Patologis Penyakit*. Edisi 7. Jakarta: EGC.
- Neck J.V., Tuk B., Barritault D., and Tong M. 2012. *The Book Tissue Regeneration- From Basic Biology To Clinical Application*. ISBN 978-953-51-0387-5. Heparan Sulfate Proteoglycan Mimetics Promote Tissue Regeneration, an overview 4, page 69-92.
- Neldawati, Ratnawulan, dan Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi Dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar Of Physics*. Vol. 2, hal. 76-83.
- Ngatidjan. 2006. *Metode Laboratorium Dalam Toksikologi*. Yogyakarta: Penerbit Bagian Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada.

- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Petterson and Larry. 2012. *Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*. 3rd Edition. Elsevier: New York, page 1-6.
- Purwanti N., U. Adindaputri Z., dan Wahyudi I. A. 2013. Pengaruh Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia Swingle*) Konsentrasi 10% Terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*. *Jurnal FKG Universitas Gadjah Mada* Vol. 20 (2).
- Puspitasari Anita Dwi dan Prayogo Lean Syam. 2016. Pengaruh Waktu Perebusan Terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Karsen (*Muntingia calabura*). *Inovasi Teknik Kimia*, vol.1 (2). Hal. 104-108.
- Rajavel Varatharajan, Sattar Munawar Z. A., Abdulla Mahmood A., Kassim Normadiyah M., and Abdullah Nor A.. 2012. *Chronic Administration of Oil Palm (*Elaeis guineensis*) Leaves Extract Attenuates Hyperglycaemic-Induced Oxidative Stress and Improves Renal Histopathology and Function in Experimental Diabetes*, Academic Editor: Shrikant Anant, (Online) (<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2012/195367/> diakses 09 Mei 2017).
- Reinke J.M and Sorg H. 2012. Wound Repair and Generation. *Eur Surg. Res*. Vol. 49(1): page 35-43.
- Ridwan E. 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan. *J Indon Med Assoc*.Vol. 63 (3), Page 112-116.
- Sjamsuhidayat and Jong W. 2010. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Edisi 3. Jakarta: EGC.

- Sorongan R., Pangemanan D., dan Siagian K. 2015. Efektivitas Perasan Daun Pepaya Terhadap Aktivitas Fibroblas Pasca Pencabutan Gigi pada Tikus Wistar Jantan. *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*. Vol. 4(4): hal. 52-57.
- Supranto J. 2007. *Statistik untuk Pemimpin Berwawasan Global*. Edisi 2. Jakarta: Penerbit Salemba Empat, hal. 70-4.
- Swarjana I. 2016. *Statistik Kesehatan*. Edisi 1. Yogyakarta: ANDI.
- Wardani R. P. 2015. *Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia (Christm.) Swingle) Terhadap Penyembuhan Ulkus Traumatik pada Rattus norvegicus Strain Wistar*. UNMUH SURAKARTA.
- Widyastomo, Wulan K.A., dan Sari I.P. 2013. Pengaruh Jus Buah Belimbing Manis (Averrhoa Carambola Linn.) Terhadap Peningkatan Jumlah Fibroblas Pada Soket Tikus Strain Wistar Pasca Ekstraksi Gigi. *Jurnal Prodentia*. Vol. 1(2): 62-70
- Young A and Mcnaught C.E. 2011. The Physiology Of Wound Healing, Protein. *Surgery (Oxford)*. Vol. 13(1): 31-34.
- Zenia A.U., Purwanti N., dan Wahyudi I.A. 2013. Pengaruh Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) Konsentrasi 10% Terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*. *Maj. Ked. Gi. UGM*. Vol. 20(2): 126-131.