



**PENGARUH GEL EKSTRAK ETANOL BIJI KEDELAI  
(*Glycine max* (L.) Merill) TERHADAP JUMLAH  
MAKROFAG PADA PENYEMBUHAN ULKUS  
TRAUMATIK MUKOSA LABIAL TIKUS PUTIH**

**SKRIPSI  
UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN  
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

**OLEH:**

**ERNI WIDHI ASTUTI  
155070400111034**

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

**2019**



**PENGARUH GEL EKSTRAK ETANOL BIJI KEDELAI  
(*Glycine max* (L.) Merill) TERHADAP JUMLAH  
MAKROFAG PADA PENYEMBUHAN ULKUS  
TRAUMATIK MUKOSA LABIAL TIKUS PUTIH**

**SKRIPSI  
UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN  
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

**OLEH:**

**ERNI WIDHI ASTUTI**

**15507040011034**

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
2019**

**HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI**

**PENGARUH GEL EKSTRAK ETANOL BIJI KEDELAI  
(*Glycine max* (L.) Merrill) TERHADAP JUMLAH MAKROFAG  
PADA PENYEMBUHAN ULKUS TRAUMATIK MUKOSA  
LABIAL TIKUS PUTIH**

Oleh:  
**ERNI WIDHI ASTUTI**  
**NIM: 155070400111034**

Telah diujikan di depan Majelis Penguji pada tanggal 27  
Juni 2019 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana dalam Bidang Kedokteran Gigi

Menyetujui,  
Pembimbing

**Dr. drg. Nur Permatasari, MS**  
**NIP. 196010051991032001**

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

**drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp.KG**  
**NIP. 198004092008122004**

**PERNYATAAN ORISINILITAS 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,

Yang menyatakan,

Erni Widhi Astuti

NIM. 155070400111034



## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas rahmat, karunia, dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Gel Ekstrak Etanol Biji Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) terhadap Jumlah Makrofag pada Penyembuhan Ulkus Traumatik Mukosa Labial Tikus Putih”**. Skripsi ini diajukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Gigi. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak dapat terselesaikan tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. drg. R. Setyohadi, M.S selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
2. drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp.KG selaku Kepala Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
3. Dr. drg. Nur Permatasari, M.S selaku Wakil Dekan I Bidang Pendidikan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya dan selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan bimbingan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
4. drg. Nenny Prasetyaningrum, M.Ked selaku dosen penguji 1 yang memberikan saran dan bimbingan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. drg. Miftakhul Cahyati, Sp.PM selaku dosen penguji 2 yang memberikan saran dan bimbingan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
6. drg. Diena Fuadiyah, M.Si selaku penanggungjawab tim skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
7. Seluruh Dosen dan Staff Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya atas segala ilmu yang telah diberikan kepada penulis.
8. Bapak dan Ibu serta adik-adik (Devi Widhi Andani dan Lusi Widhi Aningrum) yang selalu memberikan doa dan motivasi setiap harinya kepada penulis.
9. Teman-teman kelompok Departemen Farmakologi (Dinda Pratiwi, Dina Kamelia, Devy Nur Fauziyah, dan Novita Ayu Prabawani) sebagai *partner* yang memberi semangat.

10. Teman-temanku yang selalu memberi semangat, masukan, dan motivasi bagi penulis serta teman-teman Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya angkatan 2015.

11. Semua pihak yang telah mendukung penulis, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat-Nya dan membalas semua amal kebaikan mereka. Namun demikian, penulis sangat menyadari, bahwa penyusunan skripsi ini masih sangat jauh dari sempurna. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang membangun akan penulis terima.

Malang, 27 Juni 2019

Penulis



**ABSTRAK**

Erni Widhi Astuti, NIM : 155070400111034, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang, tanggal 27 bulan Juni tahun 2019, “**Pengaruh Gel Ekstrak Etanol Biji Kedelai (*Glycine max* (L.) Merill) terhadap Jumlah Makrofag Pada Penyembuhan Ulkus Traumatik Mukosa Labial Tikus Putih**”, Pembimbing: Dr. drg. Nur Permatasari, MS.

Ulkus traumatik merupakan ulkus pada rongga mulut yang disebabkan oleh trauma. Sel makrofag pada penyembuhan luka berperan dalam fagositosis, sekresi sitokin dan *growth factor*. Gel ekstrak etanol biji kedelai mengandung isoflavon yang dapat meningkatkan aktivitas makrofag dan TGF-  $\beta$ . Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merill) berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih. Metode yang digunakan adalah *true experimental* menggunakan *Randomized Post Test Only Controlled Group design* secara *in vivo*. Penelitian ini dibagi menjadi 8 kelompok dengan 2 *time series* yaitu 2 dan 6 hari. Dosis gel ekstrak etanol biji kedelai yang digunakan yaitu 0%, 40%, 60%, dan 80%. Setelah pengorbanan, jaringan ulkus diambil dan dilakukan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*, kemudian sel makrofag diamati menggunakan mikroskop digital. Hasil *Post Hoc Tukey* menunjukkan bahwa gel ekstrak etanol biji kedelai dengan konsentrasi 80% secara signifikan berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih dibandingkan kelompok lain pada hari ke-2 dan 6. Makrofag mencapai puncak pada hari ke-2 dan menurun pada hari ke-6. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merill) berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih dan konsentrasi 80% efektif untuk penyembuhan ulkus traumatik.

**Kata Kunci** : Gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merill), makrofag, ulkus traumatik.



## ABSTRACT

Erni Widhi Astuti, NIM : 155070400111034, Dentistry Study Programs, Faculty of Dentistry University of Brawijaya Malang, June 27<sup>th</sup>, 2019, "**Effect of Soybean Seeds (*Glycine max* (L.) Merill) Ethanol Extract Gel toward The Number of Macrophages in Labial Mucosa Traumatic Ulcer Healing of White Rats**", Supervisor: Dr. drg. Nur Permatasari, MS

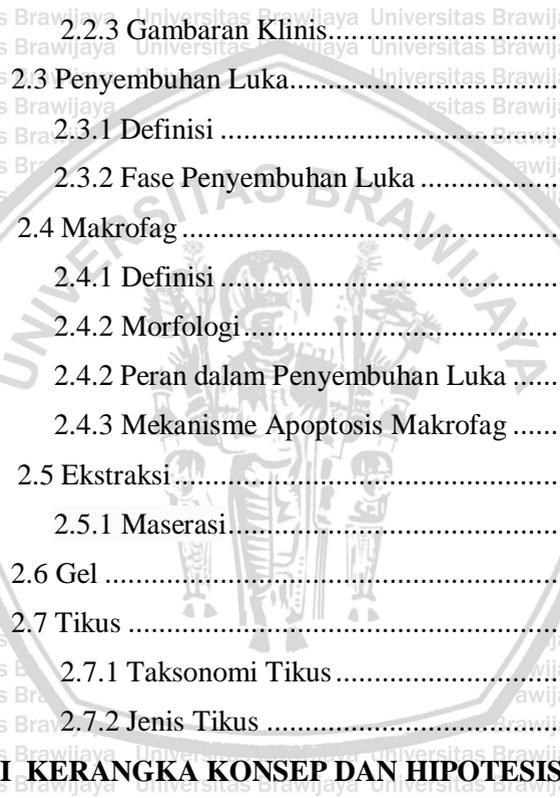
Traumatic ulcers are oral ulcers caused by trauma. Macrophage cells in wound healing play a role in phagocytosis, cytokine secretion and growth factor. The soybean seeds ethanol extract gel contains isoflavones which can increase macrophage activity and TGF- $\beta$ . The aim of this study was to determine whether the soybean seeds (*Glycine max* (L.) Merill) ethanol extract gel had an effect on the number of macrophages in labial mucosa traumatic ulcer healing of white rats. The method used is *true experimental* using *Randomized Post Test Only Controlled Group design in vivo*. This study was divided into 8 groups with 2 time series, 2 and 6 days. The doses of ethanol extract of soybean seeds used were 0%, 40%, 60%, and 80%. After sacrifice, the ulcer tissue was taken and *Hematoxylin Eosin* staining was performed, then macrophage cells were observed using an digital microscope. The *Post Hoc* Tukey results showed that 80% soybean seeds ethanol extract gel with a significant effect on the number of macrophages in labial mucosa traumatic ulcer healing of white rats compared to other groups on days 2 and 6. Macrophages reach a peak on day 2 and decrease on day 6. Based on the results of the study, it can be concluded that the soybean seeds (*Glycine max* (L.) Merill) ethanol extract gel affects the number of macrophages in labial mucosa traumatic ulcer healing of white rats and an 80% concentration effective for healing traumatic ulcers.

Keywords: Soybean seeds (*Glycine max* (L.) Merill) ethanol extract gel, macrophages, traumatic ulcers.



**DAFTAR ISI**

	Hal:
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI .....</b>	<b>ii</b>
<b>PERNYATAAN ORISINILITAS SKRIPSI.....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH.....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum .....	4
1.3.2 Tujuan Khusus .....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademis .....	5
1.4.2 Manfaat Praktis .....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Kedelai .....	7
2.1.1 Asal Usul.....	7
2.1.2 Taksonomi .....	7



2.1.3 Morfologi ..... 8

2.1.4 Kandungan Kimia Biji Kedelai ..... 10

2.1.5 Devon 1 ..... 14

2.2 Ulkus Traumatik ..... 15

2.2.1 Definisi ..... 15

2.2.2 Etiologi ..... 16

2.2.3 Gambaran Klinis ..... 19

2.3 Penyembuhan Luka ..... 20

2.3.1 Definisi ..... 20

2.3.2 Fase Penyembuhan Luka ..... 20

2.4 Makrofag ..... 22

2.4.1 Definisi ..... 22

2.4.2 Morfologi ..... 23

2.4.2 Peran dalam Penyembuhan Luka ..... 24

2.4.3 Mekanisme Apoptosis Makrofag ..... 26

2.5 Ekstraksi ..... 27

2.5.1 Maserasi ..... 28

2.6 Gel ..... 29

2.7 Tikus ..... 30

2.7.1 Taksonomi Tikus ..... 30

2.7.2 Jenis Tikus ..... 31

**BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS ..... 33**

3.1 Kerangka Teori ..... 33

3.2 Hipotesis Penelitian ..... 35

**BAB IV METODE PENELITIAN ..... 37**

4.1 Rancangan dan Desain Penelitian ..... 37



4.2 Sampel Penelitian .....	38
4.2.1 Kriteria Inklusi .....	39
4.2.2 Kriteria Eksklusi.....	39
4.2.3 Jumlah Sampel Penelitian .....	40
4.3 Variabel Penelitian.....	41
4.3.1 Variabel Bebas .....	41
4.3.2 Variabel Terikat .....	41
4.3.3 Variabel Kontrol/Kendali .....	41
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	42
4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian .....	42
4.5.1 Pemeliharaan Hewan Coba .....	42
4.5.2 Pembuatan Gel Ekstrak Etanol Biji Kedelai .....	42
4.5.3 Perlakuan Hewan Coba.....	43
4.5.4 Pembuatan Preparat Histologi.....	43
4.5.5 Penghitungan Jumlah Makrofag.....	44
4.6 Definisi Operasional .....	44
4.6.1 Gel Ekstrak Etanol Biji kedelai .....	44
4.6.2 Ulkus Traumatik Mukosa Labial.....	44
4.6.3 Jumlah Makrofag.....	45
4.7 Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data .....	45
4.7.1 Persiapan Hewan Coba .....	45
4.7.2 Pemeliharaan Hewan Coba .....	45
4.7.3 Determinasi Tanaman Kedelai .....	45
4.7.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Kedelai .....	46
4.7.5 Pembuatan Gel Ekstrak Etanol Kedelai .....	46
4.7.6 Pembuatan Ulkus Traumatik pada Mukosa Labial Tikus Putih.....	47



4.7.7 Pemberian Gel Ekstrak Etanol Kedelai .....	48
4.7.8 Pembedahan Hewan Coba .....	49
4.7.9 Prosedur Pembuatan Preparat Pengamatan Sediaan Histologi Mukosa Labial Tikus Putih .....	49
4.7.10 Identifikasi Makrofag .....	51

4.8 Analisa Data .....	51
------------------------	----

4.9 Skema Prosedur Penelitian .....	53
-------------------------------------	----

4.9.1 Pembuatan Gel Ekstrak Etanol Biji Kedelai .....	53
---	----

4.9.2 Uji Efektivitas Gel Ekstrak Etanol Biji Kedelai .....	54
---	----

**BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....** 55

5.1 Hasil Penelitian .....	55
----------------------------	----

5.2 Analisis Data .....	61
-------------------------	----

5.2.1 Uji Normalitas .....	61
----------------------------	----

5.2.2 Uji Homogenitas Ragam .....	62
-----------------------------------	----

5.2.3 Uji <i>One Way Anova</i> .....	62
--------------------------------------	----

5.2.4 Uji <i>Post Hoc Tukey</i> .....	62
---------------------------------------	----

5.2.5 Uji Korelasi Pearson .....	65
----------------------------------	----

5.2.6 Uji <i>Independent T-Test</i> .....	66
---	----

5.3 Pembahasan .....	67
----------------------	----

**BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....** 72

6.1 Kesimpulan .....	72
----------------------	----

6.2 Saran .....	73
-----------------	----

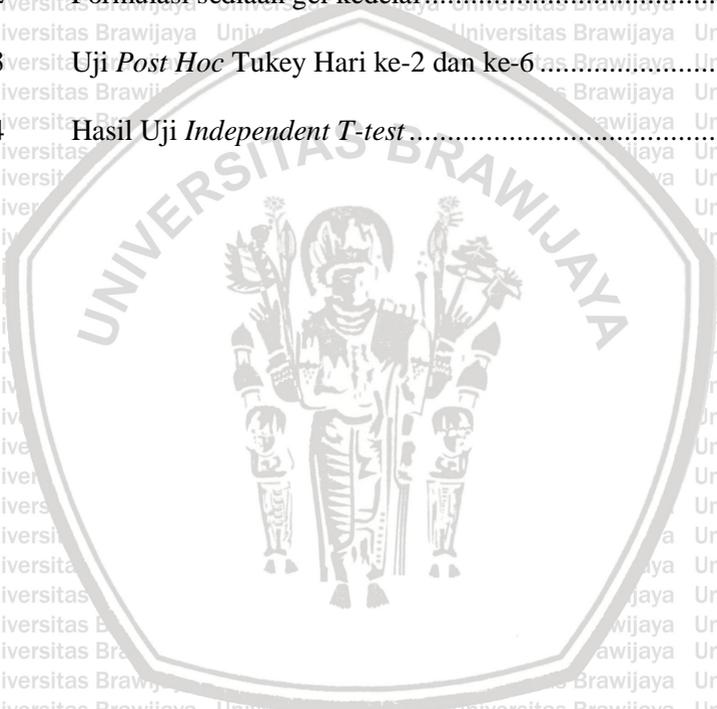
**DAFTAR PUSTAKA .....** 74

**LAMPIRAN .....** 82



DAFTAR TABEL

No.	Judul Tabel	Hal.
1	Kandungan Biji Kedelai .....	11
2	Formulasi sediaan gel kedelai .....	47
3	Uji <i>Post Hoc</i> Tukey Hari ke-2 dan ke-6 .....	63
4	Hasil Uji <i>Independent T-test</i> .....	66



**DAFTAR GAMBAR**

No.	Judul Gambar	Hal.
1	Biji Kedelai Devon 1 .....	15
2	Ulkus Trauma Mekanik .....	17
3	Ulkus Trauma Elektrik .....	18
4	Ulkus Trauma Kimia oleh karena Fenol .....	19
5	Histopatologi sel makrofag .....	23
6	Tikus putih galur wistar .....	31
7	Kerangka Konsep Penelitian .....	33
8	Rancangan dan Desain Penelitian .....	37
9	Pembuatan gel ekstrak etanol biji kedelai.....	53
10	Uji efektivitas gel ekstrak etanol biji kedelai .....	54
11	Gambaran makrofag pada hari kedua .....	56
12	Gambaran makrofag pada hari keenam .....	58
13	Diagram Penghitungan Rata-Rata Jumlah Makrofag .....	60



## DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

DNA	=	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
FGF	=	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
IFN- $\gamma$	=	<i>Interferon <math>\gamma</math></i>
IGF	=	<i>Insulin-like Growth Factor</i>
IgG	=	<i>Imunoglobulin G</i>
IL	=	<i>Interleukin</i>
LPS	=	<i>Lipopolisakarida</i>
LSD	=	<i>Least Significance Difference</i>
MAF	=	<i>Macrophage Activating Factor</i>
MMP	=	<i>Matrix Metalloproteinase</i>
NK	=	<i>Natural Killer</i>
PDGF	=	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
pH	=	<i>Potensial Hidrogen</i>
PMN	=	<i>Polymorphonuclear</i>
RNA	=	<i>Ribonucleic Acid</i>
TGF- $\alpha$	=	<i>Transforming Growth Factor <math>\alpha</math></i>
TGF- $\beta$	=	<i>Transforming Growth Factor <math>\beta</math></i>



TNF = *Tumor Necrosis Factor*

TNFR = *Tumor Necrosis Factor Receptor*

VEGF = *Vascular Endothelial Growth Factor*

HPMC = *Hydroxypropyl Methylcellulose*



## ABSTRAK

Erni Widhi Astuti, NIM : 155070400111034, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang, tanggal 27 bulan Juni tahun 2019, **“Pengaruh Gel Ekstrak Etanol Biji Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) terhadap Jumlah Makrofag Pada Penyembuhan Ulkus Traumatik Mukosa Labial Tikus Putih**”, Pembimbing: Dr. drg. Nur Permatasari, MS.

Ulkus traumatik merupakan ulkus pada rongga mulut yang disebabkan oleh trauma. Sel makrofag pada penyembuhan luka berperan dalam fagositosis, sekresi sitokin dan *growth factor*. Gel ekstrak etanol biji kedelai mengandung isoflavin yang dapat meningkatkan aktivitas makrofag dan TGF-  $\beta$ . Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih. Metode yang digunakan adalah *true experimental* menggunakan *Randomized Post Test Only Controlled Group design* secara *in vivo*. Penelitian ini dibagi menjadi 8 kelompok dengan 2 *time series* yaitu 2 dan 6 hari. Dosis gel ekstrak etanol biji kedelai yang digunakan yaitu 0%, 40%, 60%, dan 80%. Setelah pengorbanan, jaringan ulkus diambil dan dilakukan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*, kemudian sel makrofag diamati menggunakan mikroskop digital. Hasil *Post Hoc Tukey* menunjukkan bahwa gel ekstrak etanol biji kedelai dengan konsentrasi 80% secara signifikan berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih dibandingkan kelompok lain pada hari ke-2 dan 6. Makrofag mencapai puncak pada hari ke-2 dan menurun pada hari ke-6. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih dan konsentrasi 80% efektif untuk penyembuhan ulkus traumatik.

Kata Kunci : Gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill), makrofag, ulkus traumatik.



## ABSTRACT

Erni Widhi Astuti, NIM : 155070400111034, Dentistry Study Programs, Faculty of Dentistry University of Brawijaya Malang, June 27<sup>th</sup>, 2019, "**Effect of Soybean Seeds (*Glycine max* (L.) Merill) Ethanol Extract Gel toward The Number of Macrophages in Labial Mucosa Traumatic Ulcer Healing of White Rats**", Supervisor: Dr. drg. Nur Permatasari, MS

Traumatic ulcers are oral ulcers caused by trauma. Macrophage cells in wound healing play a role in phagocytosis, cytokine secretion and growth factor. The soybean seeds ethanol extract gel contains isoflavones which can increase macrophage activity and TGF- $\beta$ . The aim of this study was to determine whether the soybean seeds (*Glycine max* (L.) Merill) ethanol extract gel had an effect on the number of macrophages in labial mucosa traumatic ulcer healing of white rats. The method used is *true experimental* using *Randomized Post Test Only Controlled Group design in vivo*. This study was divided into 8 groups with 2 time series, 2 and 6 days. The doses of ethanol extract of soybean seeds used were 0%, 40%, 60%, and 80%. After sacrifice, the ulcer tissue was taken and *Hematoxylin Eosin* staining was performed, then macrophage cells were observed using an digital microscope. The *Post Hoc* Tukey results showed that 80% soybean seeds ethanol extract gel with a significant effect on the number of macrophages in labial mucosa traumatic ulcer healing of white rats compared to other groups on days 2 and 6. Macrophages reach a peak on day 2 and decrease on day 6. Based on the results of the study, it can be concluded that the soybean seeds (*Glycine max* (L.) Merill) ethanol extract gel affects the number of macrophages in labial mucosa traumatic ulcer healing of white rats and an 80% concentration effective for healing traumatic ulcers.

**Keywords:** Soybean seeds (*Glycine max* (L.) Merill) ethanol extract gel, macrophages, traumatic ulcers.

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ulkus adalah lesi rongga mulut yang sering terjadi di jaringan lunak rongga mulut (Regezi *et al.*, 2003). Prevalensi ulkus pada rongga mulut yaitu sekitar 15-30% (Sunarjo *et al.*, 2015). Ulkus yang disebabkan oleh trauma disebut dengan ulkus traumatik. Prevelensi ulkus traumatik pada mukosa rongga mulut sekitar 83,6% (Mendrofa dkk., 2015). Ulkus traumatik pada rongga mulut dapat disebabkan oleh trauma fisik/mekanik, trauma kimia dan trauma panas yang dapat menyebabkan rusaknya jaringan sehingga terjadi pembentukan ulkus (Greenberg *et al.*, 2008).

Ulkus traumatik biasanya berbentuk soliter yang disertai rasa nyeri, dengan gambaran klinis terdapat kemerahan disekitar tepi lesi dan permukaan berwarna putih-kekuningan pada bagian tengah lesi (Laskaris, 2016). Proses penyembuhan ulkus traumatik berlangsung dalam beberapa hari sampai dengan dua minggu setelah faktor utama penyebab ulkus dihilangkan (Langlais *et al.*, 2017). Proses penyembuhan luka terdiri dari tiga fase yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling (Miloro *et al.*, 2004). Pada fase inflamasi makrofag yang sebelumnya adalah monosit, bermigrasi ke ruang ekstraseluler dengan stimulasi faktor kemotaksis seperti TGF- $\beta$ , fibronektin, komplemen, serum faktor, elastin, dan thrombin yang

aktif secara enzimatik (Monaco dan Lawrence, 2003). Makrofag mulai aktif melakukan proses fagositosis yaitu dalam 48-72 jam setelah terjadinya luka (Velnar *et al.*, 2009). Makrofag dalam fase inflamasi melepaskan sitokin dan *growth factors* (TGF- $\alpha$ , TGF $\beta$ 1, PDGF, *insulin-like growth factor* [IGF]-I dan -II, TNF- $\alpha$ , dan IL-1) (Miloro *et al.*, 2004). Sitokin dan *growth factor* menstimulasi fase proliferasi dengan mempengaruhi angiogenesis dan fibroblas untuk meningkatkan regenerasi jaringan (Guo dan DiPietro, 2010).

Terapi pada ulkus traumatik biasanya menggunakan obat kumur Chlorhexidine gluconate 0,2%, kortikosteroid topikal seperti Triamcinolone acetonide 0,1%, atau obat yang mengandung asam hialuronat 0,2%. Akan tetapi, obat kimia dapat menimbulkan reaksi hipersensitivitas (Sunarjo *et al.*, 2015). Asam hialuronat 0,2% dapat menimbulkan reaksi hipersensitivitas dan harganya relatif mahal (Mendrofa dkk, 2015). Triamcinolone acetonide dilaporkan dapat menimbulkan atrofi pada kulit (Coondoo *et al.*, 2014). Oleh karena itu, perlu obat alternatif lain seperti obat yang berasal dari tanaman untuk meminimalkan efek samping, namun tetap mempunyai khasiat (Budijono *et al.*, 2014).

Tanaman seperti buah dan sayuran merupakan sumber fitokimia yang mempunyai efek sebagai fitoestrogen, antioksidan, dan agen inflamasi (Slavin dan Llyod, 2012). Kedelai merupakan salah satu tanaman yang mempunyai efek sebagai antiinflamasi, antimikroba, dan antioksidan. Efek tersebut didapatkan dari senyawa flavonoid khususnya isoflavan (Yu *et al.*, 2016). Pada penelitian yang dilakukan oleh *Department of Functional Crop Legume and Oil*

*Crop Research Division, National Institute of Crop Science (NICS)*, di Miryang, Korea Selatan didapatkan bahwa kedelai galur K X IAC 100-997-1035 atau disebut juga DEVON1 memiliki kandungan isoflavon sebesar 2219,74  $\mu\text{g/g}$  (Adie, 2015). Genistein, daidzein, dan glycitein merupakan kandungan isoflavon yang banyak terdapat dalam kedelai (Preedy, 2013). Kandungan isoflavon glycitein sebagai antiinflamasi dapat meningkatkan TGF- $\beta$  (Kim *et al.*, 2015). TGF- $\beta$  merupakan salah satu agen kemotaktif makrofag yang menarik makrofag ke daerah luka (Velnar *et al.*, 2009).

Pada model tikus, didapatkan bahwa kandungan isoflavon genistein mempengaruhi limfosit, granulosit, dan monosit. Pada penelitian yang dilakukan oleh Kao ditemukan bahwa genistein efektif menghambat inflamasi pada tikus yang diinduksi LPS (Yu *et al.*, 2016). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Afiyata tahun 2011, ditemukan bahwa kandungan isoflavon dapat meningkatkan aktivitas makrofag dengan cara mengaktifkan sel T yang mensekresi limfokin seperti IFN- $\gamma$  dan MAF (Afiyata, 2011). Makrofag memiliki peran yang esensial dalam proses penyembuhan luka. Deplesi makrofag dapat menyebabkan gangguan penyembuhan luka dikarenakan debridemen luka yang buruk, proliferasi dan maturasi fibroblas serta angiogenesis yang terhambat (Velnar *et al.*, 2009).

Kalsum dkk tahun 2014 meneliti mengenai perbedaan jumlah fibroblas pada perawatan luka bakar derajat II menggunakan ekstrak kedelai 40%, 60%, 80% dan NS 0,9% dengan hasil perbedaan jumlah fibroblas yang signifikan pada luka yang diaplikasikan



ekstrak kedelai dan NS 0,9% (Kalsum *et al.*, 2014). Pada penyembuhan luka oral, penggunaan ekstrak kedelai 40%, 60% dan 80% belum pernah dilakukan penelitian. Aplikasi obat topikal pada rongga mulut yang sering digunakan adalah dalam bentuk sediaan gel. Sediaan gel dipilih karena memiliki kandungan air yang tinggi sehingga memiliki efek pendingin dan terasa nyaman, memiliki tampilan yang jernih dan elegan, daya lekat tinggi, elastis, dan daya lepas mudah (Kuncari *et al.*, 2014).

Berdasarkan uraian di atas, perlu dikaji tentang pengaruh gel ekstrak etanol biji kedelai terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik pada mukosa labial tikus putih.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mempelajari pengaruh gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1 Menghitung dan membandingkan perbedaan jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih pada kelompok yang diberi gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai



dan kelompok yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) 40%, 60%, dan 80% pada hari ke-2.

2. Menghitung dan membandingkan perbedaan jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih pada kelompok yang diberi gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai dan kelompok yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) 40%, 60%, dan 80% pada hari ke-6.

3. Membandingkan perbedaan jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih pada kelompok yang diberi gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai dengan kelompok yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) 40%, 60%, dan 80% pada hari ke-2 dan 6.

4. Mengetahui hubungan dosis pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) dan pengaruhnya terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih galur wistar jantan.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Akademis

Penelitian ini memberikan penjelasan secara ilmiah mengenai pengaruh pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih.



## 1.4.2 Manfaat Praktis

- 1 Menambah pengetahuan mengenai pengaruh gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik, yang dapat dimanfaatkan sebagai acuan penelitian selanjutnya.
- 2 Memberikan informasi tentang gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) yang dapat menjadi obat alternatif pada ulkus traumatik.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 1.1 Kedelai

##### 2.1.1 Asal Usul

Kedelai ditemukan dalam buku Pen Ts'ao Kong Mu (Materica Medica) pada era Kekaisaran Sheng-Nung pada 2838 sebelum masehi. Awalnya kedelai berasal dari dataran Cina Utara yang kemudian mendapat perhatian oleh Korea, Jepang, dan Eropa. Untuk kawasan Asia seperti Indonesia, kedelai mulai diperkenalkan awal masehi sampai abad ke 16 seiring dengan berjalannya perdagangan lewat jalur darat dan laut. Pulau Jawa merupakan awal berkembangnya kedelai di Indonesia, dilanjutkan oleh pulau Bali, Nusa Tenggara, dan pulau-pulau lainnya (Irwan, 2006; Adie dan Krisnawati, 2013)

##### 2.1.2 Taksonomi

Berikut klasifikasi tanaman kedelai (Irwan, 2006) :

Divisio : Spermatophyta

Classis : Dicotyledoneae

Ordo : Rosales

Familia : Papilionaceae

Genus : Glycine

Species : *Glycine max* (L.) Merrill.

### 2.1.3 Morfologi

Kedelai merupakan tanaman semusim dengan tinggi 40-90cm, bercabang, bentuk daun tunggal atau bertiga, dan berusia sekitar 72-90 hari (Adie dan Krisnawati, 2013).

#### 1. Biji

Biji kedelai berbentuk bulat hingga lonjong, dengan warna bervariasi dari hijau, kuning, hitam, cokelat hingga campuran. Biji terdiri dari kulit biji dan embrio. Kulit biji terdiri dari lapisan epidermis, hypodermis, dan parenkim. Inhibisi benih berawal dari kulit biji, Biji dengan kulit yang tipis lebih cepat perkecambahan dari pada kulit yang tebal karena lebih mudah menyerap air. Pada kulit biji terdapat pusar yang disebut hilum yang ujungnya terdapat mikrofil yang terbentuk saat pembentukan biji (Adie dan Krisnawati, 2003, Irwan, 2006). Pada tanaman kedelai, biji tersimpan di dalam polong. Satu polong biasanya mampu berisi 1-4 biji kedelai. Biji kedelai yang masih muda bersifat lunak dan berwarna putih kehijauan yang semakin berkembang akan menjadi keras dan berat (Pitojo, 2003).

#### 2. Akar

Akar pada tanaman kedelai terdiri dari akar tunggang dan akar sekunder. Selain itu juga terdapat akar adventif yang berasal dari hipokotil. Akar tanaman kedelai memiliki kemampuan untuk membentuk bintil

#### 8



akar yang berfungsi sebagai penambat nitrogen. Bintil akar pada tanaman kedelai dapat memberikan manfaat bagi tanaman lain (Adie dan Krisnawati, 2003). Akar tanaman kedelai berguna sebagai penopang tanaman dan sebagai jalan masuknya air dan zat hara ke tanaman (Pitojo, 2003).

### 3. Batang

Batang pada tanaman kedelai berasal dari embrio biji yaitu hipokotil. Menurut tipe pertumbuhannya batang tanaman kedelai dibagi menjadi tiga yaitu determinate, indeterminate dan semi-indeterminate. Tipe determinate tidak dapat mengalami pertumbuhan batang apabila sudah mempunyai bunga. Tipe indeterminate masih dapat mengalami pertumbuhan pucuk batang meskipun sudah mempunyai bunga. Sedangkan untuk tipe semi-indeterminate merupakan gabungan dari determinate dan indeterminate (Irwan, 2006).

### 4. Daun

Daun pada tanaman kedelai yaitu daun tunggal dan daun bertiga (*trifoliolate leaves*). Daun tunggal tumbuh pada saat pertumbuhan kecambah. Sedangkan daun bertiga tumbuh setelah pertumbuhan kecambah. Bentuk daun pada tanaman kedelai dominan bulat/oval dan lancip. Daun tanaman kedelai memiliki bulu berwarna cerah yang berfungsi sebagai toleransi terhadap serangan



hama. Bulu pada daun tanaman kedelai memiliki kepadatan yang bervariasi tergantung dengan jenis kedelai. Namun pada umumnya kepadatan bulu daun tanaman kedelai yaitu 3-20 buah/mm<sup>2</sup> (Irwan, 2006).

#### 5. Bunga

Bunga tanaman kedelai memiliki bentuk seperti kupu-kupu. Rasis (tangkai bunga) umumnya tumbuh pada ketiak tangkai daun dan berjumlah sekitar 2-25 bunga. Kuncup bunga nantinya akan membentuk polong. Namun tidak semua bunga akan membentuk polong dikarenakan jumlah bunga yang rontok cukup besar (Irwan, 2006).

#### 2.1.4 Kandungan Kimia Biji Kedelai

Tanaman kedelai memiliki berbagai manfaat. Menurut hasil penelitian, biji kedelai memiliki kandungan flavonoid, saponin dan protein (Anas *et al.*, 2017). Selain kandungan tersebut, biji kedelai juga mengandung karbohidrat, lemak, mineral serta vitamin (Hassan, 2013).



Tabel 1 Kandungan Biji Kedelai

Kedelai	
Nutrisi	Jumlah
Protein	44 - 49 %
Flavonoid; Isoflavon	0,1-5mg /gram
Genistin	50% - 55% dari isoflavon
Daidzin	40% - 45% dari isoflavon
Glycitin	5% - 10% dari isoflavon
Saponin	0,5 - 6,5%
Karbohidrat	35%
Lemak	19%
Mineral dan vitamin	5%

Sumber : Hassan, 2013.

### 1. Isoflavon

Kelompok flavonoid yang terdapat dalam biji kedelai adalah isoflavon. Isoflavon adalah senyawa fitoestrogen metabolit sekunder yang hanya disintesis oleh tumbuhan. Isoflavon banyak terkandung didalam tanaman, khususnya tanaman kedelai. Bagian kedelai yang banyak mengandung isoflavon yaitu bagian hipokotil. Kandungan isoflavon yang banyak terdapat dalam kedelai yaitu genistein, daidzein, dan glycitein



(Preedy,2013). Isoflavon memiliki peran sebagai agen antioksidan, antimikrobal, dan anti-inflamasi.

a. Antioksidan

Secara fisiologis, tubuh memproduksi radikal bebas dan ROS sebagai hasil dari metabolisme oksigen. Apabila produksi radikal bebas berlebih akan menyebabkan rusaknya sel sehingga terdapat antioksidan penetralisir pembentukan dari radikal bebas. Mekanisme isoflavon sebagai antioksidan yaitu dengan cara mendonorkan ion hidrogen dan secara langsung sebagai scavenger radikal bebas (Astuti,2008). Isoflavon sebagai antioksidan juga berpengaruh terhadap pelepasan limfokin-limfokin sehingga meningkatkan aktivitas makrofag dan efek sitotoksik. Limfokin seperti IFN akan membuat kerja sel NK dalam menghancurkan sel kanker aktif. (Afiyata *et al.*, 2011).

b. Antimikrobal

Flavonoid sebagai agen antibakteri memiliki mekanisme dalam merusak membran bakteri dengan cara membentuk senyawa dari protein ekstraseluler, menghambat dan mengganggu metabolisme energi serta menghambat sintesis dari DNA atau RNA (Ngajow *et al.*, 2013). Golongan flavonoid yaitu isoflavon sebagai antibakteri



memiliki mekanisme yaitu menghambat DNA-gyrase (Suteja, 2016).

### c. Antiinflamasi

Fase inflamasi yang terlalu lama dapat menyebabkan waktu penyembuhan luka semakin panjang, sehingga diperlukan agen antiinflamasi.

Isoflavon, khususnya genistein terbukti berpengaruh terhadap granulosit, monosit, dan limfosit. Isoflavon sebagai antiinflamasi, menghambat COX-2 lipooksigenase dan tirosin kinase, serta meningkatkan produksi sitokin TGF- $\beta$  (Kim *et al.*, 2015, Kalsum *et al.*, 2014). Peningkatan TGF- $\beta$  akan mempengaruhi makrofag dan fibroblas. Makrofag akan mengalami peningkatan aktivasi makrofag yang akan membuat proses debridemen serta pelepasan sitokin dan *growth factor* menjadi lebih maksimal (Afiyata *et al.*, 2011).

### 2. Saponin

Saponin adalah salah satu senyawa fitokimia yang baik untuk usus halus serta lambung. Saponin memperlama absorpsi makanan di lambung sehingga glukosa dalam darah akan mengalami perbaikan (Minarno, 2016). Kandungan saponin dalam kedelai dapat mengatur metabolisme lemak dan sebagai antioksidan (Krisnawati, 2016).



### 3. Protein

Kandungan protein dalam kedelai cukup tinggi yaitu mencapai 40%. Protein dalam kedelai setara dengan protein hewani meskipun kandungan asam amino sulfurnya rendah. Protein dalam kedelai berperan dalam meningkatkan ekskresi kolesterol sehingga menurunkan resiko penyakit jantung koroner, menurunkan resiko penyakit kelainan vaskuler, dan dapat memenuhi kebutuhan asam amino dalam tubuh (Winarsi, 2010).

#### 2.1.5 Devon 1

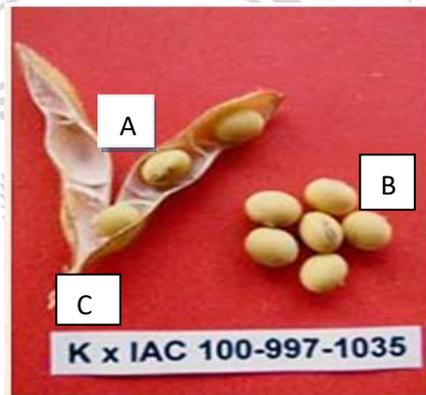
Biji kedelai merupakan salah satu sumber potensial dari isoflavin. Isoflavin dalam biji kedelai terdiri dari genistein, daidzein, glycitein, daidzin, genistin dan glycetin. Balitkabi (Badan Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi) melakukan kegiatan perakitan varietas kacang kedelai dari berbagai galur harapan tinggi yang mengandung isoflavin tinggi. Galur harapan K X IAC 100-997-1035 merupakan salah satu galur yang diteliti. Dari hasil uji adaptasi galur K X IAC 100-997-1035 memiliki hasil lebih tinggi dibandingkan galur Anjasmoro dan Wilis. Galur K X IAC 100-997-1035 merupakan salah satu varietas unggul yang disebut juga dengan Devon 1 (Adie, 2015).

Pengukuran kandungan isoflavin Devon 1 dilakukan di *Department of Functional Crop Legume and Oil Crop Research Division, National Institute of Crop Science (NICS)*, di Miryang, Korea Selatan pada bulan Februari 2013 dan diperoleh sebesar



2219,74  $\mu\text{g/g}$ . Kandungan isoflavin pada Devon 1 lebih tinggi dari pada varietas kedelai lain seperti varietas Wilis atau Anjasmoro (Adie, 2015). Kandungan protein pada Devon 1 lebih rendah dari pada varietas Wilis. Kandungan protein pada Devon 1 sebesar 34,85% sedangkan kandungan protein pada Wilis sebesar 37,00% (Hasanah dan Sembiring, 2018).

Gambar 1 Biji Kedelai Devon 1



Sumber : Balitkabi, 2015.

Keterangan : A. Biji kedelai dalam polong. B. Biji kedelai Devon 1.  
C. Nama galur biji kedelai Devon 1

## 1.2 Ulkus Traumatik

### 1.2.1 Definisi

Menurut kamus kedokteran gigi (Harty dan Ogston, 2013), ulkus adalah luka terbuka dengan kehilangan seluruh epitel dari permukaan sampai dasarnya oleh karena peradangan yang menembus membran mukosa atau kulit. Ulkus adalah suatu lesi yang memiliki bentuk

cekungan seperti kawah yang lebih dalam daripada erosi, meluas dari basal epitel hingga dermis. Ulkus traumatik adalah ulkus pada rongga mulut yang disebabkan oleh trauma (Langlais *et al.*, 2017).

### 1.2.2 Etiologi

Ulkus traumatik bisa disebabkan oleh :

#### 1. Trauma Mekanik/Fisik

Trauma mekanik/fisik dapat disebabkan oleh karena gigitan, teknik menyikat gigi dan *flossing* yang berlebihan, protesa gigi yang tidak fit, maloklusi, dan tindik pada mulut (Greenberg *et al.*, 2008). Trauma mekanik sering terjadi pada area dekat gigi seperti mukosa bukal, lidah dan bibir. Pada bayi, ulkus trauma mekanik biasa disebut *Riga-Fede disease* yang biasanya muncul satu minggu - satu tahun pertama dikarenakan penyesuaian gigi sulung anterior pada saat menyusui.

Ulkus ini sering timbul pada permukaan anterior ventral lidah maupun permukaan dorsal lidah. Gigi insisif rahang atas biasa menyebabkan ulkus pada daerah ventral, sedangkan gigi insisif rahang bawah bi asa menyebabkan ulkus pada daerah dorsal. Penatalaksanaan untuk ulkus trauma mekanik yaitu menghilangkan faktor etiologi dari ulkus seperti menggrinding gigi (Neville *et al.*, 2009).



Gambar 2 Ulkus Trauma Mekanik



Sumber: Neville *et al.*, 2009.

Keterangan: Ulkus traumatik berbatas jelas oleh karena trauma mekanik pada mukosa bukal posterior kiri.

## 2. Trauma Termal dan Elektrik

Trauma termal dapat disebabkan oleh makanan yang panas, seperti pizza burn yang menyebabkan ulkus pada palatum, dan dapat pula disebabkan oleh iaotrogenik karena alat-alat kedokteran gigi seperti *wax*, *dental compound* atau *hydrocolloid* (Regezi *et al.*, 2003). Lesi pada ulkus trauma termal berbentuk ulkus dengan eritema dan terdapat sisa epitel yang nekrotik pada tepi ulkus. Ulkus trauma termal biasanya sembuh tanpa perawatan (Neville *et al.*, 2009).

Trauma elektrik dapat disebabkan oleh stop kontak dan arsen. Trauma elektrik oleh karena stop kontak dapat menyebabkan *cardiopulmonary arrest*. Saliva merupakan konduktor saat terjadi trauma elektrik (Neville *et al.*, 2009).

Trauma elektrik sering terdapat pada area bibir dengan lesi kering dan tampak hangus yang lama-kelamaan akan mengelupas dan berdarah (Greenberg *et al.*, 2008). Penatalaksanaan ulkus trauma elektrik dengan pemberian antibiotik profilaksis seperti penicillin (Neville *et al.*, 2009).

Gambar 3 Ulkus Trauma Elektrik



Sumber: Neville *et al.*, 2009.

Keterangan: Ulkus traumatik oleh karena trauma elektrik pada bibir hingga mengenai komisura bagian kiri dengan gambaran area kuning hangus.

### 3. Trauma Kimia

Trauma kimia dapat disebabkan oleh zat kimia kaustik yang tidak sengaja terkena mukosa (Greenberg *et al.*, 2008).

Zat kimia ini meliputi aspirin, hydrogen peroksida, silver nitrat, beberapa material endodontic, dan fenol. Apabila zat kimia yang terpapar sebentar, mukosa mulut akan terlihat putih dan memiliki tampilan seperti kerutan. Apabila zat



kimia terpapar lebih lama, maka akan menyebabkan nekrosis (Neville *et al.*, 2009).

Ulkus trauma kimia juga dapat disebabkan oleh *cotton roll* atau biasa disebut dengan *cotton roll burn/cotton roll stomatitis*. *Cotton roll* menyerap bahan kimia dan dapat menyebabkan jejas. Untuk mengurangi resiko terjadinya ulkus trauma kimia adalah dengan penggunaan *rubber dam* (Neville *et al.*, 2009).

Gambar 4 Ulkus Trauma Kimia oleh karena Fenol



Sumber: Neville *et al.*, 2009.

Keterangan: ulkus trauma kimia pada mukosa alveolar mandibular.

### 1.2.3 Gambaran Klinis

Ulkus traumatik sering terjadi pada bibir, lidah, dan mukosa pipi.

Gambaran klinis ulkus traumatik umumnya soliter dengan dikelilingi eritema. Permukaan lesi nampak berwarna putih kekuningan dengan

disertai rasa nyeri. Ketika palpasi, lesi akan teraba lunak. Lesi umumnya *self-limiting* tanpa adanya bekas luka (Laskaris, 2016).

### 1.3 Penyembuhan Luka

#### 1.3.1 Definisi

Luka adalah rusaknya struktur dan fungsi normal dari anatomi tubuh (Velnar *et al.*, 2009). Penyembuhan luka adalah ekspresi seluler dan biokimia yang jelas dan kompleks untuk mengembalikan integritas jaringan dan fungsional setelah terjadinya luka (Miloro *et al.*, 2004).

#### 2.3.2 Fase Penyembuhan Luka

##### 1. Fase Inflamasi

Fase inflamasi biasa terjadi 3-5 hari. Setelah terjadi luka, tubuh akan melakukan hemostasis dengan cara vasokonstriksi pembuluh darah. Platelet akan cepat terakumulasi sehingga membentuk bekuan darah. Sitoplasma dari platelet mengandung  $\alpha$ -granula yang berisi *growth factor* dan sitokin seperti PDGF dan TGF- $\beta$ . TGF- $\beta$  ini berperan sebagai promotor penyembuhan luka dengan mengaktifkan dan menarik neutrofil, kemudian makrofag, sel endothelial, dan fibroblas. Setelah hemostasis, pembuluh darah akan mengalami vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas membran sehingga plasma darah dan mediator sel berdiapedesis dan mengisi ruang ekstraseluler. Dalam fase



ini timbul tanda-tanda inflamasi, meliputi kemerahan, bengkak, nyeri, dan panas.

Neutrofil dan monosit akan menuju luka dengan bantuan sitokin secara kemotaktik. Neutrofil ada dalam luka segera setelah beberapa menit terjadinya luka. Neutrofil berfungsi membersihkan luka dari bakteri, matrik yang terdegradasi, dan sisa jaringan. Seiring penurunan neutrofil, monosit akan memuncak. Monosit ini dinamakan makrofag. Makrofag akan melanjutkan fungsi neutrofil untuk memfagosit bakteri dan sisa jaringan serta matrik yang terdegradasi. Makrofag juga berfungsi untuk menyediakan mediator penyembuhan luka seperti sitokin dan faktor pertumbuhan (TGF- $\alpha$ , TGF $\beta$ 1, PDGF, faktor pertumbuhan seperti insulin [IGF] -I dan -II, TNF- $\alpha$ , dan IL-1). Makrofag ikut berperan dalam fase selanjutnya, yaitu fase proliferasi dan remodeling (Miloró *et al.*, 2004). Sel selanjutnya yang masuk ke dalam luka yaitu limfosit. Limfosit diaktifkan oleh IL-1, komplemen, dan IgG setelah 72 jam pasca luka. IL-1 (Velnar *et al.*, 2009).

## 2. Fase Proliferasi

Fase proliferasi terjadi 3 hari sampai 3 minggu dari terjadinya luka dengan distimulasi oleh sitokin dan faktor pertumbuhan yang dihasilkan pada fase inflamasi. Pada fase proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi. Pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) sebagai pemasok nutrisi dan oksigen dipicu oleh hipoksia dan faktor



pertumbuhan (VEGF, FGF-2, TNF- $\beta$ ). Pada saat yang bersamaan, fibroblas akan menstimulasi pembentukan kolagen *immature* tipe III dan matrik ekstraseluler sehingga akan terbentuk permukaan epidermis baru (reepitelisasi).

Reepitelisasi pada mukosa mulut lebih cepat dari pada reepitelisasi pada kulit karena tidak terjadi eksudat kering (keropeng) yang berasal dari dermis (Miloro *et al.*, 2004).

### 3. Fase Remodeling

Fase remodeling dapat terjadi dalam kurun waktu tahun.

Fase remodeling secara bertahap menggantikan fase proliferasi untuk menguatkan jaringan parut yang belum matang. Sitokin dan faktor pertumbuhan terus mensintesis, menata ulang, mendegradasi, dan menstabilkan kolagen.

Ketersediaan fibroblas mulai menurun, kolagen *immature* tipe III mulai digantikan dengan kolagen tipe I yang lebih kuat. Sitokin mengendalikan MMP dan serin protease dalam homeostasis kolagen. Apabila terdapat ketidakseimbangan dalam homeostasis maka matriks akan terdegradasi berlebihan dan menimbulkan bekas luka yang parah (Miloro *et al.*, 2004).

## 1.4 Makrofag

### 2.4.1 Definisi

Makrofag adalah fagosit sel diferensiasi mononukleat yang berasal dari monosit. Makrofag berperan dalam proses fisiologis maupun patologis yang dapat ditemukan di kulit, liver, organ



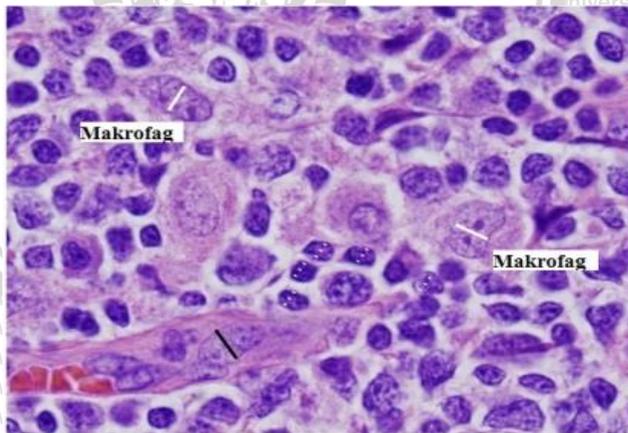
limfoid, tulang, sistem pernapasan. Istilah makrofag pertama kali digunakan untuk sel mononukleat terbesar pada jaringan oleh Elie Metchnikoff di Messina 100 tahun lalu (Burke dan Lewis, 2002).

Makrofag-monosit dapat ditemukan pada semua spesies vertebrata dan memiliki peran penting dalam homeostasis, penyembuhan luka dan respon imunitas (Klock, 2017).

### 2.4.2 Morfologi

Makrofag memiliki ukuran 10-20  $\mu\text{m}$  dengan bentuk oval, berinti bulat atau ginjal yang berwarna keunguan, dan bergranula. Inti sel pada makrofag memiliki bentuk yang lebih kecil dan lebih heterokromatik dibandingkan inti fibroblas (Ross *et al.*, 2011).

Gambar 5 Histopatologi sel makrofag menggunakan mikroskop digital dengan perbesaran 1000x dengan pewarnaan HE



Sumber: Rizzo dan Naziri, 2012.

Keterangan : sel makrofag (garis putih) memiliki bentuk oval dengan inti sel berbentuk bulat heterokromatik. Sel endotel (garis hitam). Sel limfosit (garis putus-putus putih).

## 2.4.2 Peran dalam Penyembuhan Luka

Makrofag dalam penyembuhan luka berfungsi melanjutkan fagositosis bakteri dan sisa jaringan serta matrik yang terdegradasi oleh neutrofil (Miloro *et al.*, 2009). Selain berfungsi memfagositosis, makrofag juga menghasilkan sitokin dan faktor pertumbuhan, seperti:

### a. VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*)

VEGF merupakan salah satu sitokin utama yang berpengaruh terhadap proses angiogenesis (Monaco dan Lawrence, 2003). VEGF meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru (Kumar *et al.*, 2007).

### b. FGF (*Fibroblast Growth Factor*)

FGF merupakan sitokin utama yang berpengaruh terhadap proses angiogenesis selain VEGF. FGF biasa juga disebut dengan faktor dasar pembentukan fibroblas (Monaco dan Lawrence, 2003). FGF berfungsi menstimulasi migrasi angiogenesis dan keratinosit serta sebagai kemotaktik fibroblas (Kumar *et al.*, 2007)..

### c. PDGF (*Platelet Derived Growth Factor*)

PDGF merupakan salah satu factor yang dapat menstimulasi migrasi fibroblas. PDGF bekerja sama dengan IGF dalam proliferasi fibroblas (Monaco dan Lawrence, 2003).

### d. TGF- $\alpha$ (*Transforming Growth Factor $\alpha$* )

TGF- $\alpha$  berfungsi menstimulasi replikasi dan sel-sel epitel (Kumar *et al.*, 2007).



e. TGF- $\beta$  (*Transforming Growth Factor*  $\beta$ )

TGF- $\beta$  berfungsi sebagai kemotaktik bagi makrofag, PMN, limfosit, fibroblas, angiogenesis, fibroplasia, dan migrasi keratinosit (Kumar *et al.*, 2007). Dalam proses migrasi sel dan proliferasi, TGF- $\beta$  merupakan sitokin utama dalam proses tersebut bersamaan dengan PDGF (Monaco dan Lawrence, 2003).

f. IGF-1 (*Insuline-like-Growth Factor*)

Berfungsi sebagai stimulant dari sintesis kolagen, migrasi keratinosit, dan proliferasi fibroblas (Kumar *et al.*, 2007).

g. TNF (*Tumor Necrosis Factor*)

TNF berfungsi sebagai pengaktif makrofag (Kumar *et al.*, 2007)..

h. IL (*Interleukin*)

IL-1 berfungsi sebagai kemotaktik dari PMN. IL-4 sebagai kemotaktik dari fibroblas. IL-8 sebagai kemotaktik dari angiogenesis (Kumar *et al.*, 2007).

Dalam fase penyembuhan luka, makrofag memiliki peranan penting. Segera setelah terjadinya luka, haemostasis dan koagulasi akan terjadi. Pada saat ini, platelet yang mengandung faktor pertumbuhan dan sitokin seperti PDGF, TGF- $\beta$ , dan faktor pertumbuhan epidermal akan mengaktifkan dan menarik neutrofil, makrofag, sel endotel, dan fibroblas. Makrofag akan aktif pada 48-72 jam setelah terjadinya luka (Velnar *et al.*, 2009). Setelah teraktivasi neutrofil dan makrofag akan memfagositosis bakteri dan material



asing. Selain fagositosis, makrofag melepaskan MMPs dan mensekresi sitokin-sitokin. Makrofag juga melepaskan nitric oxide yang memiliki fungsi antimicrobial pada saat proses penyembuhan (Monaco dan Lawrence, 2003). Pada fase proliferasi, makrofag berperan mensekresi TGF-  $\beta$ , PDGF, dan fibroblas growth factor. Faktor-faktor inilah yang merangsang pembentukan kolagen oleh fibroblas. Pada proses angiogenesis, makrofag mensekresi TNF- $\alpha$ , VEGF, angiogenin, urokinase, dan PDGF untuk menginduksi angiogenesis. Menurut penelitian Rouby pada tahun 2010, jumlah makrofag yang banyak akan diikuti dengan jumlah angiogenesis yang juga meningkat (Rouby, 2010). Makrofag memiliki peran yang esensial dalam proses penyembuhan luka, sehingga deplesi dari makrofag akan menyebabkan gangguan penyembuhan luka dikarenakan debridemen luka yang buruk, proliferasi dan maturasi fibroblas serta angiogenesis yang terhambat (Velnar *et al.*, 2009).

### 2.4.3 Mekanisme Apoptosis Makrofag

Secara fisiologis, makrofag akan mengalami penurunan jumlah pasca hari ke-5 setelah terjadinya luka dengan tetap melanjutkan fungsinya sebagai penghasil sitokin dan *growth factor* hingga proses penyembuhan luka selesai. Makrofag pada fase inflamasi dapat menjadi *pathogen* apabila tidak dikontrol sehingga makrofag akan melakukan apoptosis untuk menurunkan jumlah atau dapat berubah menjadi makrofag anti inflamasi (Wynn *et al.*, 2014).

Mekanisme apoptosis terbagi menjadi dua yaitu melalui jalur caspase dependen dan jalur caspase independen. Jalur caspase



dependen terdiri dari intrinsik dan ekstrinsik. Jalur caspase dependen ekstrinsik direseptori oleh inisiasi reseptor seperti TNF- $\alpha$ . TNF- $\alpha$  merupakan mediator yang memiliki peran dalam angiogenesis, respon imun, dan penginduksi apoptosis. TNF- $\alpha$  disekresi oleh sel makrofag, sel NK, sel T dan sel B. TNF- $\alpha$  menginduksi apoptosis lewat ikatan TNF- $\alpha$  dengan TNFRI, FAS dengan FASL, serta ikatan *death domain* dengan ligandnya. TNFRI merupakan reseptor dari TNF- $\alpha$  yang mengandung *death domain* dan protein FAS (Soeroso, 2007, Sari, 2018).

Jalur caspase independen dipengaruhi oleh peningkatan radikal bebas yang berada pada mitokondria sel sehingga terjadi perubahan potensial membran yang akan merangsang pengeluaran caspase. Hal ini menyebabkan kerusakan pada mitokondria sel (Sari, 2018). Selain oleh karena reseptor TNF- $\alpha$  dan radikal bebas, penurunan jumlah sel makrofag juga dipengaruhi oleh TGF- $\beta$ . TGF- $\beta$  selain sebagai *activator* juga dapat berperan sebagai *inhibitor* dari makrofag. TGF- $\beta$  dalam paparan jangka panjang akan menurunkan jumlah makrofag dengan menghambat RhoA. RhoA adalah suatu protein yang memiliki peran dalam migrasi sel. Penghambatan RhoA akan menyebabkan penurunan migrasi sel sehingga jumlah sel akan menurun (Kim *et al.*, 2006).

## 2.5 Ekstraksi

Ekstraksi menurut Mukhriani (2014) adalah proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai.

Dalam proses ekstraksi diperlukan pemilihan jenis pelarut, baik



pelarut polar, semipolar, maupun nonpolar. Pelarut polar terdiri dari air, methanol, dan etanol. Pelarut semipolar terdiri dari diklorometan dan etil asetat. Pelarut nonpolar terdiri dari kloroform, n-heksan, petroleum eter. Jenis-jenis metode ekstraksi yaitu maserasi, ultrasound - assisted solvent extraction, perkolasi, soxhlet, dan reflux dan destilasi Uap (Mukhriani, 2014).

### 2.5.1 Maserasi

Ekstraksi dengan metode maserasi yaitu dengan cara memasukkan pelarut dan serbuk tanaman dalam suatu wadah tertutup pada suhu kamar hingga konsentrasi senyawa setimbang. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi yang sering digunakan (Mukhriani, 2014). Metode ini sering digunakan karena memiliki beberapa keuntungan yaitu peralatan dan prosedur yang sederhana serta metode ini tidak dipanaskan sehingga senyawa-senyawa termolabil terhindar dari kerusakan (Puspitasari dan Proyogo, 2017).

Pada penelitian ini, pembuatan ekstrak etanol biji kedelai dibuat dengan metode maserasi dengan cara merendam 3 kg serbuk simplisia biji kedelai dengan pelarut etanol 96%. Proses maserasi berlangsung selama 5 hari dilanjutkan proses remaserasi selama 2 hari. Kemudian hasil dari maserasi pekatkan dengan rotary evaporator (Heidolph) pada suhu  $\pm 55$  °C hingga tidak ada cairan yang menetes lagi. Setelah itu akan didapatkan ekstrak etanol biji kedelai (Anas *et al.*, 2017).



## 2.6 Gel

Gel adalah sediaan semisolid yang fase pendispersinya zat padat dan fase terdispersinya cairan (Sumardjo, 2009). Bentuk gel memiliki beberapa keuntungan diantaranya memiliki kandungan air yang tinggi sehingga memiliki efek pendinginan dan terasa nyaman, memiliki tampilan yang jernih dan elegan, daya lekat tinggi, elastis, dan pelepasannya mudah (Kuncari *et al.*, 2014). Dalam formulasi gel, basis gel HPMC merupakan basis gel yang sering digunakan karena memiliki sifat toksik yang lebih rendah, mudah larut dalam air, dan dapat menghasilkan sediaan gel yang bening (Ardana *et al.*, 2015). Evaluasi sediaan gel menurut (Singh *et al.*, 2013) terdiri dari:

### a. pH

pH dalam sediaan gel diukur dengan menggunakan pH meter.

### b. Viskositas

Viskositas sediaan gel diukur dengan menggunakan Brookfield viscometer pada 50 rpm dengan spindle nomor 95. Kemudian dilakukan pencatatan pada setiap kecepatan.

### c. Homogenitas

Evaluasi homogenitas sediaan gel dengan menggunakan visual. Gel diletakkan dalam wadah dan dilihat penampilannya serta ada atau tidaknya agerarat lain didalam sediaan gel.

### d. Daya sebar

Daya sebar sediaan gel memiliki satuan detik. Gel diletakkan diantara dua slide kemudian dipisahkan dengan



tekanan tertentu. Apabila waktu pemisahan gel dari slide rendah, maka gel memiliki daya sebar yang baik.

e. Keseragaman kandungan dalam obat

Obat yang baik memiliki keseragaman formulasi obat sehingga obat tidak toksik dan memiliki efek yang pas.

f. Uji Organopeltis

Meliputi pengamatan warna dan bau sebelum dan sesudah penyimpanan (Ulfa, 2013)

2.7 Tikus

2.7.1 Taksonomi Tikus

Tikus adalah binatang yang termasuk dalam ordo *Rodentia* (pengerat) yang memiliki dua gigi seri besar. Tikus mengerat karena gigi seri tikus senantiasa tumbuh sehingga mengerat dapat membuat gigi tetap pada ukurannya (Sholichah, 2007)

Taksonomi tikus (Sugiyanto, 2005):

- Kingdom : Animalia
- Filum : Chordata
- Subfilum : Vertebrata
- Classis : Mammalia
- Subclassis : Placentalia
- Ordo : Rodentia
- Familia : Muridae
- Genus : Rattus
- Species : *norvegicus*



Gambar 6 Tikus putih galur wistar



Sumber: Stephen J, 2001.

### 2.7.2 Jenis Tikus

Terdapat tiga jenis tikus *Rattus norvegicus* yang sering digunakan dalam percobaan laboratorium, yaitu tikus galur Wistar, Long Evans dan Sprague Dawley.

#### a. Galur Sprague Dawley

Tikus galur Sprague Dawley ditemukan oleh Dawley, seorang ahli kimia dari Universitas Wisconsin (Akbar, 2010).

#### b. Galur Wistar

Tikus putih galur wistar merupakan tikus salah satu tikus yang populer digunakan dalam penelitian laboratorium, Ciri-ciri dari tikus putih galur wistar ditandai dengan kepalanya yang lebar, telinga panjang, dan panjang ekor yang selalu kurang dari panjang tubuhnya. Tikus putih galur wistar sudah



dikembangkan sejak 1906 di Wistar Institut (Fitria *et al.*, 2015).  
c. Galur Long Evans

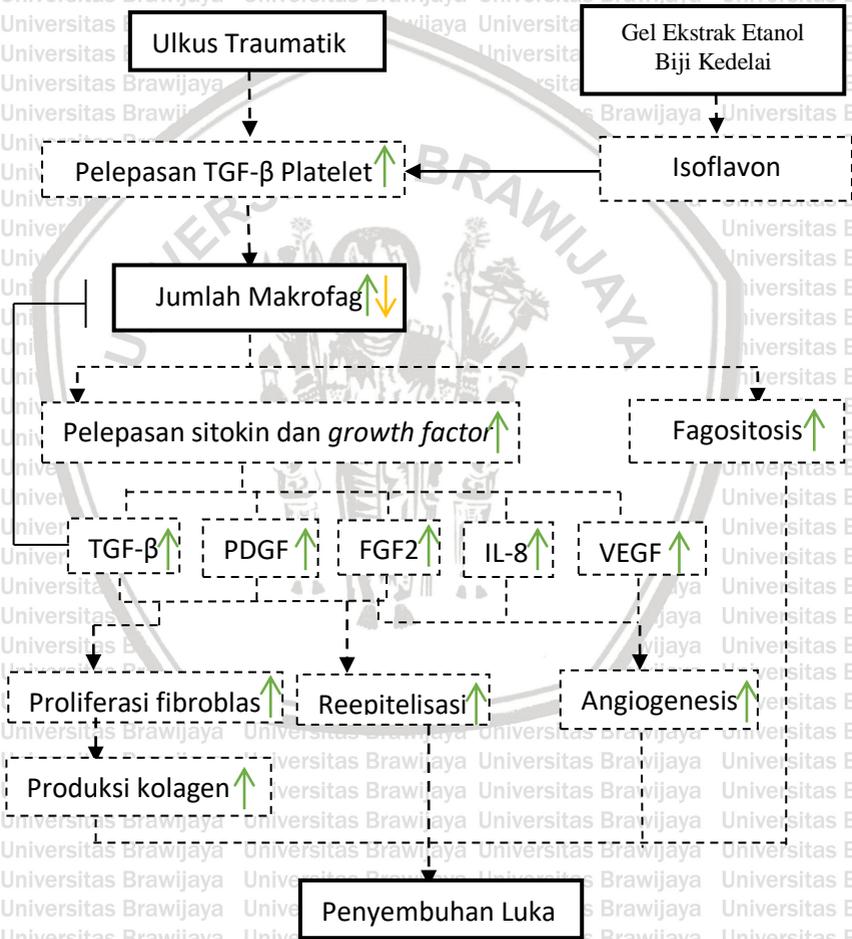




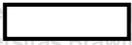
### BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

#### 1.1 Kerangka Teori

Gambar 7 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan:



= Variabel yang diteliti



= Variabel yang tidak diteliti



= Tahapan proses



= Stimulan



= Pengaruh gel ekstrak etanol biji kedelai



= Menurunkan



= Makrofag turun seiring proses penyembuhan luka

Sesaat setelah terjadinya luka, platelet akan berperan penting dalam haemostasis. Sitoplasma dari platelet mengandung  $\alpha$ -granula yang berisi *growth factor* dan sitokin seperti TGF- $\beta$  dan PDGF (Velnar *et al.*, 2009). TGF- $\beta$  yang dilepaskan oleh platelet yang terdegranulasi akan menstimulasi infiltrasi monosit yang akan menjadi makrofag ke ruang ekstraseluler secara kemotaktik (Miloro *et al.*, 2004).

Makrofag berperan penting dalam memfagositosis bakteri dan material asing serta memproduksi sitokin dan *growth factor* yang dapat mempengaruhi migrasi dan proliferasi fibroblas, produksi kolagen, reepitelisasi dan angiogenesis. *Growth factor* seperti TGF- $\beta$ , PDGF, FGF2 dapat mempercepat sintesis kolagen dan proliferasi fibroblas. *Growth factor* dan sitokin seperti FGF2, IL-8 dan VEGF penting dalam proses angiogenesis (Monaco dan Lawrence, 2003, Kumar *et al.*, 2007). Seiring proses penyembuhan luka, makrofag akan mengalami penurunan. TGF- $\beta$  selain sebagai *activator* juga



berperan sebagai *inhibitor*. TGF- $\beta$  dalam jangka panjang akan menghambat protein RhoA yang berperan dalam migrasi sel sehingga makrofag akan mengalami penurunan (Kim *et al.*, 2006).

Biji kedelai mengandung isoflavon yang dapat meningkatkan TGF- $\beta$  (Kim *et al.*, 2015). Peningkatan pelepasan TGF- $\beta$  oleh platelet akan memicu peningkatan infiltrasi jumlah makrofag ke daerah luka sehingga terjadi peningkatan produksi sitokin dan *growth factor* yang berperan dalam fase proliferasi.

## 1.2 Hipotesis Penelitian

Gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih.

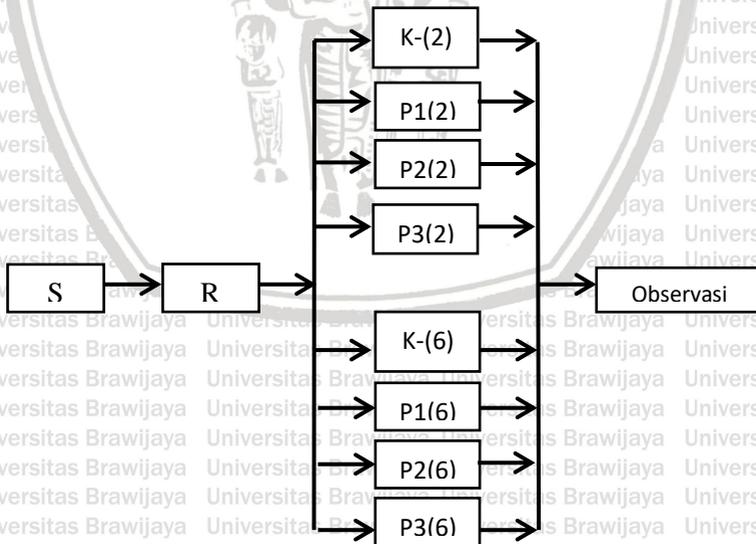


## BAB IV METODE PENELITIAN

### 4.1 Rancangan dan Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental laboratorik* dengan rancangan *Randomized Post test Only Controlled Group Design* di laboratorium secara *in-vivo* untuk mengetahui pengaruh gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merill) terhadap jumlah makrofag pada proses ulkus traumatikus mukosa labial tikus putih. Penelitian ini dibagi menjadi 8 kelompok dengan 2 *time series*. Sampel dipilih dengan menggunakan teknik “*Simple Random Sampling*”. Desain penelitian sebagai berikut:

Gambar 8 Rancangan dan Desain Penelitian



## Keterangan:

S = Sampel

R = Random

K-(2) = Kelompok kontrol negatif diberi gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) selama 2 hari pasca terbentuk ulkus.

P1(2) = Kelompok perlakuan yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) dengan konsentrasi 40% diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 2 hari pasca terbentuk ulkus.

P2(2) = Kelompok perlakuan yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) dengan konsentrasi 60% diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 2 hari pasca terbentuk ulkus.

P3(2) = Kelompok perlakuan yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) dengan konsentrasi 80% diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 2 hari pasca terbentuk ulkus.

K-(6) = Kelompok kontrol negatif diberi gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) selama 6 hari pasca terbentuk ulkus.

P1(6) = Kelompok perlakuan yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) dengan konsentrasi 40% diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 6 hari pasca terbentuk ulkus.

P2(6) = Kelompok perlakuan yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) dengan konsentrasi 60% diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 6 hari pasca terbentuk ulkus.

P3(6) = Kelompok perlakuan yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) dengan konsentrasi 80% diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 6 hari pasca terbentuk ulkus.

## 4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan pertimbangan tikus putih galur wistar memiliki metabolisme tubuh yang mirip dengan manusia. Jenis kelamin jantan dipilih sebab proses penyembuhannya lebih mudah dikontrol karena tidak terpengaruh oleh faktor hormon pada saat menstruasi (Mendrofa dkk, 2015).



Selain itu, tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar mempunyai respon yang cepat, memberikan gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia, mudah diperoleh dalam jumlah banyak, dan harganya relatif murah (Sihombing dan Rafiizar, 2010).

Hewan coba dipelihara di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya, Malang. Sampel penelitian ini dipilih berdasarkan kriteria berikut ini:

#### 4.2.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus putih galur Wistar
2. Berjenis kelamin jantan
3. Umur 2-3 bulan
4. Berat badan 180-200 gram
5. Belum pernah digunakan untuk penelitian
6. Sehat, yang ditandai dengan gerakan yang aktif, bulu yang tebal mata jernih, dan berwarna putih mengkilap.
7. Tidak ada abnormalitas anatomis yang tampak.

#### 4.2.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus putih yang mati selama perlakuan berlangsung.
2. Tikus putih yang terkena infeksi di mukosa labial pada daerah ulkus

### 4.2.3 Jumlah Sampel Penelitian

Jumlah sampel penelitian dihitung menggunakan rumus *Federer* yaitu :

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

Keterangan:

n = jumlah pengulangan penelitian

t = jumlahkelompok

dalam penelitian ini t = 8, oleh karena itu jumlah pengulangan penelitian yaitu:

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

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

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 15+7$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 22 : 7$$

$$n \geq 3,14$$

$$n \geq 3$$

Dalam penelitian ini dibutuhkan minimal tiga tikus putih galur wistar jantan untuk setiap kelompoknya. Penelitian ini dibagi menjadi delapan kelompok, sehingga diperlukan jumlah total 24 tikus putih galur wistar jantan. Untuk menghindari *lost of sample* di tengah-tengah penelitian karena tikus putih galur wistar jantan sakit atau mati. Maka jumlah sampel ditambahkan menjadi 32 ekor tikus putih galur wistar jantan dengan 4 tikus pada setiap kelompok.



### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel Bebas

Variable bebas dalam penelitian ini adalah gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) yang diberikan kepada kelompok perlakuan dan lamanya waktu perlakuan. Konsentrasi gel ekstrak etanol biji kedelai yang digunakan secara topikal adalah 40%, 60%, dan 80%. Waktu yang digunakan yaitu 2 hari dan 6 hari.

#### 4.3.2 Variabel Terikat

Variable terikat dalam penelitian ini adalah jumlah makrofag yang terlihat dalam preparat sediaan histologi.

#### 4.3.3 Variabel Kontrol/Kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah :

1. Genetik
2. Umur
3. Berat badan
4. Jenis kelamin
5. Makanan dan minuman yang dikonsumsi
6. Aplikasi gel ekstrak etanol biji kedelai
7. Kemungkinan adanya infeksi pada daerah mukosa labial.

Dikendalikan dengan cara penggantian media sekam rutin dan membersihkan kandang secara rutin.



#### 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di UPT Materia Medika Batu, Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, dalam jangka waktu  $\pm 4$  bulan dimulai dari bulan Desember sampai Maret 2019.

#### 4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

##### 4.5.1 Pemeliharaan Hewan Coba

Perawatan tikus menggunakan bak plastik berukuran 40 cm x 30 cm x 14 cm dengan tutup kandang terbuat dari kawat, botol air, sekam, dan penimbangan berat badan dengan neraca Sartorius. Pakan tikus berupa pakan (pelet). Dengan jumlah pakan 25 gram setiap tikus. Minum tikus berupa air mineral sebanyak 150ml/2hari.

##### 4.5.2 Pembuatan Gel Ekstrak Etanol Biji Kedelai

Bahan yang digunakan dalam pembuatan gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) yaitu biji kedelai Devoni yang diperoleh dari Balitkabi Pusat Unggul Iptek (PUI) Aneka Kacang dan Umbi di Kendalpayak, Pakisaji, Malang, etanol 96%, *Hydroxypropyl Methylcellulose* (HPMC), metilparaben, propilparaben, gliserin, akuades, dan tissue kering.

Alat yang digunakan pembuatan gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) yaitu oven, alat penggiling, labu *rotary evaporator*, *water bath*, kain penyaring, plastik bening, botol plastik dan *stopwatch*.



### 4.5.3 Perlakuan Hewan Coba

Tikus putih galur wistar jantan (*Rattus norvegicus*) umur 2-3 bulan dengan berat 180-200 gram sejumlah 32 ekor. Bahan yang dibutuhkan dalam perlakuan hewan coba adalah ketamine dengan dosis 1000mg/10ml sebanyak 0,1 cc dan xylazine 20mg/ml sebanyak 0,01 cc injeksi peritoneal, spiritus, *cotton roll*, *cotton pellet*, povidone iodine, alkohol 70%, kassa steril, formalin 10%, dan ketamine dosis letal sebanyak 3x dosis anestesi yaitu 0,9 ml injeksi peritoneal. Alat yang dibutuhkan dalam perlakuan hewan coba adalah amalgam stopper untuk perlakuan ulser, *masker dan handscoone*, bunsen, *handle scalpel, blade*, pinset, petridisk, tempat antiseptik, *sputit 3cc*, dan botol tempat organ.

### 4.5.4 Pembuatan Preparat Histologi

Alat dan bahan yang digunakan dalam pemeriksaan histologi yaitu sampel berupa jaringan ulser hasil eksisi, alkohol 70%, formalin 10%, akuades, acetol, xylol, paraffin, *cakram microtom rotary*, kuas/stick kecil, water bath, kaset, gelatin, object glass, larutan bouin's, inkubator, lemari asam, tap water, weigert A, weigert B, air mengalir, larutan acid fuchsin, larutan phospholybdic, larutan anilin blue, larutan acetic acid 1%, alkohol 95%, dan alkohol absolut, pewarna *Hematoxylin Eosin*, alkohol 96%, *deck glass* entellan, dan lithium carbonat.



#### 4.5.5 Penghitungan Jumlah Makrofag

Alat dan bahan yang diperlukan untuk penghitungan jumlah makrofag yaitu preparat, slide glass, mikroskop digital, dan *software* OLYVIA.

#### 4.6 Definisi Operasional

##### 4.6.1 Gel Ekstrak Etanol Biji kedelai

Gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) adalah gel yang dibuat dari ekstrak biji kedelai menggunakan teknik maserasi dengan pelarut etanol 96% di Materia Medika, Batu kemudian dijadikan gel dengan menggunakan basis gel HPMC dan didapatkan sediaan gel dengan konsentrasi 40%, 60%, dan 80%. Biji kedelai diperoleh dari Balitkabi Pusat Unggul Iptek (PUI) Aneka Kacang dan Umbi di Kendalpayak, Pakisaji, Malang. Kedelai yang dipilih adalah biji kedelai Devon1 (Kedelai Isoflavon) yang memiliki kandungan isoflavon sejumlah 2.219,7 µg/g.

##### 4.6.2 Ulkus Traumatik Mukosa Labial

Pada penelitian ini, ulkus traumatik adalah ulkus yang ditandai dengan lesi berbentuk bulat, putih, dengan sentral kekuningan yang berisi eksudat fibrinosa dengan tepi kemerahan (Mendrofa dkk, 2015). Pembuatan ulkus traumatik pada tikus yang sudah dianestesi ketamin dilakukan dengan menggunakan stopper amalgam dengan ukuran penampang  $\pm 3$  mm selama 1 detik yang telah dipanaskan di atas bunsen yang berbahan bakar spiritus selama 15 detik. Pengamatan sudah terbentuk ulkus atau tidak dilakukan 24 jam setelah pembuatan ulkus.



### 4.6.3 Jumlah Makrofag

Makrofag memiliki bentuk oval, berinti bulat atau ginjal yang berwarna keunguan, dan bergranula (Ross, *et al.*, 2011).

Penghitungan jumlah makrofag adalah penghitungan sel makrofag yang dilihat pada sediaan preparat ulkus pasca pewarnaan *Hematoxylin Eosin* dilihat dari lima lapang pandang dengan menggunakan mikroskop digital OLYMPUS seri XC10 yang dilengkapi dengan software OLYVIA (*Viewer for Imaging Applications*) dengan perbesaran 400x.

## 4.7 Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data

### 4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba diseleksi berdasarkan kriteria sampel, kemudian dibagi menjadi 8 kelompok, masing-masing terdiri dari 4 ekor tikus yang dipelihara di dalam tempat pemeliharaan hewan coba.

### 4.7.2 Pemeliharaan Hewan Coba

Sebanyak 32 ekor tikus putih galur wistar jantan (*Rattus norvegicus*) diadaptasi di Laboratorim Biosains Universitas Brawijaya Malang dengan kandang tunggal dan diberi makan dan minum standar.

### 4.7.3 Determinasi Tanaman Kedelai

Kedelai (*Glycine max*) diperoleh dari Balitkabi Pusat Unggulan IPTEK (PUI) Aneka Kacang dan Umbi di Kendal Payak, Pakisaji, Malang. Biji kedelai yang dipilih adalah Devon1.



#### 4.7.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Kedelai

Biji Kedelai Devon 1 dari Balitkabi dibawa ke Matera Medika Batu. Biji kedelai basah mula-mula dikeringkan di oven kemudian di giling dengan alat penggiling hingga berbentuk bubuk. Bubuk biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merill) sebanyak 3000 gram yang didapatkan dari kurang lebih 4000 gram biji kedelai basah, kemudian direndam dalam etanol 96% sampai volume 6000 ml, lalu dibiarkan mengendap selama 9 jam. Setelah itu, rendaman bubuk biji kedelai disaring menggunakan kain penyaring, kemudian ampas hasil penyaringan direndam dalam etanol 96% sampai volume 4000 ml selama 24 jam. Lapisan atas campuran etanol dengan zat aktif diambil, dimasukkan dalam labu evaporasi. Filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* selama 9 jam hingga etanol berhenti menetes. Hasil ekstrak etanol biji kedelai sebanyak 165 ml dengan konsistensi seperti minyak dimasukkan dalam botol plastik.

#### 4.7.5 Pembuatan Gel Ekstrak Etanol Kedelai

Prosedur pembuatan gel dilakukan dengan cara:

- 1) Mendispersikan *Hydroxypropyl Methylcellulose* (HPMC) kedalam akuades pada suhu 80°C hingga mengembang dan diaduk terus sampai terbentuk basis gel.
- 2) Menambahkan ekstrak etanol biji kedelai dan akuades ke dalam basis dan diaduk hingga homogen.



a. Formulasi sediaan gel kedelai

Tabel 2 Formulasi sediaan gel kedelai

Bahan	Formula (%)		
	40%	50%	60%
Ekstrak Etanol Biji Kedelai (%)	40	60	80
HPMC (%)	5	5	5
Gliserin (%)	10	10	10
Metil Paraben (%)	0,3	0,3	0,3
Propil Paraben (%)	0,3	0,3	0,3
Aquadest (%)	100	100	100

Sumber: Ulfa, 2016.

- Menambahkan metil paraben dan propil paraben, kemudian diaduk hingga homogen.

**4.7.6 Pembuatan Ulkus Traumatik pada Mukosa Labial**

**Tikus Putih**

Tikus diadaptasi terlebih dahulu selama 1 minggu untuk penyesuaian dengan lingkungan dalam kandang yang berukuran 40 x 30 x 14 cm<sup>3</sup> dan mendapatkan kesehatan umum yang baik, serta diberi makanan setiap pagi, siang, dan malam dan minum air matang dalam botol 300 mL yang dilengkapi pipa kecil. Pada hari pertama setelah masa adaptasi, agar hewan coba tidak merasa nyeri saat diberi perlakuan awal, pada semua hewan coba dilakukan anestesi



menggunakan ketamin dengan dosis 1000mg/10ml sebanyak 0,1 cc dan xylazine 20 mg/ml sebanyak 0,01 cc injeksi peritoneal. Selanjutnya, dilakukan pembuatan ulkus dengan menggunakan amalgam stopper yang penampangannya berukuran  $\pm 3$  mm selama 1 detik yang telah dipanaskan di atas bunsen berbahan bakar spiritus 15 detik. Kemudian masing-masing tikus dimasukkan ke dalam kandang yang telah diberi label kelompok kontrol negatif K-(2) dan K-(6), kelompok perlakuan 1 P1(2) dan P1(6), kelompok perlakuan 2 P2(2) dan P2(6), dan kelompok perlakuan 3 P3(2) dan P3(6). Keesokan harinya dilakukan pengamatan sudah terbentuk ulkus atau tidak. Apabila sudah terbentuk ulkus, ditandai dengan adanya lesi berbentuk bulat, berwarna putih dengan sentral kekuningan yang berisi eksudat fibrinosa dengan tepi kemerahan (Mendrofa dkk, 2015)

#### 4.7.7 Pemberian Gel Ekstrak Etanol Kedelai

Pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai dilakukan setelah terbentuknya ulkus yaitu 24 jam setelah induksi panas. Gel dioleskan tipis-tipis 2 kali sehari setiap pagi dan sore sampai hari kedua dan keenam pada kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3). Sedangkan kelompok kontrol dioleskan gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai tipis-tipis dengan frekuensi 2 kali sehari setiap pagi dan sore sampai hari ke-2 dan ke-6. Pengolesan gel dengan menggunakan *cotton bud* dilakukan oleh satu orang sehingga banyaknya gel dan tekanan pengolesan gel dapat terkontrol.



#### 4.7.8 Pembedahan Hewan Coba

Setelah pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai selama 2 dan 6 hari, hewan coba dilakukan anestesi dengan menggunakan ketamine dosis letal sebanyak 3x dosis anestesi yaitu 0,9 ml injeksi peritoneal.

Kemudian dilakukan konfirmasi kematian tikus dengan cara melihat aspirasinya, apabila sudah tidak terlihat aspirasinya maka jaringan ulkus diswab dengan alkohol 70% lalu dilakukan eksisi pada daerah ulkus kemudian dimasukkan ke dalam tabung berisi formalin 10% untuk fiksasi jaringan dan diberi label. Tikus dikuburkan dalam tanah dengan bantuan tenaga ahli dari laboratorium.

#### 4.7.9 Prosedur Pembuatan Preparat Pengamatan Sediaan

##### Histologi Mukosa Labial Tikus Putih

###### A. Fiksasi

Pada tahap fiksasi, dilakukan perendaman jaringan ulkus pada larutan formalin 10% selama 18-24 jam atau 1-3 hari. Kemudian jaringan dicuci dengan akuades selama 15 menit.

###### B. *Embedding*

Jaringan ulkus dipotong dengan kepadatan sekitar 3 mm kemudian dimasukkan ke dalam kaset. Jaringan kemudian dimasukkan ke dalam beberapa cairan, yaitu alkohol bertingkat mulai dari konsentrasi terendah sampai tertinggi, kemudian dimasukkan ke dalam xylol masing-masing selama 45 menit. Kemudian dilanjutkan jaringan



dimasukkan ke dalam inkubator dan dilanjutkan dengan penanaman jaringan pada *paraffin* blok.

#### C. *Slicing*

Jaringan yang sudah tertanam dalam *paraffin* diletakkan pada blok es selama kurang lebih 10 menit kemudian blok ditempelkan pada *cakram microtom rotary* kemudian sayat jaringan ulkus secara vertikal dengan ukuran 4 mikron.

Sayatan jaringan ulkus yang berbentuk pita diambil dengan menggunakan kuas/stick kecil, kemudian diletakkan pada *water bath* yang mengandung gelatin dengan suhu 36° C. Setelah sayatan jaringan ulkus merentang, sayatan diambil dengan menggunakan *object glass* dan didiamkan selama 24 jam.

#### D. *Staining*

*Object glass* dimasukkan dalam *Xylol* selama 15 menit x 3, *alcohol* 96% selama 15 menit x 3, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. Setelah itu *object glass* dimasukkan pada pewarna *Haematoxylin* selama 15 menit dan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. *Object glass* dimasukkan pada *Lithium carbonat* selama 20 detik dan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. Selanjutnya *object glass* dimasukkan pada pewarna *Eosin* selama 15 menit, *alcohol* 96% selama 15 menit x 3 dan *Xylol* selama 15 menit x 3. Dan terakhir, preparat ditutup dengan menggunakan *deck glass Entellan*.



#### 4.7.10 Identifikasi Makrofag

Makrofag memiliki ukuran 10-20  $\mu\text{m}$  dengan bentuk oval, berinti bulat atau ginjal yang berwarna keunguan, dan bergranula (Ross *et al.*, 2011). Jumlah makrofag dihitung pada daerah radang mukosa oral tikus putih yang telah dibuat preparat/sediaan mikroskopis dengan pengecatan *Haematoxylin-Eosin* dan dilihat pada lima lapang pandang dengan menggunakan mikroskop digital OLYMPUS seri XC10 yang dilengkapi dengan software OLYVIA (*Viewer for Imaging Application*) dengan perbesaran 400x tiap lapang pandangnya. Hasil penghitungan dari lima pandang tersebut dirata-rata dari masing-masing kelompok tersebut.

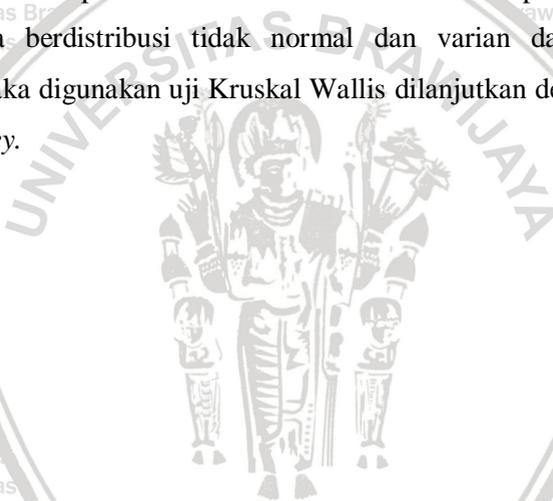
#### 4.8 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik. Mula-mula data diuji dengan menggunakan Shapiro-wilk untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal dengan melihat nilai signifikansi lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ). Setelah diketahui bahwa data masing-masing kelompok berdistribusi normal, maka selanjutnya dilakukan *Levene's test* untuk menguji homogenitas dari variasi data tiap-tiap kelompok. Apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) data dapat diuji perbandingan kelompok dengan jumlah kelompok lebih dari 2 dengan menggunakan uji hipotesis *One Way Anova (Analysis of Variance)* dua arah dengan tingkat kepercayaan 95% ( $P < 0,05$ ) untuk mengetahui kemaknaan perbedaan antara kelompok perlakuan.

Setelah diuji menggunakan *One Way Anova*, keseluruhan kelompok



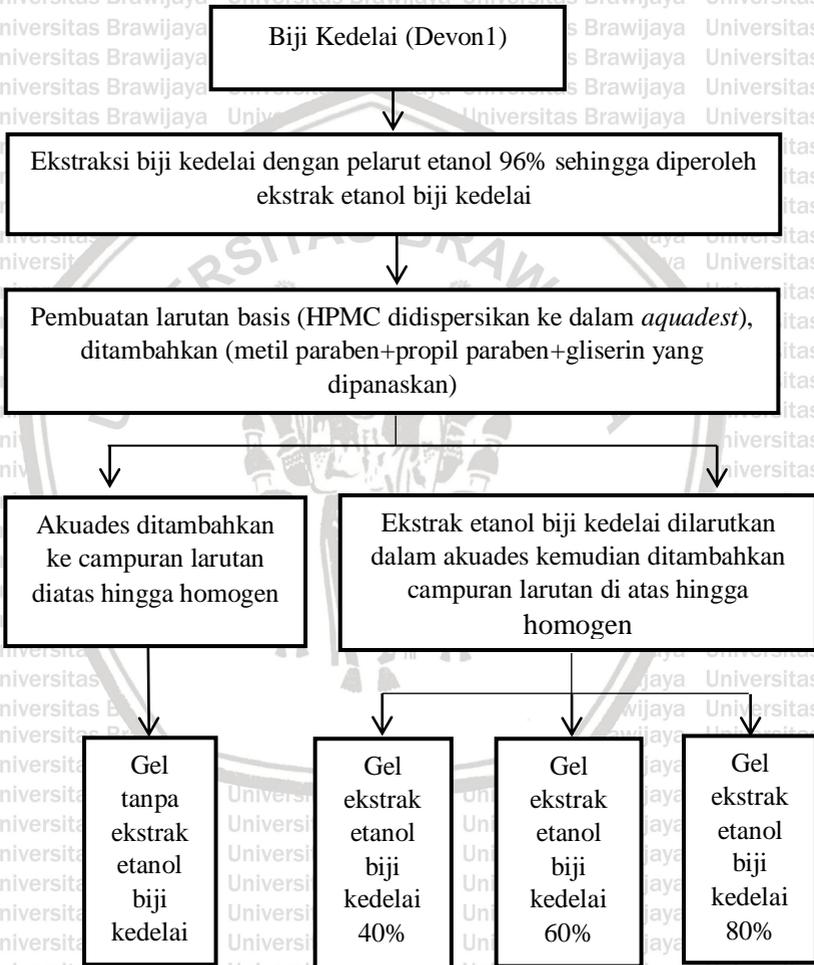
menunjukkan hasil nilai signifikansi kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ) maka hipotesis diterima lalu dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk mengetahui perbandingan antara rata-rata perlakuan yang satu dengan rata-rata perlakuan lain atau untuk mengetahui manakah diantara rata-rata perlakuan tersebut yang berbeda nyata satu dengan yang lain. Selanjutnya dilakukan uji Korelasi Pearson untuk mengetahui hubungan antara dua variable serta arah hubungan kedua variable tersebut. Selanjutnya dilakukan uji *Independent T-Test* untuk mengetahui perbedaan mean dalam dua kelompok bebas. Apabila data berdistribusi tidak normal dan varian data tidak homogen, maka digunakan uji Kruskal Wallis dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.



## 4.9 Skema Prosedur Penelitian

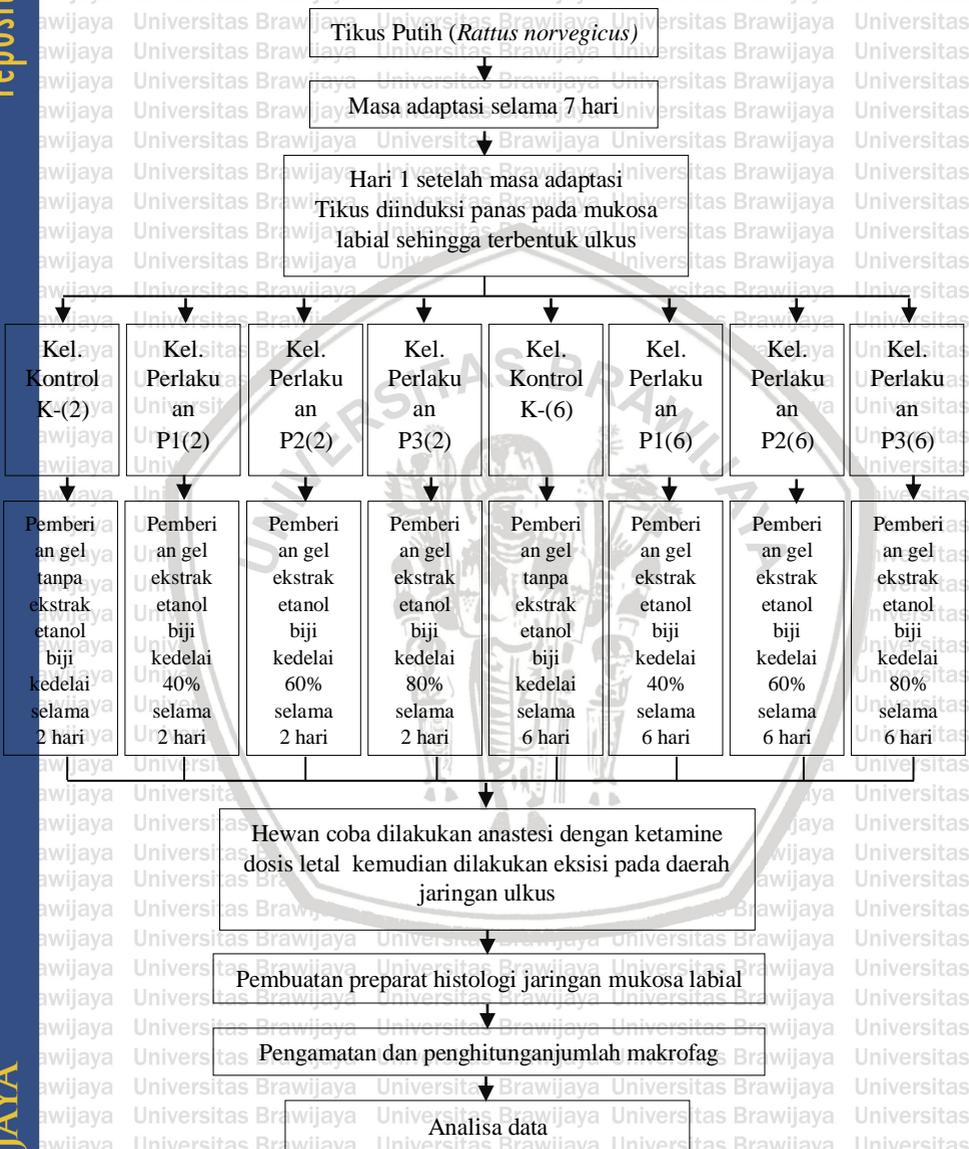
### 4.9.1 Pembuatan Gel Ekstrak Etanol Biji Kedelai

Gambar 9 Pembuatan gel ekstrak etanol biji kedelai



## 4.9.2 Uji Efektivitas Gel Ekstrak Etanol Biji Kedelai

Gambar 10 Uji efektivitas gel ekstrak etanol biji kedelai





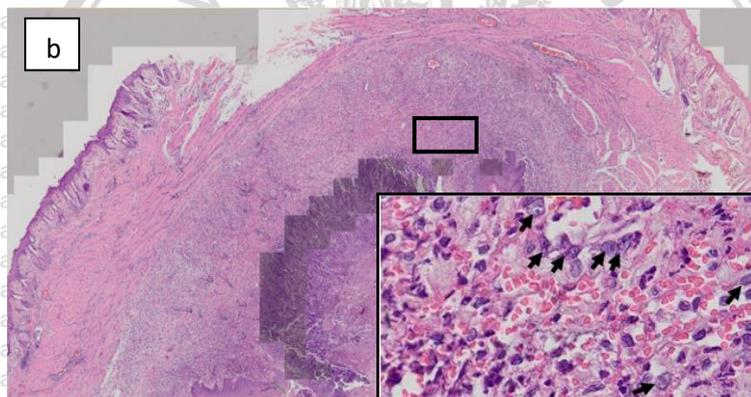
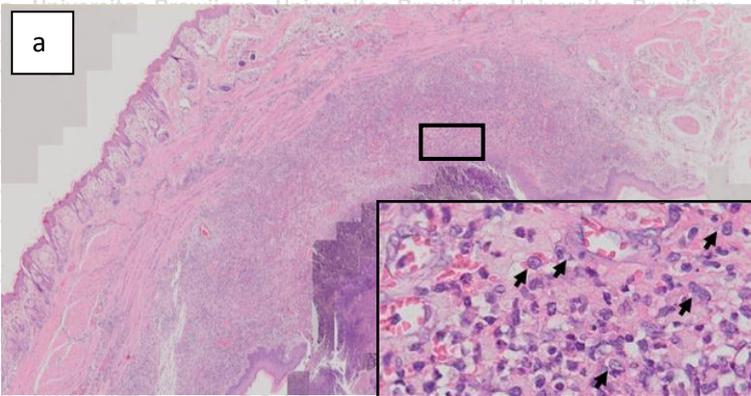
## BAB V

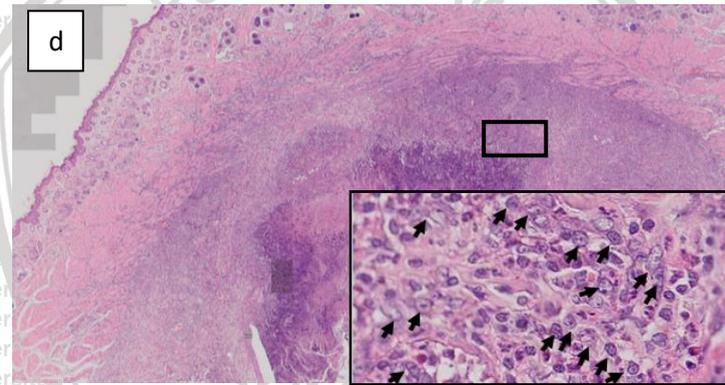
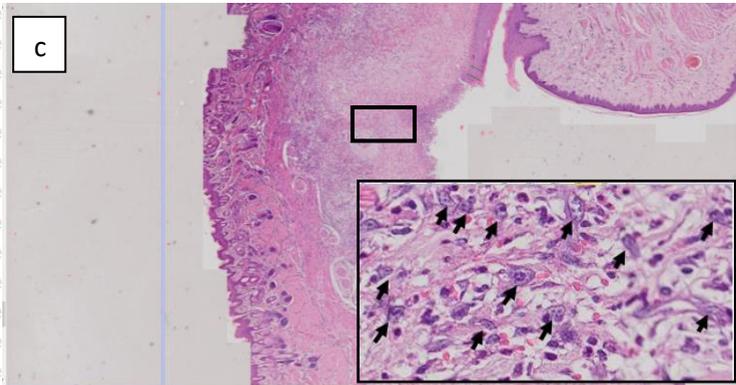
### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini diawali dengan melakukan adaptasi hewan coba selama 7 hari. Hewan coba kemudian dibagi menjadi 8 kelompok, yaitu, kelompok kontrol kedua (K-(2)), kelompok kontrol hari keenam (K-(6)), kelompok perlakuan dengan konsentrasi gel 40% hari kedua (P1(2)), kelompok perlakuan dengan konsentrasi gel 40% hari keenam (P1(6)), kelompok perlakuan dengan konsentrasi gel 60% hari kedua (P2(2)), kelompok perlakuan dengan konsentrasi gel 60% hari keenam (P2(6)), kelompok perlakuan dengan konsentrasi gel 80% hari kedua (P3(2)), dan kelompok perlakuan dengan konsentrasi gel 80% hari keenam (P3(6)). Kemudian melakukan pembuatan ulkus terhadap delapan kelompok hewan coba. Sampel didapatkan dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dikorbankan setelah hari kedua dan keenam. Setelah itu dilakukan pembuatan preparat menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*. Pengamatan preparat menggunakan mikroskop digital OLYMPUS seri XC10 dengan *software* OLYVIA dengan perbesaran 400x, didapatkan gambaran makrofag dengan bentuk oval, berinti bulat atau ginjal yang berwarna keunguan, dan bergranula (Ross *et al.*, 2011).

Gambar 11 Gambaran sel makrofag pada hari kedua menggunakan mikroskop digital dengan perbesaran 400x dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*.





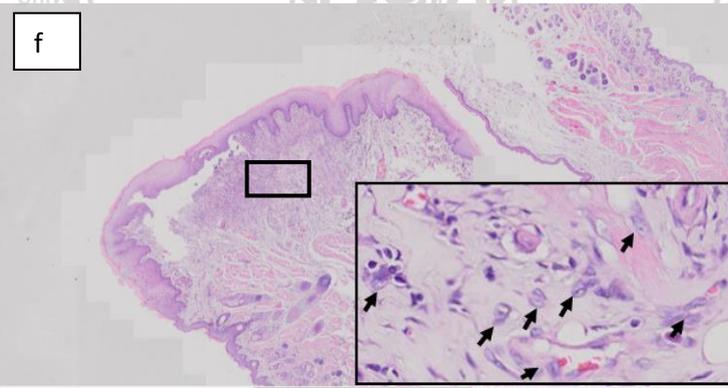
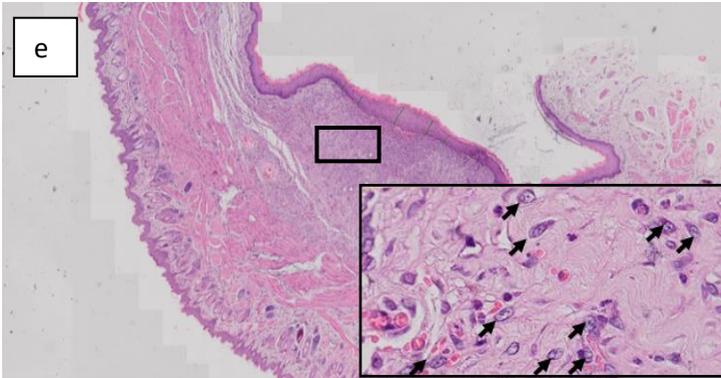
Keterangan : Tanda panah hitam ( ↗ ) pada inset menunjukkan sel makrofag

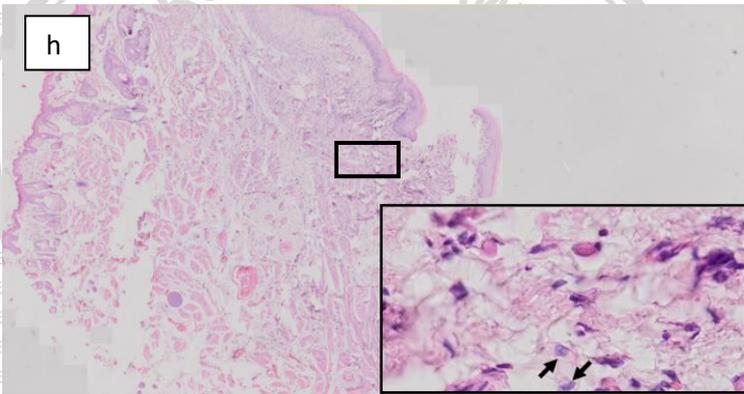
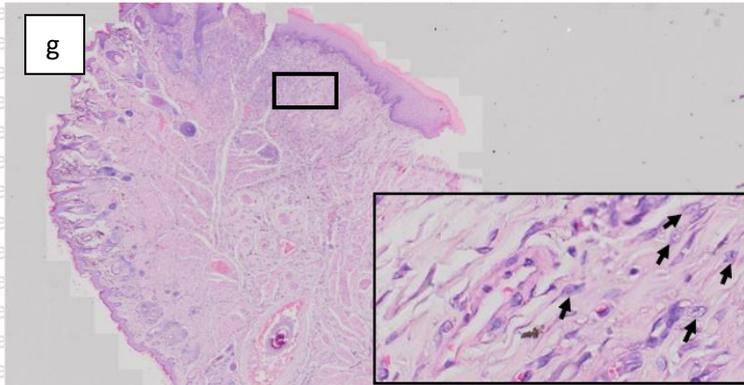
- a) Kelompok kontrol negatif (K-(2))
- b) Kelompok perlakuan 1 (P1(2))
- c) Kelompok perlakuan 2 (P2(2))
- d) Kelompok perlakuan 3 (P3(2))

Pada kelompok K-(2) didapatkan penghitungan rata-rata jumlah makrofag sebesar 8,6, kelompok P1(2) sebesar 10,8, kelompok P2(2) sebesar 13,6, sedangkan kelompok P3(2) sebesar 16,67. Hal ini

menunjukkan bahwa jumlah makrofag paling banyak pada hari ke-2 yaitu kelompok perlakuan P3(2) dan jumlah makrofag paling sedikit yaitu kelompok kontrol K-(2).

Gambar 12 Gambaran makrofag pada hari keenam menggunakan mikroskop digital dengan perbesaran 400x dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*.





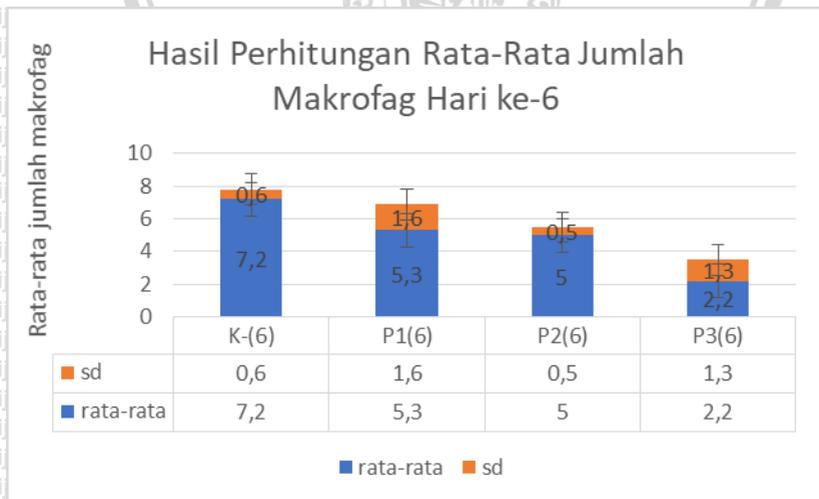
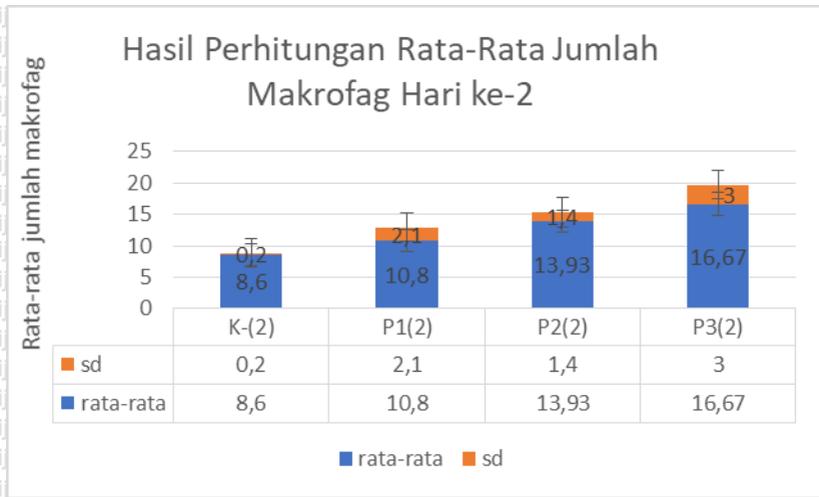
Keterangan : Tanda panah hitam ( ↗ ) pada inset menunjukkan sel makrofag

- e) Kelompok kontrol negatif (K-(6))
- f) Kelompok perlakuan 1 (P1(6))
- g) Kelompok perlakuan 2 (P2(6))
- h) Kelompok perlakuan 3 (P3(6))

Pada kelompok K-(6) didapatkan penghitungan rata-rata jumlah makrofag sebesar 7,2, kelompok P1(6) sebesar 5,3, kelompok P2(6) sebesar 5, sedangkan kelompok P3(6) sebesar 2,2. Hal ini

menunjukkan bahwa jumlah makrofag paling banyak pada hari ke-6 yaitu kelompok kontrol K-(6) dan jumlah makrofag paling sedikit yaitu kelompok perlakuan P3(6).

Gambar 13. Diagram Penghitungan Rata-Rata Jumlah Makrofag Hari ke-2 dan Hari ke-6



Berdasarkan diagram diatas, didapatkan jumlah makrofag paling banyak yaitu pada kelompok perlakuan 3 hari ke-2 dan jumlah makrofag paling sedikit yaitu pada kelompok perlakuan 3 hari ke-6.

Hal ini diakibatkan adanya pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) dengan konsentrasi 80% pada kelompok perlakuan 3 sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan ulkus traumatik.

## 5.2 Analisis Data

Data hasil penelitian berupa jumlah makrofag dianalisis menggunakan statistik. Mula-mula dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Apabila data berdistribusi normal dan homogen, dapat diuji dengan menggunakan metode *One Way Anova* dilanjutkan Uji *Post Hoc* Tukey untuk mengetahui perbandingan antar kelompok.

Selanjutnya Uji korelasi pearson dilakukan untuk mengetahui apakah hubungan atau korelasi antara pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih. Uji *Independent T-test* dilakukan untuk mengetahui perbedaan mean antara dua kelompok bebas.

### 5.2.1 Uji Normalitas

Uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk*. Uji normalitas terpenuhi apabila nilai signifikansi hasil penghitungan  $p > 0,05$ .

Berdasarkan penghitungan analisis data, nilai signifikansi menunjukkan  $p = 0,3$  pada hari ke-2 dan  $p = 0,72$  pada hari ke-6.



Maka dapat disimpulkan bahwa nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 sehingga uji normalitas terpenuhi dan data berdistribusi normal.

### 5.2.2 Uji Homogenitas Ragam

Uji Homogenitas ragam dilakukan dengan menggunakan *Levene's test*. Uji homogenitas terpenuhi apabila nilai signifikansi hasil penghitungan  $p > 0,05$ . Berdasarkan hasil penghitungan analisis data dengan menggunakan *software* didapatkan koefisien *Levene statistic* pada hari kedua sebesar 1.784 dengan nilai signifikansi menunjukkan  $p = 0,228$  dan koefisien *Levene statistic* pada hari keenam sebesar 2.043 dengan nilai signifikansi menunjukkan  $p = 0,186$ . Apabila dibandingkan dengan  $p > 0,05$ , maka dapat disimpulkan bahwa nilai signifikansi lebih besar dari 0,05 sehingga uji homogenitas terpenuhi dan data tersebut homogen.

### 5.2.3 Uji One Way Anova

Analisis dengan menggunakan uji *One Way Anova* bertujuan untuk mengevaluasi perbedaan nilai jumlah makrofag masing-masing kelompok. Perbedaan rata-rata jumlah makrofag dianggap bermakna apabila nilai  $p < 0,05$ . Berdasarkan penghitungan analisis data, didapatkan nilai  $p = 0,005$  pada hari ke-2 dan  $p = 0,004$  pada hari ke-6 ( $p < 0,05$ ), maka terdapat perbedaan jumlah makrofag yang signifikan pada hari ke-2 maupun hari ke-6.

### 5.2.4 Uji Post Hoc Tukey

Uji *Pos Hoc* Tukey dilakukan untuk mengetahui perbandingan antara rata-rata perlakuan yang satu dengan rata-rata perlakuan lain



atau untuk mengetahui manakah diantara rata-rata perlakuan tersebut yang berbeda nyata satu dengan yang lain. Pada uji ini, suatu data dikatakan berbeda secara bermakna apabila nilai signifikansi  $p < 0,05$ .

Tabel 3. Uji *Post Hoc* Tukey ; (a) Hari ke-2 dan (b) Hari ke-6

a. Hari ke-2

Kelompok	Kelompok Pemanding	Nilai Sig.	Keterangan
K-(2)	P1(2)	0.552	Tidak Signifikan
	P2(2)	0.057	Tidak Signifikan
	P3(2)	0.004	Signifikan
P1(2)	P2(2)	0.366	Tidak Signifikan
	P3(2)	0.027	Signifikan
P2(2)	P3(2)	0.299	Tidak Signifikan

b. Hari ke-6

Kelompok	Kelompok Pemanding	Nilai Sig.	Keterangan
K-(6)	P1(6)	0.258	Tidak Signifikan
	P2(6)	0.159	Tidak Signifikan
	P3(6)	0.003	Signifikan
P1(6)	P2(6)	0.983	Tidak Signifikan
	P3(6)	0.039	Signifikan
P2(6)	P3(6)	0.064	Tidak Signifikan



Keterangan tabel:

K-(2) = kelompok kontrol negatif yang diberi gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai selama 2 hari.

P1(2) = kelompok perlakuan 1 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 40% selama 2 hari.

P2(2) = kelompok perlakuan 2 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 60% selama 2 hari.

P3(2) = kelompok perlakuan 3 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 80% selama 2 hari.

K-(6) = kelompok kontrol negatif yang diberi gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai selama 6 hari.

P1(6) = kelompok perlakuan 1 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 40% selama 6 hari.

P2(6) = kelompok perlakuan 2 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 60% selama 6 hari.

P3(6) = kelompok perlakuan 3 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 80% selama 6 hari.

Berdasarkan tabel di atas, terdapat perbedaan jumlah makrofag yang berbeda secara signifikan pada hari kedua yaitu kelompok kontrol negatif yang diberi gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai dengan kelompok perlakuan 3 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 80% karena  $p = 0,004$  ( $p < 0,05$ ). Kelompok perlakuan 1 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 40% dengan kelompok perlakuan 3 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 80% karena  $p = 0,027$  ( $p < 0,05$ ).

Pada hari keenam terdapat perbedaan jumlah makrofag yang berbeda secara signifikan yaitu kelompok kontrol negatif yang diberi gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai dengan kelompok perlakuan 3 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 80% karena  $p = 0,003$



( $p < 0,05$ ). Kelompok perlakuan 1 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 40% dengan kelompok perlakuan 3 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 80% karena  $p = 0,039$  ( $p < 0,05$ ).

### 5.2.5 Uji Korelasi Pearson

Uji Korelasi Pearson digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya korelasi antara pemberian dosis gel ekstrak etanol biji kedelai terhadap jumlah makrofag. Apabila nilai signifikansi  $p < 0,05$  maka terdapat korelasi antara dua kelompok. Berdasarkan penghitungan uji korelasi pearson hari ke-2 dan ke-6 menunjukkan bahwa signifikansi two tailed yaitu 0.000 ( $p < 0,05$ ) dengan korelasi pearson sebesar 0,880 (positif) dan 0,852 (negatif). Maka dapat disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih. Nilai signifikansi positif pada hari ke-2 menunjukkan bahwa terdapat peningkatan jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai dengan derajat hubungan sempurna karena nilai pearson antara 0,81-1,00. Nilai signifikansi negatif pada hari ke-6 menunjukkan bahwa terdapat penurunan jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai dengan derajat hubungan sempurna karena nilai pearson antara 0,81-1,00.



### 5.2.6 Uji Independent T-Test

Uji Independent T-Test digunakan untuk mengetahui perbedaan rata-rata antara dua kelompok bebas. Perbedaan yang signifikan apabila nilai  $p < 0,05$  sedangkan apabila  $p > 0,05$  maka perbedaan tidak signifikan. Berdasarkan uji Independent T-Test, terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok K-(2) dengan kelompok K-(6), kelompok P1(2) dengan kelompok P1(6), kelompok P2(2) dengan kelompok P2(6), dan kelompok P3(2) dengan kelompok P3(6). Perbedaan nilai signifikansi (*2-tailed*) terkecil ditunjukkan kelompok P2, kemudian kelompok P3, kelompok kontrol negatif dan terakhir kelompok P1.

Tabel 4. Hasil Uji Independent T-test

Kelompok	Kelompok Pembeding	Sig. two tailed	Keterangan
K-(2)	K-(6)	0.019	Signifikan
P1(2)	P1(6)	0.024	Signifikan
P2(2)	P2(6)	0.001	Signifikan
P3(2)	P3(6)	0.002	Signifikan

Keterangan tabel:

K-(2) = kelompok kontrol negatif yang diberi gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai selama 2 hari.

P1(2) = kelompok perlakuan 1 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 40% selama 2 hari.

P2(2) = kelompok perlakuan 2 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 60% selama 2 hari.

P3(2) = kelompok perlakuan 3 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 80% selama 2 hari.

K-(6) = kelompok kontrol negatif yang diberi gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai



selama 6 hari.

P1(6) = kelompok perlakuan 1 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 40% selama 6 hari.

P2(6) = kelompok perlakuan 2 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 60% selama 6 hari.

P3(6) = kelompok perlakuan 3 yang diberi gel ekstrak etanol biji kedelai 80% selama 6 hari.

### 5.3 Pembahasan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) terhadap jumlah makrofag pada ulkus traumatik mukosa labial tikus putih. Biji kedelai yang digunakan yaitu Devon 1. Devon 1 memiliki isoflavon sebesar 2.219,74  $\mu\text{g/g}$ . Ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) didapatkan melalui teknik maserasi dengan menggunakan larutan etanol 96% karena etanol bersifat polar sehingga dapat melarutkan senyawa polar, salah satunya isoflavon (Arifianti *et al.*, 2014). Ekstrak etanol biji kedelai kemudian dijadikan gel dengan menggunakan basis gel HPMC dan didapatkan sediaan gel dengan konsentrasi 40%, 60%, dan 80%. Sediaan gel dipilih karena daya lekat tinggi, jernih, dan memiliki efek dingin (Kuncari *et al.*, 2014). Gel ekstrak etanol biji kedelai diberikan sebanyak 2 kali sehari dengan menggunakan *cotton bud*.

Pada penelitian hari ke-2, kelompok gel ekstrak etanol biji kedelai 80% memiliki jumlah makrofag yang paling signifikan dibandingkan kelompok lain dihari kedua (lihat tabel 3(a)).

Peningkatan jumlah makrofag pada kelompok gel ekstrak etanol biji kedelai 80% dikarenakan oleh stimulasi dari kandungan biji kedelai



yaitu isoflavan yang dapat meningkatkan produksi TGF- $\beta$  (Kim *et al.*, 2015). TGF- $\beta$  yang dilepaskan oleh platelet yang terdegranulasi merupakan salah satu agen kemotaktif makrofag yang akan menarik makrofag ke daerah luka (Miloró *et al.*, 2004). Peningkatan pelepasan TGF- $\beta$  oleh platelet akan membuat peningkatan infiltrasi sel makrofag ke daerah luka. Setelah menuju daerah luka, makrofag mulai aktif melakukan proses fagositosis dalam 48-72 jam setelah terjadinya luka. Makrofag pada fase inflamasi berperan memfagositosis dan melepaskan sitokin dan *growth factor* yang akan menstimulasi fase proliferasi (Velnar *et al.*, 2009).

Kelompok gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai pada hari ke-2 memiliki jumlah makrofag paling sedikit sehingga dapat disimpulkan bahwa proses penyembuhan masih dalam tahap *self-healing* tanpa stimulasi dari kandungan isoflavan biji kedelai sehingga fagositosis dan pelepasan sitokin dan *growth factor* oleh makrofag belum maksimal. Semakin tinggi dosis gel, maka semakin besar kandungan zat aktif isoflavan. Hal ini menyebabkan peningkatan jumlah makrofag secara berurutan dari kelompok gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai, kelompok gel ekstrak etanol biji kedelai 40%, kelompok gel ekstrak etanol biji kedelai 60%, dan kelompok gel ekstrak etanol biji kedelai 80%.

Pada hari ke-6, kelompok gel ekstrak etanol biji kedelai 80% memiliki jumlah makrofag yang paling signifikan dibandingkan kelompok lain pada hari ke-6 (lihat tabel 3(b)). Sel makrofag pada fase inflamasi yang mengalami peningkatan, secara bertahap akan mengalami penurunan setelah 5 hari pasca luka. Apabila jumlah



makrofag tidak menurun hal ini menandakan proses inflamasi masih terus berlanjut (Velnar *et al.*, 2009). Penurunan jumlah makrofag dikarenakan jumlah makrofag telah mengalami kenaikan sehingga makrofag sebagai agen fagositosis mengalami apoptosis (Wynn *et al.*, 2014).

Peningkatan jumlah makrofag oleh kandungan isoflavon biji kedelai pada hari kedua membuat peningkatan produksi sitokin dan *growth factor* seperti TNF- $\alpha$  dan TGF- $\beta$ . Fase penyembuhan saling berkesinambungan, TGF- $\beta$  selain sebagai *growth factor* juga memiliki peran sebagai *inhibitor* ataupun *activator*. TGF- $\beta$  dapat menurunkan migrasi makrofag dan TNF- $\alpha$  merupakan salah satu penginduksi kematian sel (Kim *et al.*, 2006, Soeroso, 2007). Jumlah makrofag menurun juga dikarenakan produksi TNF- $\alpha$  dan TGF- $\beta$  yang diduga terstimulasi oleh isoflavon telah mencapai maksimal, sehingga akan menjadi *inhibitor* makrofag. Penurunan jumlah makrofag ini menandakan bahwa proses penyembuhan luka telah memasuki fase proliferasi. Sehingga proses penyembuhan luka juga semakin lebih cepat dari normalnya.

Kelompok gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai pada hari ke-6 memiliki jumlah makrofag paling banyak sehingga dapat disimpulkan bahwa proses penyembuhan masih dalam tahap *self-healing* tanpa stimulasi dari kandungan isoflavon biji kedelai sehingga jumlah makrofag masih tinggi dibandingkan kelompok lain pada hari keenam. Penurunan jumlah makrofag secara berurutan dari kelompok gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai, kelompok gel ekstrak



etanol biji kedelai 40%, 60%, dan 80%.

Hasil perbandingan antar kelompok yang sama pada hari kedua dan keenam terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan pada tiap kelompok yang dibandingkan. Gel ekstrak etanol biji kedelai dengan konsentrasi 60% memiliki perbedaan jumlah makrofag yang paling tinggi dengan nilai signifikansi 0,001 ( $<0,05$ ) dilanjutkan gel ekstrak etanol biji kedelai konsentrasi 80% dengan nilai signifikansi sebesar 0,002 ( $<0,05$ ). Hal ini membuktikan bahwa pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai yang mengandung isoflavin selama enam hari dapat menurunkan jumlah makrofag sehingga proses penyembuhan luka menjadi lebih cepat. Namun, dalam beberapa penelitian kandungan isoflavin dikhawatirkan memiliki efek negatif seperti karsinogenesis dan atrofi thymus (Yu *et al.*, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merill) berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih. Sehingga, hipotesis dalam penelitian ini dapat diterima.



## BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

1. Pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) berpengaruh terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik tikus putih.
2. Pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai 80% mempunyai rata-rata jumlah makrofag yang berbeda signifikan dibandingkan gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai, gel ekstrak etanol biji kedelai 40% dan 60% pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih hari ke-2.
3. Pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai 80% mempunyai rata-rata jumlah makrofag yang berbeda signifikan dibandingkan gel tanpa ekstrak etanol biji kedelai, gel ekstrak etanol biji kedelai 40% dan 60% pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih hari ke-6.
4. Rata-rata jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih memiliki perbedaan yang signifikan antara jumlah makrofag pada hari kedua dan pada hari keenam.
5. Hubungan dosis pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai terhadap jumlah makrofag pada penyembuhan ulkus

traumatik mukosa labial tikus putih yaitu semakin tinggi konsentrasi gel ekstrak etanol biji kedelai, jumlah makrofag semakin mengalami penurunan.

## 6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek samping gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) terhadap penyembuhan ulkus traumatik apabila diaplikasikan pada manusia.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai variable lain yang terkait dan berperan dalam penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial dengan pemberian gel ekstrak etanol biji kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill)



## DAFTAR PUSTAKA

Adie M.M., dan Krisnawati A. (2013). Biologi Tanaman Kedelai in Sumarno, Suyamto, Widjono A., Hermanto, Kasim H (Eds), *Kedelai Teknik Produksi dan Pengembangan*. Badan Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Malang. p.45-73.

Adie M. (2015). Devon1: Calon Varietas Kedelai mengandung Isoflavon Tinggi. [Online], <http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/infotek/devon-1-calon-varietas-kedelai-mengandung-isoflavon-tinggi/> diakses pada 1 Agustus 2018.

Afiyata N., Sarosa H., Sumarwati T. (2011). Pengaruh Tempe terhadap Kemampuan Fagositosis Makrofag. *Sains Medika*, 3(1): 54-62.

Akbar B. (2010). Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas. Jakarta: Adabia Press.

Anas Y., Pramesti D., Nisa S.W., Hidayati D.N. (2017). Efek Ekstrak Etanol Biji Kedelai (*Glycyne max* (L.) Merr) sebagai Antikolesterol dan Antiobesitas pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi MSG dan Identifikasi Senyawa Aktifnya. Prosiding SNST ke-8, Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim Semarang.

Arifianti L., Oktarina R.D., Kusumawati D. (2014). Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Kadar Sinensetin dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *E-Journal Planta Husada*, 2(1): 1-4.

Ardana M., Aeyni V., Ibrahim A. (2015). Formulasi dan Optimasi Basis Gel HPMC (Hidroxy Propyl Methyl Cellulose) dengan



Berbagai Variasi Konsentrasi. *J.Trop.Pharm.Chem*, 2(3): 101-108.

Astuti S. (2008). Isoflavon Kedelai dan Potensinya sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 13(2): 126-136.

Budijono S.S., Sari R.P., dan Setianingtyas D. (2014). Perbedaan Efektivitas antara Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Teripang Emas (*Stichopus hermannii*) terhadap Penyembuhan Ulkus Traumatikus di Rongga Mulut. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*, 8(2): 175-185.

Burke B., dan Lewis E.C. (2002). *The Macrophage*, 2<sup>nd</sup> Ed., New York: Oxford University.

Christina B.B.H., Fransisca C., Kristin K., Caroline., Sudiono J. (2015). Peran Monosit (Makrofag) pada Proses Angiogenesis dan Fibrosis. Seminar Nasional Cendekiawan. ISSN: 2460-8696. [Online] <http://www.trijurnal.llemlit.trisakti.ac.id/index.php/semnas/article/view/239/236> diakses pada 13 Agustus 2018

Coondoo A., Phiske M., Verma S., Lahiri K. (2014). Side-effects of topical steroids: A long overdue revisit. *Indian Dermatology Online Journal*, 5(4): 416-425.

Emma S. (2011). Pemanfaatan Limbah Tanaman Palawija. BPTP Sumatera Selatan [Online] <http://sumsel.litbang.pertanian.go.id/index.php/component/content/article/53-it-1/205-limbah-palawija> diakses pada 22 November 2018.

Fitria L., Mulyati., Tiraya C.M., Budi A.S. (2015). Profil Reproduksi Jantan Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Stadia Muda, Pradewasa, dan Dewasa. *Jurnal Biologi Papua*, 7(1): 29-36.

Flanagan M. (2000). The Physiology of Wound Healing. *Journal of Wound Care*, 8(6): 299-300.



Greenberg M.S., Glick M., dan Ship J.A. (2008). *Burket's Oral Medicine*, 11<sup>th</sup> Ed., Hamilton: BC Daker Inc.

Gurtner, G.C., (2007), Wound Healing: Normal and Abnormal. In: Thorne C.H. (ed), Grab and Smith's Plastic Surgery, 6 th ed., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.

Harty, F J, and R Ogston. (2013). *Kamus Kedokteran Gigi*. Translated by Narlan Sumawinata. Jakarta: EGC.

Hasanah Y., dan Sembiring M. (2018). Protein dan Isoflavon Kedelai Varietas Wilis dan Devon 1 dengan Aplikasi Elistor. Seminar Nasional IV PAGI, UMI. [Online] [jurnal.fp.umi.ac.id/index.php/semloknaspagiiv/article/download/51/51](http://jurnal.fp.umi.ac.id/index.php/semloknaspagiiv/article/download/51/51) diakses pada 01 Juli 2019.

Hassan S.M. (2013). Soybean, Nutrition and Health. INTECH, chap.20. [Online] [http://cdn.intechopen.com/pdfs/42663/InTech-Soybean\\_nutrition\\_and\\_health.pdf](http://cdn.intechopen.com/pdfs/42663/InTech-Soybean_nutrition_and_health.pdf) diakses pada 16 Desember 2018.

Irwan A.W., (2006). Budidaya Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill). [Online] [http://sawitwatch.or.id/attachments/138\\_Budidaya%20Kacang%20Kedelai.pdf](http://sawitwatch.or.id/attachments/138_Budidaya%20Kacang%20Kedelai.pdf) diakses pada 8 Maret 2018.

Kalsum, U., Utami, Y.W., Maf'ula, L. (2014). *Perbedaan Perawatan Luka Bakar Derajat II Menggunakan Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) dan Normal Salin Terhadap Jumlah Sel Fibroblas pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar*, [Online], (<https://www.scribd.com/doc/207481919/Luka-Bakar-Kedelai>, diakses tanggal 8 Maret 2018).

Kim J.S., Kim J.G., Moon M.Y., Jeon C.Y., Won H.Y., Kim H.J., Jeon Y.J., Seo J.Y., Kim J.I., Kim J., Lee J.Y., Kim P.H., Park J.B. (2006). Transforming growth factor- $\beta$ 1 regulates macrophage migration via RhoA. *BLOOD*, 108(6):1821-1829.



Kim Y.M., Huh J.S., Lim Y., Cho M. (2015). Soy Isoflavone Glycitin (4'-Hydroxy-6-Methoxyisoflavone-7-D-Glucoside) Promotes Human Dermal Fibroblast Cell Proliferation and Migration via TGF- $\beta$  Signaling. *Phytotherapy Research*, 29: 757-769.

Krisnawati A. (2017). Kedelai sebagai Sumber Pangan Fungsional. *Iptek Tanaman Pangan*. 12(1).

Kumalasari I.D., Astuti E.D., Prihastanti E. (2013). Pembentukan Bintil Akar Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.)Merill) dengan Perlakuan Jerami pada Masa Inkubasi yang Berbeda. *Jurnal Sains & Matematika*. 21(4).

Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. (2007). Buku Ajar Patologi. 7nd, Vol.1. Jakarta: EGC.

Kuncari E.S., Iskandarsyah., Praptiwi. (2014). Evaluasi, Uji Stabilitas Fisik dan Sineresis Sediaan Gel yang Mengandung Minoksidil, Apigenin dan Perasan Herba Seledri (*Apium graveolens* L.). *Bul.Penelit.Kesehat*, 42(4): 213-222.

Klock M. (2017). *Macrophages Origin, Function and Biointervention*. Vol. 62. USA: Springer.

Langlais R.P., Miller C.S., dan Nield-Gehrig J.S. (2017). *Atlas Berwarna Lesi Mulut yang Sering Ditemukan*, 4<sup>th</sup> Ed., (T.Suta, Trans.) Jakarta: EGC.

Laskaris, G. (2016). *Atlas Saku Penyakit Mulut*. (P.Siswasugiwnya, Trans.) Jakarta: EGC.

Lestari L.A., Soesatyo M.H.N.E., Irvati S., Harmayani E. (2012). Peningkatan aktivitas fagositosis dan produksi nitrit oksida pada makrofag peritoneum tikus *Sprague Dawley* yang diberi *Lactobacillus plantarum* Mut7 dan ekstrak serat ubi jalar. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*, 9(2):64-72.

Melwita E., Fatmawati., Oktaviani S. (2014). Ekstraksi Minyak Biji Kapuk dengan Metode Ekstraksi Soxhlet. *Teknik Kimia*, 1(20): 20-27.



Mendrofa, A.N., Karsini I., Mulawarmanti, D. (2015). Ekstrak Daun Mangrove (*A. marina*) Mempercepat Kesembuhan Ulkus Traumatikus. *Dentofasial*, 14 (1): 11-14.

Mescher AL. (2010). Junqueira's Basic Histology Text & Atlas (Twelfth Edition). New York: Mc GrawHill.

Miloro M., Ghalli G.E., Larsen P.E., dan Waite P.D. (2004). *Peterson's Principle of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2<sup>nd</sup> Ed., London: BC Decker Inc.

Minarno E.B. (2016). Analisis Kandungan Saponin pada Daun dan Tangkai Daun *Carica pubescens* Lenne & K.Koch. *El-Hayah*, 5(4): 143-152.

Monaco J.L., Lawrence W.T. (2003). Acute Wound Healing An Overview. *Clinic in Plastic Surgery*, 30: 1-12.

Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2): 361-367.

Neville B.W., Damn D.D., Allen C.M., Bouquot J.E. (2009). *Oral & Maxillofacial Pathology*, 3<sup>rd</sup> ed., WB Saunders: Philadelphia.

Ngajow M., Abidjulu J., Kamu V.S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 2(2): 128-132.

Pitojo, S. (2003). *Benih Kedelai*. Kanisius: Yogyakarta.

Preedy V.R. (2013). Food and Nutritional Components in Focus No. 5 Isoflavones, Chemistry, Analysis, Function, and Effects. The Royal Society of Chemistry: UK.

Puspitasari A.D., dan Proyogo L.S. (2017). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*,



[Online]  
<https://media.neliti.com/media/publications/101239-ID-perbandingan-metode-ekstraksi-maserasi-d.pdf> diakses pada 12 Juli 2018.

Regezi J.A., Sciubba J.J, dan Jordan R.C. (2003). *Oral Pathology Clinical Pathologic Correlations*, 4<sup>th</sup> Ed., Missouri: Saunders.

Rizzo K. dan Mehdi N. 2012. Diagnostic workup of Small B Cell Lymphomas: A Laboratory Perspective. *Hindawi Journal*, 10:1-16.

Ross M.H., Wojciech P. (2011). *Histology: A Text and Atlas*, 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia.

Rouby H.D. (2010). Association of Macrophages with Angiogenesis in Oral Verrucous and Squamous Cell Carcinomas. *Journal Oral Pathology Med*, 39: 559-564.

Sari L.M. (2018). Apoptosis: Mekanisme Molekuler Kematian Sel. *Cakradonya Dent J*, 10(2): 65-70.

Sasongko A., Nugroho R.W., Setiawan C.E., Utami I.W., Pusfitasari M.D. (2018). Aplikasi Metode Non Konvensional Pada Ekstraksi Bawang Dayak. *Jurnal Teknologi Terpadu*, 6(1): 8-13.

Sihombing M., dan Rafiizar. (2010). Status Gizi dan Fungsi Hati Mencit (Galr CBS-Swiss) dan Tikus Putih (Galur Wistar) di Laboratorium Hewan Percobaan Puslitbang Biomedis dan Farmasi. *Media Litbang Kesehatan*, 20(1): 33-40.

Singh M.P., Nagori B.P., Shaw N.R., Tiwari M., Jhanwar B. (2013). Formulation Development & Evaluation of Topical Gel Formulations Using Different Gelling Agents and Its Comparison with Marketed Gel Formulation. *International Journal of Pharmaceutical Erudition*, 3(3): 1-10.

Slavin J.L. dan Llyod B. (2012). Health Benefits of Fruit and Vegetables. *American Society for Nutrition*, 3(4): 506-516.



Sholichah Z. (2007). Mengenal Jenis Tikus. *BALABA Edisi 005*, 2: 18-19.

Soeroso A. (2007). Sitokin. *Jurnal Oftalmologi Indonesia*, 3(5): 171-180.

Stephen J. (2001). Lobund-Wistar Rat. National Cancer Institute. [Online] <https://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=2568> diakses pada 10 Desember 2018.

Sugiyanto. (2005). *Petunjuk Farmakologi*, Ed. IV. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Sumardjo D. (2009). Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta. Jakarta:EGC.

Sunarjo L., Hendari R., dan Rimbyastuti H. (2015). Manfaat Xanthone terhadap Kesembuhan Ulkus Rongga Mulut dilihat dari Jumlah Sel PMN dan Fibroblast. *ODONTO Dental Journal*, 2(2): 14-21.

Susanty. Bachdim F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *KONSERVASI*, 5(2): 87-93.

Suteja I.K.P., Rita W.S., Gunawan I.W.G. (2016). Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Daun Trembesi (*Albizia saman* (Jacq.) Merrill) sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia*, 10(1): 141-148.

Ulfa N.R. (2016). Formulasi Ekstrak Biji Kedelai (*Glycine max L.*) dalam Sediaan Gel Menggunakan Basis HPMC: Uji Stabilitas Fisik dan Efek pada Kulit Manusia. [Online] <http://eprints.ums.ac.id/40929/1/NASKAH%20PUBLIKASI.pdf> diakses pada 23 Februari 2018.



Velnar T., Bailey T., dan Smrkolj V. (2009). The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanism. *The Journal of International Medical Research*, 37: 1528-1542.

Winarsi H. (2010). Protein Kedelai & Kecambah Manfaatnya Bagi Kesehatan. Yogyakarta : Kanisius.

Wynn T.A., Chawla A., dan Pollard J.W. (2014). Origin and Hallmarks of Macrophages: Development, Homeostasis, and Disease. *Nature*, 496(7446): 445-455.

Yu J., X. B., dan D. C. (2016). Isoflavones: Anti-inflammatory Benefit and Possible Caveat. *Nutrient*, 6: 361.

