



**PERBEDAAN PEMBERIAN TRIAMCINOLONE ACETONIDE
DENGAN GEL EKSTRAK BUAH CIPLUKAN (*Physalis
angulata L.*) TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS DAN
EKSPRESI SELULER FGF-2 PADA PROSES
PENYEMBUHAN ULKUS TRAUMATIK MUKOSA LABIAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

**UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

OLEH :

EVA SUHAEMIATUL ASLAMİYAH

165160101111005

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

MALANG

2019

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PERBEDAAN PEMBERIAN *TRIAMCINOLONE ACETONIDE*
DENGAN GEL EKSTRAK BUAH CIPLUKAN (*Physalis
angulata L.*) TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS DAN
EKSPRESI SELULER FGF-2 PADA PROSES
PENYEMBUHAN ULSER TRAUMATIK MUKOSA LABIAL
TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*)**

Oleh :

**Eva Suhaemiatul Aslamiyah
165160101111005**

**Telah diuji dan didepan Majelis Penguji pada tanggal 18
Desember 2019 dan dinyatakan memenuhi syarat memperoleh
gelar Sarjana dalam Bidang Kedokteran Gigi**

Menyetujui

Pembimbing I

Pembimbing II

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

**drg. Ratih Puspolini, M.Si
NIK 2014058202172001**

Malang, 23 Desember 2019

Mengetahui,

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

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

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, didalam 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.

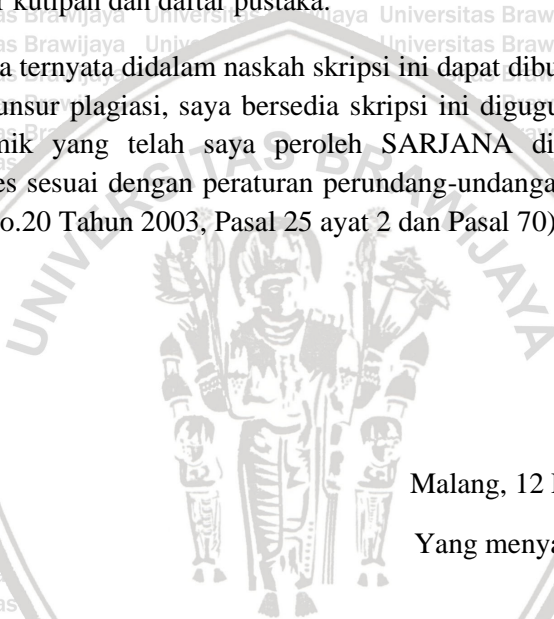
Apabila ternyata didalam naskah skripsi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh SARJANA dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2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

Malang, 12 Desember 2019

Yang menyatakan,

Eva Suhaemiatul Aslamiyah

165160101111005



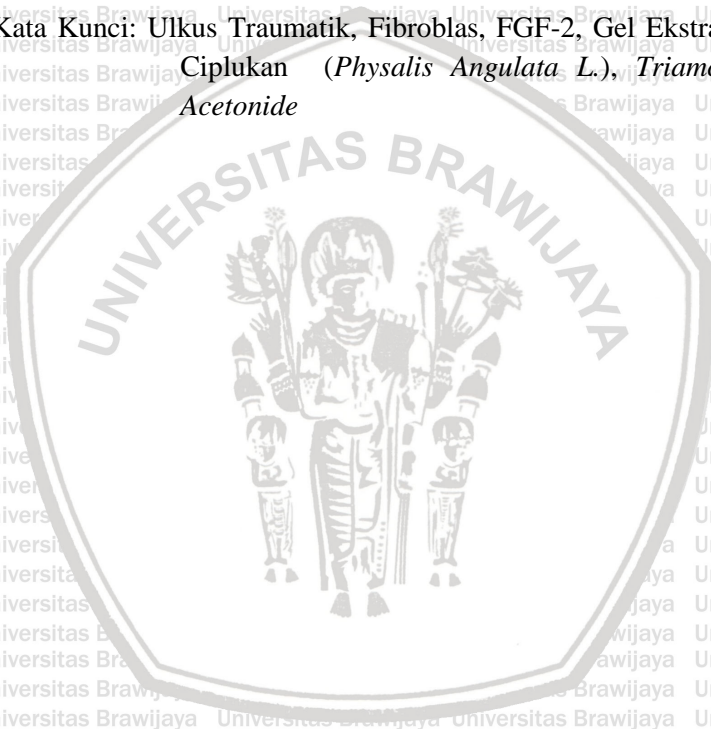
ABSTRAK

Eva Suhaemiatul Aslamiyah, 165160101111005, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya Malang, “Perbedaan Pemberian *Triamcinolone Acetonide* dengan Gel Ekstrak Buah Ciplukan (*Physalis Angulata L*) Terhadap Jumlah Fibroblas dan Ekspresi Seluler FGF-2 pada Proses Penyembuhan Ulkus Traumatik Mukosa Labial Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)”, Pembimbing: Dr. drg. Nur Permatasari, MS, drg. Ratih Pusporini, M.Si.

Basic FGF merupakan kunci utama untuk mempercepat penyembuhan luka dengan merangsang proliferasi fibroblas, menginduksi neovaskularisasi, dan meningkatkan sintesis kolagen. Gel ekstrak buah ciplukan mengandung beberapa senyawa aktif salah satunya lupeol dapat meningkatkan ekspresi seluler FGF-2 yang merangsang proliferasi migrasi fibroblas, dan ursolid acid yang dapat mempercepat proses re-epitelisasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan pemberian *triamcinolone acetamide* dengan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih. Metode yang digunakan adalah *true experimental* secara *Randomized Post test Only Control Group Design* secara *in vivo*. Penelitian ini dibagi menjadi 9 kelompok dengan 3 *time series* yaitu hari ke-2, ke-6, dan ke-12 kelompok kontrol, kelompok *physalis*, kelompok *triamcinolone* setelah terbentuknya ulkus traumatik. Tahap selanjutnya pengambilan jaringan ulkus traumatik, dilakukan pewarnaan HE, dan IHK, kemudian jumlah fibroblas diamati menggunakan mikroskop digital yang dilengkapi dengan *software* OLYVIA. Jumlah FGF-2 diamati menggunakan mikroskop cahaya yang dilengkapi oleh kamera digital. Hasil uji *independent t-test* didapatkan perbedaan yang signifikan jumlah fibroblas dan fgf antara kelompok *physalis* dan *triamcinolone* pada hari ke-2, ke-6, dan ke-12. Hasil uji regresi linear didapatkan semakin lama perlakuan dapat menurunkan jumlah fibroblas dan FGF-

2 dan didapatkan hubungan jumlah fibroblas dan FGF-2 pada semua kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan antara pemberian *triamcinolone acetonide* dengan gel ekstrak buah ciplukan terhadap jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih.

Kata Kunci: Ulkus Traumatik, Fibroblas, FGF-2, Gel Ekstrak Buah Ciplukan (*Physalis Angulata L.*), *Triamcinolone Acetonide*



ABSTRACT

Eva Suhaemiatul Aslamiyah, 165160101111005, Bachelor of Dentistry Study Program, Faculty of Dentistry, Brawijaya University, Malang, 29 November 2019, "Differences in Administration of Triamcinolone Acetonide with Morel Berry Fruit Extract Gel (*Physalis Angulata L.*) on the Number of Fibroblasts and FGF-2 Cellular Expression in Healing Process of Traumatic Ulcer on Mucosal Labial White Rats (*Rattus norvegicus*)", Supervisor: Dr. drg. Nur Permatasari, MS, drg. Ratih Pusporini, M.Si.

Basic FGF is main key to promote wound healing by stimulating fibroblasts proliferation, inducing neovascularization and increasing collagen synthesis. Morel berry fruit extract gel contains several active compounds, which is lupeol can increase cellular expression of FGF-2 that stimulates proliferation of fibroblast migration and ursolid acid can accelerate the process of re-epithelialization. Purpose of this study is to determine differences in administration of triamcinolone acetonide with morel berry fruit extract (*Physalis angulata L.*) on number of fibroblasts and cellular expression of FGF-2 in healing process of traumatic ulcer on mucosal labial white rats. The method used is true experimental randomized post test only control group design in vivo. This study was divided into 9 groups with 3 time series, namely the control group, physalis group, triamcinolone group on day 2, 6, and 12 after traumatic ulcers formation. After traumatic ulcer tissues is removed, staining HE and IHC, then number of fibroblasts observed using digital microscope equipped with OLYVIA software. Amount of FGF-2 observed using light microscope equipped with digital camera. Results of independent t-test showed a significant difference in number of fibroblasts and FGF between physalis and triamcinolone groups on day 2, 6 and 12. Result of linear regression test found that longer treatment can reduce number of fibroblasts and FGF-2 and there are relationship between number of fibroblasts and FGF-2 in all treatment groups. Based on the results of this study, it can be concluded that there is a difference in



administration of triamcinolone acetonide with morel berry fruit extract gel on number of fibroblasts and cellular expression of FGF-2 in healing process of traumatic ulcer on mucosal labial white rats.

Keywords: Traumatic Ulcers, Fibroblas, FGF-2, Morel Berry Fruit Extract Gel (*Physalis Angulata L.*), Triamcinolone Acetonide.



KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, dengan segala pertolongan, kemudahan, kasih sayang kekuatan, petunjuk, serta ridho-nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Perbedaan Pemberian *Triamcinolone acetonide* dengan Gel Ekstrak Buah Ciplukan (*Physalis Angulata L*) Terhadap Jumlah Fibroblas Dan Ekspresi Seluler FGF-2 pada Proses Penyembuhan Ulkus Traumatik Mukosa Labial Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)” dapat diselesaikan tepat pada waktunya.

Penulis mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada para pihak yang telah membantu dan membimbing untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada :

1. drg. R. Setyohadi, MS selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan penulis untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya
2. Dr. drg. Nur Permatasari, MS sebagai pembimbing pertama yang bersedia meluangkan waktu, membimbing, membagi ilmunya, memberikan masukan-masukan yang membangun, memberikan semangat sehingga penulis bisa menyelesaikan proposal skripsi ini.
3. drg. Ratih Pusporini, M.Si sebagai pembimbing kedua yang bersedia meluangkan waktu, membimbing, membagi ilmunya, memberikan masukan-masukan yang membangun, memberikan semangat sehingga penulis bisa menyelesaikan proposal skripsi ini.
4. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA selaku dosen penguji atas ketersediaan meluangkan waktu untuk menguji proposal ini serta memberikan koreksi, saran dan masukan.
5. Segenap tim skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang.
6. Kedua orang tua saya (mama Nurul Laili, ayah Ali Mahfud) saudara saudara saya mas Ahmad Fanani Sadad, adek Husain Ali



Rifa'i yang selalu menjadi sandaran penulis, yang senantiasa mendoakan penulis, memberikan semangat, selalu mendukung dan mendukung penulis memberi masukan dan saran, dan memberi motivasi agar tetap semangat.

7. Sahabat penulis Alfa, Anita, Irene, Dilla, Elisabeth, yang selalu ada menemani penulis memberikan motivasi memberi dukungan, menjadi tempat keluh kesah penulis.
8. Teman – teman seperjuangan kelompok farmakologi Dwi, Alin, Shinta, dan Os yang saling memberikan dukungan dan semangat untuk menyelesaikan proposal ini.
9. Seluruh teman – teman seperjuangan FKG UB angkatan 2016 yang saling menyemangati memberi dukungan semoga kita semua menjadi dokter gigi yang sukses dan berkompeten.
10. Serta semua pihak yang membantu dan menyelesaikan proposal ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa tentunya proposal skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dan terdapat banyak kekurangan oleh karena itu penulis sangat menerima saran dan kritik yang membangun. Demikian semoga proposal skripsi ini bermanfaat baik bagi penulis maupun bagi masyarakat terutama dalam bidang kedokteran gigi.

Malang, 12 Desember 2019

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Judul Error! Bookmark not defined.

Lembar Pengesahan Skripsi.....ii

Pernyataan Orisinalitas Skripsiiii

Abstrak.....iError! Bookmark not defined.

Abstract..... Error! Bookmark not defined.i

Kata Pengantar..... viiii

Daftar Isi x

Daftar Tabel..... xiv

Daftar Gambar xv

Daftar Singkatan xvi

BAB I PENDAHULUAN Error! Bookmark not defined.

1.1 Latar Belakang Error! Bookmark not defined.

1.2 Rumusan Masalah 3

1.3 Tujuan Penelitian 4

1.3.1 Tujuan Umum 4

1.3.2 Tujuan Khusus 4

1.4 Manfaat Penelitian 5

1.4.1 Manfaat Akademik 5

1.4.2 Manfaat Praktis Error! Bookmark not defined.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 7

2.1 Ulkus Traumatik 7

2.1.1 Definisi 7

2.1.2 Etiologi 7

2.1.3 Insidensi 8

2.1.4 Gambaran Klinis 9

2.1.5 Terapi 10

2.2 Fase Penyembuhan Luka 11



2.2.1	Fase Hemostasis.....	12
2.2.2	Fase Inflamasi.....	13
2.2.3	Fase Proliferasi.....	14
2.2.4	Fase Remodeling Jaringan.....	1Error! Bookmark not defined.
2.3	Fibroblas.....	16
2.3.1	Definisi Fibroblas.....	16
2.3.2	Stuktur Fibroblas.....	16
2.3.3	Peranan Fibroblas.....	18
2.4	Faktor Pertumbuhan (<i>growth factors</i>).....	19
2.4.1	Definisi <i>Growth Factors</i>	19
2.4.2	Peran <i>Growth Factors</i>	20
2.4.3	Klasifikasi <i>Growth Factors</i>	22
2.4.4	<i>Fibroblast Growth Factor -2</i>	23
2.4.5	Signaling Fibroblast Growth Factor -2.....	24
2.4.6	Ekspresi FGF-2.....	25
2.5	Triamcinolone Acetonide ..	2Error! Bookmark not defined.
2.6	Ciplukan (<i>Physalis angulata L.</i>).....	29
2.6.1	Taksonomi.....	29
2.6.2	Morfologi.....	30
2.6.3	Kandungan Senyawa Aktif dan Farmakologi.....	31
2.6.3.1	Lupeol.....	32
2.6.3.2	Ursolic Acid.....	32
2.6.3.3	B-sitosterol dan Campesterol.....	33
2.6.3.4	Withaferin-A.....	34
2.6.3.5	Emodin.....	34
2.7	Gel.....	35
2.7.1	Definisi.....	35
2.7.2	Sediaan.....	36

2.8	Tikus Putih.....	37
2.8.1	Definisi	37
2.8.2	Klasifikasi Ilmiah.....	3Error! Bookmark not defined.
2.8.3	Karakteristik	3Error! Bookmark not defined.
III. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN		41
3.1	Kerangka Konsep	41
3.2	Hipotesis Penelitian.....	43
IV. METODE PENELITIAN		45
4.1	Rancangan Dan Desain Penelitian.....	45
4.2	Sampel Penelitian	47
4.2.1	Kriteria Sampel	47
4.2.2	Jumlah Sampel Penelitian.....	48
4.3	Variabel Penelitian	49
4.4	Tempat dan Waktu Penelitian	49
4.5	Alat dan Bahan Penelitian	50
4.5.1	Alat dan Bahan Pemeliharaan Hewan Coba.....	50
4.5.2	Alat dan Bahan Ekstraksi Buah Ciplukan.....	50
4.5.3	Alat dan Bahan Pembuatan Gel	50
4.5.4	Alat dan Bahan Perlakuan Hewan Coba.....	51
4.5.5	Alat dan Bahan Pembuatan Sediaan Histologi	51
4.5.6	Alat dan Bahan Pewarnaan <i>Hematoxilin Eosin</i>	51
4.5.7	Alat dan Bahan Pewarnaan Immunohistokimia.....	51
4.6	Definisi Operasional.....	52
4.7.1	Ulkus Traumatik	52
4.7.2	Fibroblas	52
4.7.3	<i>Fibroblast Growth Factor-2</i>	52
4.7.4	Gel Ekstrak Buah Ciplukan	53
4.7.5	Triamcinolone Acetonide	53
4.7	Prosedur Penelitian.....	54



4.7.1	Persiapan Pemeliharaan Hewan Coba	54
4.7.2	Ekstraksi Buah Ciplukan	54
4.7.3	Pembuatan Gel Buah Ciplukan	54
4.7.4	Triamcinolone Acetonide	58
4.7.5	Induksi Ulkus Traumatik	58
4.7.6	Pemberian Gel Ekstrak Buah Ciplukan Pada Hewan Coba	58
4.7.7	Pengambilan Sampel Jaringan	58
4.7.8	Pembuatan Preparat	59
4.7.9	Tahap Pewarnaan Hematoxilin Eosin	60
4.7.10	Tahap Pewarnaan Immunohistokimia	61
4.7.11	Pengamatan Sediaan	62
4.7.11.1	Fibroblas	62
4.7.11.2	<i>Fibroblast Growth Factor-2</i>	63
4.8	Analisis Data	63
4.9	Skema Prosedur Penelitian	65
4.9.1	Uji Efektifitas Gel Ekstrak Buah Ciplukan	65
4.9.2	Skema Prosedur Penelitian	66
V. HASIL DAN PEMBAHASAN		67
5.1	Hasil Hasil Penelitian	67
5.2	Analisis Data	73
5.3	Pembahasan	79
BAB VI PENUTUP		85
6.1	Kesimpulan	85
6.2	Saran	85
DAFTAR PUSTAKA		87
LAMPIRAN		107



DAFTAR TABEL

No.	Judul Tabel	Hal.
4.1	Formulasi Gel Ekstrak Buah Ciplukan	55
5.1	Uji Evaluasi Gel	67
5.2	Hasil Perhitungan Rata-Rata dan Standar Deviasi	72
5.3	Uji Regresi Hubungan Waktu dan Respon Fibroblas	76
5.4	Uji Regresi Hubungan Waktu dan Respon FGF-2	77
5.5	Uji Regresi Hubungan Jumlah Fibroblas dan FGF-2	78



DAFTAR GAMBAR

No.	Judul Gambar	Hal.
2.1	Ulkus Traumatik	10
2.2	Fase Penyembuhan Luka	12
2.3	Stuktur Fibroblas	17
2.4	Fibroblas dalam Sediaan Histologi	17
2.5	Klasifikasi <i>Growth Factors</i>	22
2.6	Ekspresi FGF-2	26
2.7	Buah Ciplukan	31
3.1	Kerangka Konsep	41
4.1	Kerangka Desain Penelitian	45
5.1	Gambar Fibroblas dan FGF-2 Hari Ke-2	69
5.2	Gambar Fibroblas dan FGF-2 Hari Ke-6	70
5.3	Gambar Fibroblas dan FGF-2 Hari Ke-12	71
5.4	Diagram Rata-Rata Jumlah Fibroblas	74
5.5	Diagram Rata-Rata Jumlah FGF-2	74

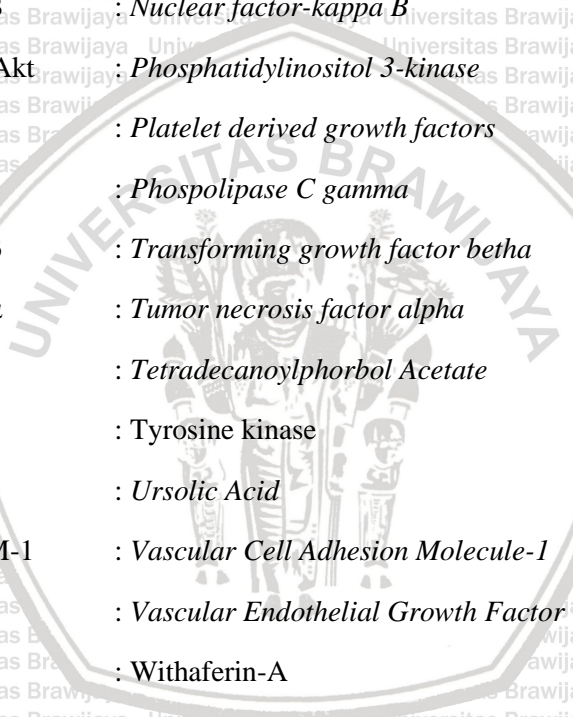


DAFTAR SINGKATAN

AP-1	: <i>Activator Protein-1</i>
bFGF	: <i>Basic fibroblast growth factor</i>
CCL2	: <i>Chemokine ligan 2</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
ECM	: <i>Extracellular matrix</i>
EGF	: <i>Epidermal growth factor</i>
ELAM	: <i>Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule</i>
FGF	: <i>Fibroblast growth factor</i>
FGFRs	: <i>Fibroblast growth factor receptors</i>
GR	: <i>Glucocorticoid Receptors</i>
GTSL	: <i>Gigi tiruan sebagian lepasan</i>
Gy	: <i>Gray (satuan radiasi)</i>
HAECs	: <i>Human Aortic Endothelial Cells</i>
HE	: <i>Hematoxilin Eosin</i>
HPA	: <i>Hypotalamic Pituitary Adrenal</i>
HPTLC	: <i>High Performance Thin Layer Chromatography</i>
HSPGs	: <i>Heparine sulfate</i>
ICAM-1	: <i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i>
IFN- γ	: <i>Interferon gamma</i>
IHK	: <i>Immunohistokimia</i>



IL	: <i>Interleukin</i>
LOX	: <i>Lipoxygenase</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>
MAPK	: <i>Mitogen-activating protein kinasi</i>
MMPs	: <i>Matriks metalloprotein</i>
NF-kB	: <i>Nuclear factor-kappa B</i>
P13k/Akt	: <i>Phosphatidylinositol 3-kinase</i>
PDGF	: <i>Platelet derived growth factors</i>
PLC γ	: <i>Phospolipase C gamma</i>
TGF- β	: <i>Transforming growth factor betha</i>
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
TPA	: <i>Tetradecanoylphorbol Acetate</i>
Tyr	: <i>Tyrosine kinase</i>
UA	: <i>Ursolic Acid</i>
VCAM-1	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
WFA	: <i>Withaferin-A</i>



ABSTRAK

Eva Suhaemiatul Aslamiyah, 165160101111005, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya Malang, “Perbedaan Pemberian *Triamcinolone Acetonide* dengan Gel Ekstrak Buah Ciplukan (*Physalis Angulata L*) Terhadap Jumlah Fibroblas dan Ekspresi Seluler FGF-2 pada Proses Penyembuhan Ulkus Traumatik Mukosa Labial Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)”, Pembimbing: Dr. drg. Nur Permatasari, MS, drg. Ratih Pusporini, M.Si.

Basic FGF merupakan kunci utama untuk mempercepat penyembuhan luka dengan merangsang proliferasi fibroblas, menginduksi neovaskularisasi, dan meningkatkan sintesis kolagen. Gel ekstrak buah ciplukan mengandung beberapa senyawa aktif salah satunya lupeol dapat meningkatkan ekspresi seluler FGF-2 yang merangsang proliferasi migrasi fibroblas, dan ursolid acid yang dapat mempercepat proses re-epitelisasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan pemberian *triamcinolone acetamide* dengan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih. Metode yang digunakan adalah *true experimental* secara *Randomized Post test Only Control Group Design* secara *in vivo*. Penelitian ini dibagi menjadi 9 kelompok dengan 3 *time series* yaitu hari ke-2, ke-6, dan ke-12 kelompok kontrol, kelompok *physalis*, kelompok *triamcinolone* setelah terbentuknya ulkus traumatik. Tahap selanjutnya pengambilan jaringan ulkus traumatik, dilakukan pewarnaan HE, dan IHK, kemudian jumlah fibroblas diamati menggunakan mikroskop digital yang dilengkapi dengan *software* OLYVIA. Jumlah FGF-2 diamati menggunakan mikroskop cahaya yang dilengkapi oleh kamera digital. Hasil uji *independent t-test* didapatkan perbedaan yang signifikan jumlah fibroblas dan fgf antara kelompok *physalis* dan *triamcinolone* pada hari ke-2, ke-6, dan ke-12. Hasil uji regresi linear didapatkan semakin lama perlakuan dapat menurunkan jumlah fibroblas dan FGF-



2 dan didapatkan hubungan jumlah fibroblas dan FGF-2 pada semua kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan antara pemberian *triamcinolone acetonide* dengan gel ekstrak buah ciplukan terhadap jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih.

Kata Kunci: Ulkus Traumatik, Fibroblas, FGF-2, Gel Ekstrak Buah Ciplukan (*Physalis Angulata L.*), *Triamcinolone Acetonide*



ABSTRACT

Eva Suhaemiatal Aslamiyah, 165160101111005, Bachelor of Dentistry Study Program, Faculty of Dentistry, Brawijaya University, Malang, 29 November 2019, "Differences in Administration of Triamcinolone Acetonide with Morel Berry Fruit Extract Gel (*Physalis Angulata L.*) on the Number of Fibroblasts and FGF-2 Cellular Expression in Healing Process of Traumatic Ulcer on Mucosal Labial White Rats (*Rattus norvegicus*)", Supervisor: Dr. drg. Nur Permatasari, MS, drg. Ratih Pusporini, M.Si.

Basic FGF is main key to promote wound healing by stimulating fibroblasts proliferation, inducing neovascularization and increasing collagen synthesis. Morel berry fruit extract gel contains several active compounds, which is lupeol can increase cellular expression of FGF-2 that stimulates proliferation of fibroblast migration and ursolid acid can accelerate the process of re-epithelialization. Purpose of this study is to determine differences in administration of triamcinolone acetonide with morel berry fruit extract (*Physalis angulata L.*) on number of fibroblasts and cellular expression of FGF-2 in healing process of traumatic ulcer on mucosal labial white rats. The method used is true experimental randomized post test only control group design in vivo. This study was divided into 9 groups with 3 time series, namely the control group, physalis group, triamcinolone group on day 2, 6, and 12 after traumatic ulcers formation. After traumatic ulcer tissues is removed, staining HE and IHC, then number of fibroblasts observed using digital microscope equipped with OLYVIA software. Amount of FGF-2 observed using light microscope equipped with digital camera. Results of independent t-test showed a significant difference in number of fibroblasts and FGF between physalis and triamcinolone groups on day 2, 6 and 12. Result of linear regression test found that longer treatment can reduce number of fibroblasts and FGF-2 and there are relationship between number of fibroblasts and FGF-2 in all treatment groups. Based on the results of this study, it can be concluded that there is a difference in



administration of triamcinolone acetonide with morel berry fruit extract gel on number of fibroblasts and cellular expression of FGF-2 in healing process of traumatic ulcer on mucosal labial white rats.

Keywords: Traumatic Ulcers, Fibroblas, FGF-2, Morel Berry Fruit Extract Gel (*Physalis Angulata L.*), Triamcinolone Acetonide.



BABI

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ulkus merupakan keadaan patofisiologis hilangnya jaringan epitelium hingga melebihi membran basalis dan mengenai lamina propria, dengan dasar berwarna kuning keputihan dan berbatas jelas, trauma merupakan penyebab paling sering dari terjadinya ulkus pada membran mukosa (Regezi *et al.*, 2016; Delong dan Bukhrat, 2013). Ulkus traumatik dapat terjadi pada berbagai usia dengan prevalensi terjadinya ulkus dalam rongga mulut diperkirakan mencapai lebih dari 25% dari populasi dunia, salah satu yang paling sering ditemukan yaitu ulkus traumatik (15,6%), pada pria berkisar 81,4% dan pada wanita berkisar 85% (Delong dan Burkhrat, 2013). Akan tetapi, banyak orang yang mengabaikan penyakit ini dikarenakan masih dianggap sebagai penyakit yang tidak serius (Langkir *et al.*, 2015).

Penyembuhan ulkus traumatik berlangsung 1 hingga 14 hari melalui empat fase yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan *remodeling* jaringan (Neville, 2015; Salvo *et al.*, 2015). Fase hemostasis dan fase inflamasi dimulai setelah terjadinya luka berlangsung sampai 72 jam (Wang *et al.*, 2018). *Growth factors* adalah protein besar yang berfungsi sebagai mediator (*non-haemopoetic cells*) yang memodulasi penyembuhan luka dengan cara menstimulasi produksi protein (Murdoch, 2016). *Growth factors* yang memiliki peran penting dalam penyembuhan luka, salah satunya adalah FGF-2 atau basic FGF (Barrientos *et al.*, 2014). Fibroblast growth factor-2 dihasilkan oleh makrofag, fibroblas, sel endotel, dan limfosit, FGF-2 memiliki kemampuan untuk merangsang proliferasi fibroblas, pembentukan pembuluh darah baru, dan produksi Extracellular matrix (ECM) (Beserra *et al.*, 2019; Oentaryo *et al.*, 2016; Shah *et al.*, 2012). Basic FGF muncul sejak awal terjadinya

luka hingga mencapai puncak pada hari ke-5 sampai hari ke 8 (Oentaryo *et al.*, 2016).

Migrasi fibroblas ke jaringan luka terjadi 3 hari setelah cedera dan akan menjadi dominan setelah hari ke-6 hingga ke-7 (Andreasen *et al.*, 2019). Fibroblas merupakan sel yang paling umum dalam jaringan ikat memproduksi dan mempertahankan komponen ekstraseluler jaringan (Mescher, 2013). Peranan fibroblas dalam penyembuhan luka yaitu memproduksi *growth factors* untuk menstimulasi autokrin dan parakin, proliferasi dan migrasi sel untuk membentuk jaringan granulasi (Clark, 2013).

Perawatan ulkus traumatik dilakukan dengan menghilangkan faktor penyebab, secara bersamaan diberikan obat seperti *coating agents, antiseptics, antibiotics, topical anesthesia* dan steroid, salah satu obat golongan antiinflamasi steroid adalah *triamcinolone acetonide topical* (Regezi *et al.*, 2016; Hamishehkar *et al.*, 2015; Parkarwar *et al.*, 2017). *Triamcinolone acetonide* adalah glukokortikoid sintetik topikal secara umum mengatur inflamasi dengan cara menghambat sitokin pro inflamasi, glukokortikoid sebelumnya telah ditemukan menghambat pertumbuhan dari fibroblas (Neilsen dan Kaye, 2014; Derendorf dan Meltzer, 2008; Mukudai *et al.*, 2015). Dengan demikian *triamcinolone acetonide* masih belum mempunyai potensi yang optimal dalam penyembuhan luka mukosa rongga mulut.

Physalis angulata L. termasuk dalam famili *Solanaceae*, merupakan spesies rerumputan tahunan yang terdistribusi pada setiap negara yang terletak di daerah tropis dan subtropik, sehingga mudah ditemukan (Kusumaningtyas *et al.*, 2015; Ferreira *et al.*, 2019). Ekstrak dari *Physalis angulata* memiliki efek antiinflamasi dan seluruh bagian dari tumbuhan *Physalis angulata* dapat digunakan dalam perawatan medis, termasuk buah (Luliana *et al.*, 2017).

Di dalam penelitian yang dilakukan oleh Brar dan Raghbir (2017) kandungan gel ekstrak buah ciplukan yang memiliki efek antiinflamasi yakni lupeol, ursolic acid, β -sitosterol, campesterol, withaferin-A, dan emodin, dengan kandungan lupeol yang paling dominan. Lupeol dapat meningkatkan ekspresi FGF-2 yang merangsang proliferasi migrasi fibroblas, peningkatan vaskularisasi, dan deposisi serat kolagen (Beserra *et al.*, 2019). *Ursolid acid* dapat meningkatkan jumlah fibroblas, meningkatkan jaringan *tensile strength* dari jaringan granulasi. Pemberian *ursolid acid* dapat mempercepat proses epitelisasi (Naika *et al.* 2016; Agra *et al.*, 2015).

Penelitian pendahuluan telah dilakukan untuk menentukan dosis yang efektif dalam penyembuhan luka ulkus traumatik pada mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*), dosis efektif gel ekstrak buah ciplukan untuk menyembuhkan luka ulkus traumatik adalah 1%, sediaan gel dipilih karena dapat mencegah *first pass effect* di hati mengurangi efek samping dari obat daripada sediaan oral (Goodman, 2012).

Berdasarkan kondisi tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan antara pemberian *Triamcinolone acetonide* dengan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap jumlah fibroblas, dan ekspresi selular FGF-2 pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ada perbedaan antara pemberian *Triamcinolone acetonide* dengan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap jumlah fibroblas, dan ekspresi selular FGF-2 pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mempelajari pemberian *Triamcinolone acetonide* dengan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap jumlah fibroblas, dan ekspresi selular *Fibroblast Growth Factor-2* pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.3.2 Tujuan Khusus

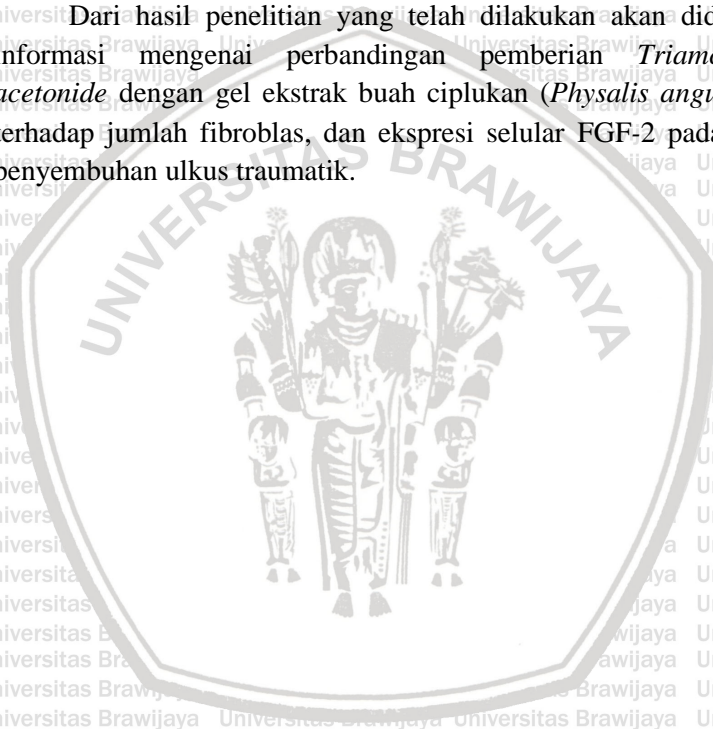
1. Menghitung dan membandingkan jumlah fibroblas, dan ekspresi selular FGF-2 pada hari ke-2, hari ke-6, dan hari ke-12 pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi *triamcinolone acetonide* dan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) 1%.
2. Menganalisa hubungan waktu dan respon terhadap jumlah fibroblas, dan ekspresi selular FGF-2 pada hari ke-2, hari ke-6, dan hari ke-12 pada proses penyembuhan luka ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi *triamcinolone acetonide* dan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) 1%.
3. Menganalisa hubungan jumlah fibroblas dengan ekspresi selular FGF-2 pada hari ke-2, hari ke-6, dan hari ke-12 pada proses penyembuhan luka ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi *triamcinolone acetonide* dan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) 1%.

1.4.1 Manfaat Akademik

Dari hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai sarana pembelajaran dan juga dasar penelitian lebih lanjut di bidang kedokteran gigi sebagai efektivitas penyembuhan ulkus traumatik mukosa rongga mulut.

1.4.2 Manfaat Praktis

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan akan didapatkan informasi mengenai perbandingan pemberian *Triamcinolone acetonide* dengan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap jumlah fibroblas, dan ekspresi selular FGF-2 pada proses penyembuhan ulkus traumatik.





BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ulkus Traumatik

2.1.1 Definisi

Ulkus merupakan keadaan patofisiologis hilangnya jaringan epitelium hingga melebihi membran basalis dan mengenai lamina propria, dapat diartikan sebagai suatu kerusakan epitel yang ditutupi oleh gumpalan fibrin, dengan warna kuning keputihan dan berbatas jelas, trauma merupakan penyebab paling sering dari terjadinya ulkus pada membran mukosa, pada umumnya ulkus terjadi setelah beberapa kali setelah terkena paparan trauma (Regezi *et al.*, 2016; Delong dan Bukhrat, 2013).

2.1.2 Etiologi

Ulkus traumatik dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor diantaranya (Delong dan Bukhrat, 2013; Regezi *et al.*, 2016) :

1. Trauma kimia yang diakibatkan oleh penggunaan sejumlah kecil obat misalnya aspirin (*chemical burn*), yang kontak langsung dengan mukosa, iritasi akibat penggunaan pasta gigi, obat kumur yang mengandung fenol, dan bahan *bleaching* yang menggunakan oksidator kuat seperti 30% hidrogen peroksida.
2. Trauma mekanik seperti menggigit bibir, pipi atau lidah, mengkonsumsi atau mengunyah makanan keras, gigitan dari tonjolan gigi yang tajam, trauma dari iritasi gigi tiruan serta tumpatan yang tajam, iritasi akibat pemasangan gigi tiruan yang tidak stabil, tepi protesa atau klamer gigi tiruan sebaigaian lepasan (GTSL) yang tajam, dan gesekan yang terus menerus oleh karena gigi yang tidak rata.
3. Trauma benda asing seperti penggunaan piranti ortodontik ataupun sikat gigi yang digunakan dengan teknik yang salah

sehingga membuat erosi jaringan lunak disekitarnya, kebiasaan buruk menusuk gingiva atau mukosa dengan kuku jari, kontak dengan makanan tajam tergitnya mukosa saat mengunyah, bicara ataupun saat tidur.

4. Trauma iatrogenik terjadi secara tidak sengaja dilakukan oleh dokter gigi selama perawatan, biasanya disebabkan oleh *cotton rolls*, tekanan saliva *ejector* tinggi, atau instrument bur yang mengenai jaringan lunak, ulkus.

5. Trauma thermal (suhu) disebabkan karena terpapar atau kontak dengan api, cairan panas atau obyek obyek panas lainnya, ulkus pada rongga mulut juga terlihat pada pasien yang menjalani kemoterapi untuk kanker kepala dan leher, pada keadaan keganan tersebut, biasanya adalah kasus karsinoma sel skuamosa yang membutuhkan terapi radiasi dosis tinggi (60 Gy – 70 Gy), ulkus sering muncul pada daerah yang terkena sinar tersebut.

2.1.3 Insidensi

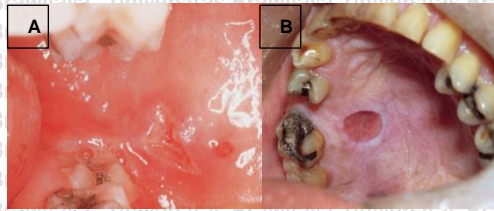
Ulkus traumatik sering terjadi pada mukosa labial dan dasar mulut juga dapat terjadi pada bibir, lidah, dan mukosa bukal karena pada daerah tersebut terletak berdekatan dengan kontak oklusi geligi sehingga lebih mudah mengalami gigitan pada waktu gerakan pengunyahan (Delong dan bukhrat, 2013). Prevalensi terjadinya ulkus dalam rongga mulut diperkirakan mencapai lebih dari 25% dari populasi dunia (Paleri *et al.*, 2010). Sebesar 91,1% dari 68,2% angka kejadian lesi yang diduga ulkus dalam bentuk SAR disebabkan adanya faktor predisposisi berupa trauma (Suling *et al.*, 2013). Hampir setiap orang pernah mengalami insidensi pada mukosa rongga mulut (83,6%), salah satu yang paling sering ditemukan yaitu ulkus traumatik (15,6%) dan tidak ada perbedaan yang terjadi baik pria maupun wanita, biasanya pada pria berkisar 81,4% dan pada wanita berkisar 85% (Delong dan bukhrat, 2013).

2.1.4 Gambaran Klinis

Ulkus traumatik mempunyai bentuk dan ukuran yang bervariasi tergantung dari trauma yang menjadi penyebab, dapat berupa ulkus yang tunggal atau *multiple*, bisa simetris atau asimetris, dan biasanya nyeri, dapat bersifat akut maupun kronis, ulkus reaktif akut pada membran mukosa mulut menunjukkan tanda-tanda klinis dan gejala peradangan akut, termasuk derajat nyeri, kemerahan, dan pembengkakan, ulkus ditutupi oleh eksudat fibrin berwarna kuning-putih dan dikelilingi oleh eritema, ulkus reaktif kronis dapat menyebabkan sedikit rasa sakit atau tanpa rasa sakit, lesi ditutupi oleh membran kuning dan dikelilingi oleh peningkatan margin yang dapat menunjukkan hiperkeratosis, terdapat indurasi, terdapat pembentukan bekas luka dan infiltrasi sel radang kronis (Neville, 2015; Regezi *et al.*, 2016).

Gambaran klinis ulkus traumatik biasanya bertekstur lembut dengan dasar lesi berwarna kekuningan dengan margin merah, peradangan, pembengkakan dan eritema bervariasi, tergantung pada penyebab dan waktu sejak trauma, tidak ada indurasi kecuali pada trauma yang berulang, ulkus yang disebabkan oleh gigitan setelah anestesi lokal gigi dapat menghasilkan dua cekungan kecil yang berdekatan yang cocok dengan cusps dari gigi yang berlawanan atas dan bawah (Odell, 2017).

Gambar 2.1 Ulkus Traumatik



Keterangan: Sumber, Regezi *et al.*, 2016.

Gambar 2.1: (A) Ulkus traumatik akut; dasar berwarna kuning dikelilingi oleh halo eritema, sakit, sembuh dalam 7 hingga 10 hari jika penyebabnya dihilangkan. (B). Ulkus traumatik kronis; dasar berwarna kuning, margin tinggi (*scar*), sedikit atau tanpa rasa sakit, penampilan klinis menyerupai karsinoma, penyembuhan tertunda jika terdapat iritasi.

2.1.5 Terapi

Lama penyembuhan ulkus traumatik berlangsung 1 sampai 14 hari (Neville, 2015). Lama penyembuhan juga biasanya tergantung dari tingkat keparahan ulkus, setiap lesi yang tidak sembuh dalam dua minggu biasanya faktor penyebab tidak ditemukan dan harus dievaluasi lebih lanjut (Delong dan bukhrat, 2013). Selama ini, perawatan ulkus traumatik dilakukan dengan menghilangkan faktor penyebab untuk mempercepat penyembuhan luka (Regezi *et al.*, 2016). Obat yang sering digunakan adalah obat kumur antiseptik seperti *chlorhexidine*, analgesik atau topikal anestesi, dan dapat diberikan obat golongan antiinflamasi steroid (Hamishehkar *et al.*, 2015). Selain itu, ulkus traumatik juga sering diberikan obat kortikosteroid topikal, sediaan topikal berupa gel atau salep banyak dipilih karena memiliki onset kerja yang cepat dan mudah digunakan (Mathew, 2015).

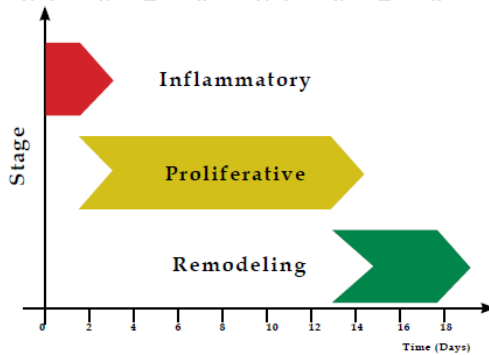
Salah satu kortikosteroid topikal yang sering digunakan adalah *Triamcinolone acetonide*, karena memiliki kemampuan sebagai anti inflamasi, antialergi, dan analgesik sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan ulkus dan mengurangi nyeri, namun penggunaan kortikosteroid topikal pada mukosa oral dapat

menyebabkan efek samping berupa kandidiasis, karena penggunaan obat ini dapat mengubah kondisi flora normal pada rongga mulut (Parkerwar *et al.*, 2017). Penggunaan kortikosteroid topikal juga dapat menyebabkan reaksi hipersensitivitas terhadap obat, mulut terbakar, dan oral hairy leukoplakia dalam penggunaan jangka panjang (Mehdipour dan Taghavi, 2012). Saat ini banyak penelitian terhadap alternatif lain yang mampu bersifat sama dengan memperkecil resiko dari efek samping tersebut, beberapa studi yang telah dilaporkan menunjukkan produk-produk tanaman memiliki efek positif dalam perbaikan jaringan dan melepas mediator inflamasi, growth factor, dan protein matriks ekstraseluler (Kim *et al.*, 2013). Sampai saat ini, terdapat banyak tanaman herbal sebagai alternatif untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit, salah satunya adalah *Physalis angulata* yang termasuk dalam famili Solanceae (Kusumaningtyas *et al.*, 2015).

2.2 Fase Penyembuhan Luka

Proses regenerasi dan perbaikan jaringan terjadi setelah timbulnya luka, yang bisa disebabkan karena trauma atau akibat dari kondisi patologis tertentu, luka ditimbulkan oleh semua rangsangan yang merusak kelangsungan fisik dari jaringan fungsional, rangsangan tersebut yang menyebabkan luka bisa terjadi di eksternal atau internal, Selain itu, luka dapat menyebabkan kerusakan organ tertentu atau kerusakan sel secara keseluruhan (Gonzalez *et al.*, 2016). Penyembuhan luka adalah reaksi fisiologis alami terhadap cedera jaringan, akan tetapi penyembuhan luka bukanlah hal yang sederhana, tetapi melibatkan interaksi yang kompleks antara berbagai jenis sel, sitokin, mediator, dan sistem pembuluh darah (Wallace *et al.*, 2019). Penyembuhan luka terdiri dari empat fase yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan *remodeling* jaringan (Salvo *et al.*, 2015).

Gambar 2.2 Fase Penyembuhan Luka



Sumber: Gonzalez *et al.*, 2016

Keterangan:

Gambar 2.2: Peristiwa sel dan biokimiawi dalam perbaikan luka dapat dibagi menjadi beberapa tahap berikut: reaksi inflamasi, proliferasi sel dan sintesis elemen-elemen yang membentuk matriks ekstraseluler, dan remodeling. Tahap-tahap ini tidak saling terpisah, tetapi lebih pada tahap tumpang tindih seiring waktu.

2.2.1 Fase Hemostasis

Fase hemostasis dimulai setelah terjadinya luka berlangsung sampai 72 jam, pada saat jaringan terluka kolagen dan faktor jaringan yang terpapar akan mengaktifkan agregasi trombosit, yang menghasilkan degranulasi dan melepaskan faktor *hemotactic factors* (chemokines) and *growth factors* (GFs) untuk membentuk gumpalan (Wang *et al.*, 2018). Bekuan darah disekitar jaringan luka akan mengeluarkan sitokin *pro inflammatory* (TNF- α , IL-6, IL-8) setelah perdarahan terkontrol, sel-sel inflamasi bermigrasi ke dalam luka (*chemotaxis*) dan mempromosikan fase inflamasi, yang ditandai dengan infiltrasi berurutan dari neutrofil, makrofag, dan limfosit (Gonzalez *et al.*, 2016). Tujuan utama fase hemostasis adalah untuk mencegah perdarahan yang berlebih, ini adalah cara untuk melindungi sistem pembuluh darah, menjaganya agar tetap utuh, sehingga fungsi organ-organ vital tidak terluka meskipun mengalami cedera. Tujuan lainnya yaitu menyediakan sebuah matriks untuk sel-sel penguji

yang dibutuhkan pada tahap penyembuhan, selanjutnya keseimbangan dinamis antara sel-sel endotel, platelet, koagulasi, dan fibrinolisis mempengaruhi proses reparatif karena mengatur hemostasis dan penentu besarnya fibrin dalam penyembuhan luka (Velnar *et al.*, 2009).

2.2.2 Fase Inflamasi

Fase inflamasi dimulai setelah terjadinya luka berlangsung sampai 72 jam (Wang *et al.*, 2018). Pada fase inflamasi didominasi oleh sel-sel radang, yaitu neutrofil, limfosit dan makrofag (Kumar *et al.*, 2013). Secara klinis, peradangan ditandai dengan tumor (*swelling*), kemerahan (*rubor*), panas (*color*), dan nyeri (*dolor*), (*functio laesa*). Tanda klinis ini merupakan hasil dari pelepasan *vasoactive amines* dari fase inflamasi yaitu sel mast, neutrofil, dan makrofag (Foster, 2012). Tahap ini biasanya berlangsung selama 4 hari pasca cedera (Velnar *et al.*, 2009).

Hanya beberapa jam setelah lesi, sejumlah neutrofil bertransmigrasi melalui sel-sel endotel berada pada dinding kapiler darah, yang diaktifkan oleh sitokin pro-inflamasi, seperti IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , interferon (INF)-c, IL-6, IL-12, dan IL-18, selain itu Nitric Oxidase dan COX-2 menstimulasi produksi dari mediator pro-inflamasi di sekitar area lesi, sitokin tersebut mendukung ekspresi dari banyak kelas molekul adhesi. Molekul adhesi ini merupakan faktor yang menentukan diapedesis neutrofil, termasuk selektin dan integrin (CD11a / CD18 (LFA-1); CD11b / CD18 (MAC-1); CD11c / CD18 (gp150, 95); CD11d / CD18). Molekul adhesi yang berinteraksi pada permukaan membran sel endotel, sel-sel yang lainnya juga memengaruhi banyak hal dari perbaikan jaringan, seperti resolusi fibrin dan koagulasi matriks ekstraseluler, dorongan angiogenesis, dan reepitelisasi. Antiinflamasi sitokin seperti IL-4, IL-10, IL13, dan IFN- α bekerja secara antagonis terhadap pro-inflamasi sitokin (Shaw dan Martin, 2009).

Pada 48 jam setelah timbulnya luka, monosit akan migrasi ke area lesi dan berdeferensiasi menjadi makrofag yang akan berperan

melakukan fagositosis di area jejas, monosit akan migrasi ke area lesi dan berdeferensiasi menjadi makrofag, yang diaktifkan melalui *chemokine signaling*, dapat bertindak sebagai sel-sel yang menghadirkan antigen dan yang membantu neutrofil dalam fagositosis (Gonzalez *et al.*, 2016). Makrofag juga menghasilkan *growth factors* seperti PDGF, TGF- β , FGF, dan VEGF, yang berfungsi sebagai sitokin utama yang menstimulasi proliferasi fibroblas, produksi kolagen, pembentukan pembuluh darah baru, dan proses penyembuhan lainnya (Leong dan Phillips, 2012).

2.2.3 Fase Proliferasi

Fase proliferasi disebut juga fase fibroplasia atau fase regenerasi (Andreasen *et al.*, 2019). Fase ini terjadi penurunan jumlah sel – sel inflamasi, tanda – tanda radang berkurang, munculnya sel fibroblas yang berproliferasi, pembentukan pembuluh darah baru, epitelialisasi dan kontraksi luka. Matriks fibrin yang dipenuhi platelet dan makrofag mengeluarkan growth factor yang mengaktifasi fibroblas, fibroblas bermigrasi ke daerah luka dan mulai berproliferasi hingga jumlahnya lebih dominan dibandingkan sel radang pada daerah tersebut (Lawrence, 2012).

Fase proliferasi dimulai pada hari ketiga setelah cedera dan berlangsung selama sekitar 2 minggu setelahnya, hal ini ditandai dengan migrasi fibroblas dan deposisi matriks ekstraseluler yang baru disintesis, bertindak sebagai pengganti jaringan sementara yang terdiri dari fibrin dan fibronectin. Pada makroskopik fase proliferasi ini dapat dilihat sebagai pembentukan jaringan granulasi berwarna pink (terdiri dari sel-sel inflamasi, fibroblas, dan perkembangan vaskular dalam jaringan ikat longgar) (Velnar *et al.*, 2009).

Tahap yang lain berjalan adalah proses angiogenesis, pada proses ini akan terjadi proliferasi endotelial selular, penataan kembali membran basalis, dan penerahan sel-sel perivaskular, pembuluh darah yang rusak akan diawali pembentukan pembuluh darah kapiler, pembentukan pembuluh darah baru atau angiogenesis adalah proses

yang dirangsang oleh kebutuhan energi yang tinggi untuk proliferasi sel, selain itu angiogenesis juga diperlukan untuk mengatur vaskularisasi yang rusak akibat luka (Leong dan Philips, 2012). Migrasi sel-sel epitel terjadi beberapa jam setelah terjadinya jejas, meningkatnya sel epitel yang bermitosis disekitar luka merupakan tanda aktif migrasi sel, sehingga mampu menempel di bawah matriks sementara, ketika sel-sel epitel meningkat migrasi berhenti, dan membran dasar mulai terbentuk (Velnar *et al.*, 2009).

2.2.4 Fase Remodeling Jaringan

Fase *remodeling* adalah fase terakhir dan terpanjang dalam proses penyembuhan luka yang dimulai dua hingga tiga minggu setelah timbulnya luka dan dapat berlangsung selama satu tahun atau lebih (Gonzalez *et al.*, 2016). Peristiwa seluler dan biofisiologis pada fase *remodeling* yaitu; *remodeling* kolagen, maturasi vaskular, dan pemulihan (regenerasi) (Guo dan DiPietro, 2010). Pada fase ini, permukaan luka mulai berkonstriksi akibat perubahan fibroblast menjadi *myofibroblast* yang berlangsung selama dua minggu sehingga jumlah fibroblast menurun. Proses dalam fase *remodeling* yaitu; perubahan jaringan granulasi dari pembetulan menjadi jaringan yang lebih kuat (*scar*). Proses maturasi ini ditandai dengan pengurangan jumlah pembuluh darah dan perubahan tipe kolagen dari tipe kolagen III ke I, kolagen tipe I mempunyai daya *tensile* dan kekuatan yang lebih dalam pembentukan jaringan hingga beberapa bulan kemudian (Olezyk *et al.*, 2014).

2.3 Fibroblas

2.3.1 Definisi Fibroblas

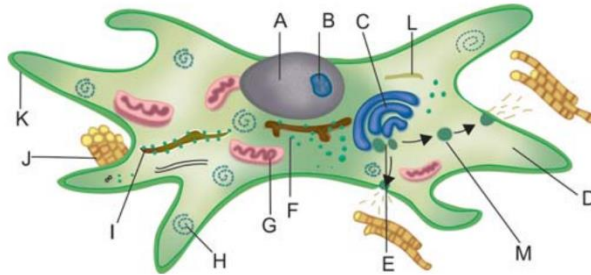
Fibroblas adalah sel yang belum matang dan ditemukan di dalam jaringan ikat yang sedang berkembang, fibroblas dapat berdeferensiasi menjadi kondronlas, kolagenoblas, atau osteoblas yang mempunyai peranan dalam pembentukan tulang rawan, kolagenase, atau tulang (Harty dan Ogston, 2014). Fibroblas merupakan sel yang paling umum dalam jaringan ikat, fibroblas menghasilkan kolagen tipe I, III, V dan komponen matriks ekstraseluler lainnya (Mescher, 2013; Oentaryo *et al.*, 2016).

Fibroblas adalah sel yang menghasilkan komponen ekstrasel dari jaringan ikat, jika sel fibroblas tidak aktif dalam membuat serat maka ahli histologi menyebutnya *fibrosit*. Namun dikarenakan sel fibroblas ini berpotensi untuk fibrogenesis dalam jaringan ikat selama pengembangannya maka digunakan istilah fibroblas (Junqueira *et al.*, 2013). Fibroblas memiliki sifat kontraktile yang signifikan dan disebut sebagai *myofibroblast* (Sandhu *et al.*, 2012).

2.3.2 Stuktur Fibroblas

Bentuk sel fibroblas ini tergantung pada besar substratnya, dalam sel-sel terdapat dua tahap aktivasi yaitu aktif dan rest (Junqueira *et al.*, 2013). Fibroblas memiliki banyak percabangan sitoplasma yang *irreguler*, berbentuk fusiform, berinti oval, dengan kromatin yang halus. Sitoplasmanya banyak mengandung retikulum endoplasma kasar dan apparatus golgi yang berkembang baik. Sedangkan fibrosit memiliki ukuran yang lebih kecil dari fibroblas biasanya berbentuk gelendong, prosesusnya lebih sedikit, inti lebih kecil, gelap, panjang dan sitoplasma lebih asidofilik dengan sedikit retikulum endoplasma kasar (Mescher, 2013).

Gambar 2.3 Struktur Fibroblas

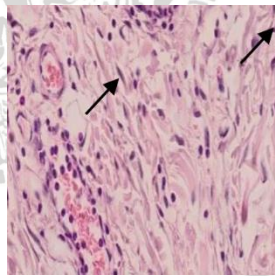


Sumber. Sandhu *et al.*, 2012

Keterangan:

Gambar 2.4 : Structure dari fibroblas. A. Nucleus, B. Nucleolus, C. Golgi apparatus, D. Cytoplasm, E. Intermediate/transfer vesicles, F. Ribosomes, G. Mitochondria, H. Polyribosomes, I. Rough endoplasmic reticulum, J. Collagen fibrils, K. Cell processes, L. Microtubules, M. Secretory granules.

Gambar 2.4 Fibroblas dalam Sediaan Histologi



Sumber. Kusumawardhani *et al.*, 2015

Keterangan:

Gambar 2.4: Fibroblas (yang ditunjuk anak panah biasanya tersebar sepanjang serat kolagen dan tampak sebagai sel fusiform atau gelendong dengan ujung meruncing, Inti fibroblas tampak pucat dan terputus gelap apabila tercat hematoksilin-eosin sehingga tampak berwarna biru keunguan.

2.3.3 Peranan Fibroblas

Migrasi fibroblas ke jaringan luka terjadi 3 hari setelah cedera dan akan menjadi dominan setelah hari ke-6 hingga ke-7 (Andreasen *et al.*, 2019). Pada fase hemostasis, fibroblas diarahkan oleh PDGF untuk mengaktifasi produksi kolagen dan glikosaminoglikan sehingga dapat memperbaiki matriks ekstraselular, pada fase inflamasi, fibroblas diaktifkan oleh neutrofil dengan dilepaskannya mediator IL-1 dan TNF- α (Foster, 2012). Pada tahap proliferasi, fibroblas berfungsi untuk mensekresikan mediator FGF-1, bFGF atau FGF-2, TGF- β , PDGF, dan EGF. Mediator tersebut menstimulasi dan memodulasi biosintesis matriks ekstraselular dalam pembentukan jaringan ikat. Fibroblas mempunyai peran untuk mensekresi MMPs, merupakan komponen kimiawi yang memfasilitasi pergerakan fibroblas menuju matriks dan membantu menghilangkan komponen yang rusak. Setelah masuk ke dalam tempat terluka, fibroblas akan memproduksi kolagen, proteoglikan, dan beberapa komponen lainnya (Sculean *et al.*, 2014; Olczyk *et al.*, 2014).

Aktivasi fibroblas secara dominan diatur oleh PDGF dan TGF- β (Foster, 2012). Dengan bantuan fibroblas, matriks kolagen dapat mengurangi proliferasi sel dan sintesis kolagen serta meningkatkan pro-kolagenase dan ekspresi reseptor kolagen $\alpha 21\beta$ sehingga terjadi *collagen remodeling* (Clark, 2013). Selain itu, fibroblas juga dapat memproduksi kolagen tipe I, III, V dan beberapa komponen matriks ekstraselular lainnya. Pada akhir dari penyembuhan luka kolagen tipe III akan digantikan oleh meningkatnya kolagen tipe I (Oentaryo *et al.*, 2016).

Peranan fibroblas dalam penyembuhan luka yaitu memproduksi *growth factors* untuk menstimulasi autokrin dan parakrin, proliferasi dan migrasi sel untuk membentuk jaringan granulasi, melepaskan enzim *protease* untuk menyisihkan matriks sementara dan membentuk jaringan ikat, sebagai penghubung antara gumpalan aktin (*actin bundle*) dengan matriks ekstraselular untuk mengontriksi jaringan, dan memprogram kematian sel untuk media transisi dari sel

pembentuk jaringan granulasi ke sel pembentuk jaringan parut (*Scar*) (Clark, 2013).

2.4 Faktor Pertumbuhan (*growth factors*)

2.4.1 Definisi *Growth Factors*

Faktor pertumbuhan atau yang biasa disebut *Growth factors* adalah sebuah agen potensial yang bertujuan dalam reaksi jaringan khusus karena meregulasi fungsi selular, seperti adhesi, proliferasi, migrasi, dan diferensiasi (Yun *et al.*, 2010). *Growth factors* adalah protein besar yang berfungsi sebagai mediator (*non haemopoetic cells*) yang memodulasi penyembuhan luka dengan cara menstimulasi produksi protein, kelompok protein yang dapat menstimulasi pertumbuhan jaringan secara spesifik dan memiliki peranan penting dalam mempromosikan diferensiasi sel dan pembelahan sel (Murdoch, 2016; Shrivastava dan Smrati, 2016). *Growth factors* dan sitokin merupakan polipeptida yang diproduksi jaringan normal maupun jaringan luka (Barbul *et al.*, 2010). Sitokin adalah kelompok protein heterogen yang berinteraksi spesifik dengan reseptor permukaan sel (Barrientos *et al.*, 2014).

Keberhasilan proses penyembuhan luka tergantung pada *growth factors*, sitokin, dan kemokin terlibat dalam integrasi signaling yang kompleks. Agen-agen ini adalah polipeptida yang aktif secara biologis yang bertindak untuk mengubah pertumbuhan, diferensiasi, dan metabolisme sel target. Mereka dapat bertindak dengan *paracrine*, *autocrine*, *juxtacrine*, atau mekanisme endokrin, dan mempengaruhi perilaku sel sebagai konsekuensi dari pengikatan pada reseptor permukaan sel spesifik atau protein ECM yang memicu kaskade peristiwa molekuler. Titik akhir dari pensinyalan ini adalah pengikatan faktor transkripsi ke promotor gen yang mengatur transkripsi protein yang mengendalikan siklus sel, motilitas, atau pola diferensiasi (Barrientos *et al.*, 2014). Pengikatan spesifik *growth factors* pada reseptornya mengaktifkan *signal transduction pathways* intraseluler yang mengatur berbagai aspek fisiologi subseluler dan

fungsi seluler (Koria, 2012). *Growth factors* berikatan dengan reseptornya sesuai dengan letaknya di permukaan sel, memulai *signaling pathways* untuk mengaktifkan *signaling molecules* yang relevan, lalu dapat mengaktifkan protein sitoplasma atau menginduksi transkripsi protein baru (Park *et al.*, 2017).

2.4.2 Peran *Growth Factors*

Growth factor memiliki peran penting dalam proses perbaikan jaringan, diantaranya adalah berperan dalam menarik sel lain ke daerah luka (kemotaksis), menginduksi proliferasi sel, merangsang pembentukan pembuluh darah baru, mengatur sintesis dan degradasi *extracellular matrix* (Andreasen *et al.*, 2019). Tahapan penyembuhan luka dikendalikan oleh berbagai *growth factor* dan sitokin yang berbeda, setelah cedera pada kulit, penghalang epidermis terganggu dan keratinosit melepaskan IL-1. Interleukin-1 merupakan sinyal pertama yang memperingatkan sel-sel di sekitarnya untuk merusak kerusakan. Selain itu, komponen darah dilepaskan ke situs luka mengaktifkan kaskade pembekuan. Pembekuan yang dihasilkan menginduksi hemostasis dan menyediakan matriks untuk masuknya sel-sel inflamasi. Trombosit berdegranulasi melepaskan butiran alfa, yang mensekresi *growth factor* seperti: EGF, PDGF dan TGF- β (Barrientos *et al.*, 2014).

Platelet Derived Growth Factor bersama dengan sitokin proinflamasi seperti IL-1, bekerja menarik neutrofil ke lokasi luka untuk membersihkan luka dari berbagai mikroorganisme, monosit dikonversi menjadi makrofag dengan bantuan TGF- β memainkan peran penting dalam menambah respon inflamasi dan debridemen jaringan. Makrofag memulai pengembangan jaringan granulasi dan melepaskan berbagai sitokin proinflamasi (IL-1 dan IL-6) dan *growth factor*, yaitu FGF, EGF, TGF- β , dan PDGF (Barrientos *et al.*, 2014). Platelet membantu melepaskan VEGF dan FGF sehingga sel-sel endotel berkembang biak dan terjadi angiogenesis. Proses ini sangat penting untuk sintesis, deposisi, dan organisasi matriks ekstraseluler baru. Kemudian infiltrasi fibroblast terjadi dibantu oleh FGF, TGF- β ,

dan PDGF. Fibroblas berubah menjadi *myofibroblast* dikarenakan terjadinya perubahan fenotipik TGF- β dan PDGF untuk menghasilkan kekuatan kontraksi, memfasilitasi penutupan luka (Hantash *et al.*, 2008).

Beberapa jam setelah cedera, reepitelisasi dimulai dan pelepasan EGF, TGF- α , dan FGF bertindak untuk merangsang migrasi dan proliferasi sel epitel. Proses ini dimulai dengan pembubaran kontak sel-sel dan sel-substratum diikuti oleh polarisasi dan migrasi keratinosit melalui ECM sementara. Setelah penutupan luka (epitelisasi 100%) tercapai, keratinosit menjalani stratifikasi dan diferensiasi untuk mengembalikan penghalang. Pembentukan matriks membutuhkan pengangkatan jaringan granulasi dengan revaskularisasi. Kerangka serat kolagen dan elastin menggantikan jaringan granulasi, kerangka kerja ini kemudian jenuh dengan proteoglikan dan glikoprotein, ini diikuti oleh remodeling jaringan yang melibatkan sintesis kolagen baru yang dimediasi oleh TGF- β , dan pemecahan kolagen lama oleh PDGF, produk akhir dari proses ini adalah jaringan parut (Barrientos *et al.*, 2014).



2.4.3 Klasifikasi *Growth Factors*

Gambar 2.5 Klasifikasi *Growth Factors*

Name	Abbreviation	Class	Produced by	Action
Interleukins 1, 6, 8	IL1, IL6, IL8	Cytokines	Macrophages, keratinocytes	Proinflammatory; recruit fibroblasts and keratinocytes
Interleukin 2	IL2	Cytokine	T lymphocytes	Recruits fibroblasts
Interleukin 4	IL4	Cytokine	T lymphocytes	Inhibits TNF, IL1, IL6, inhibits fibroblast proliferation
Tumor necrosis factor alpha	TNF- α	Cytokine	Macrophages	Proinflammatory; helps collagen synthesis
Epidermal growth factor	EGF	Growth factor	Platelets, macrophages, keratinocytes	Promotes keratinocyte and fibroblast proliferation, keratinocyte migration, and granulation tissue formation
Fibroblast growth factors acidic and basic	FGF-a and b	Growth factors	Endothelial cells, fibroblasts, macrophages, T lymphocytes	Cause angiogenesis, fibroblast chemotaxis and proliferation
Keratinocyte growth factors 1 and 2	KGF	Growth factors	Fibroblasts	Stimulate keratinocyte division and differentiation
Platelet derived growth factors (PDGF exists in several forms: AA, BB, AB, others)	PDGF	Growth factor	Platelets, macrophages; also fibroblasts, endothelial cells	Cause neutrophil and fibroblast chemotaxis; fibroblast proliferation, and synthesis of matrix proteins, metalloproteinases, stimulates angiogenesis
Transforming growth factors (alpha and beta)	TGF- α, β	Growth factors	Platelets, macrophages, fibroblasts, keratinocytes, T lymphocytes	Cause fibroblast and keratinocyte chemotaxis, angiogenesis; upregulates TIMP; inhibits production of MMPs and keratinocyte proliferation, induces TGF β production
Vascular endothelial growth factors (a family of peptides)	VEGF	Growth factors	Endothelial cells, keratinocytes, platelets, macrophages, fibroblasts	Cause angiogenesis (mitogenic for endothelial cells). Expression increased in the presence of hypoxia
Tissue inhibitor of metalloproteinase	TIMP	Enzyme	Most mesenchymal cells	Inhibits MMPs
Matrix metalloproteinases	MMPs	Enzymes	Monocytes, macrophages, endothelial cells	Degrade the extracellular matrix

Sumber: Shah *et al.*, 2012.

Keterangan:

Gambar 2.5: Sumber sel dan fungsi utama *growth factors*, dan enzim yang terlibat dalam penyembuhan luka.



2.4.4 Fibroblast Growth Factor -2

Fibroblast Growth Factor terdiri dari 23 macam anggota yang memiliki peranan penting dalam penyembuhan luka, salah satunya adalah FGF-2 atau *basic FGF* berperan penting dalam pembentukan jaringan granulasi, re-epitelisasi, dan *remodeling* jaringan (Barrientos *et al.*, 2014). Basic FGF (bFGF) atau biasa disebut FGF-2 merupakan salah satu dari 23 keluarga FGF pada mamalia, FGF-2 merupakan kelompok polipeptida yang berperan dalam beberapa proses selular fisiologis tubuh, seperti proliferasi sel, migrasi, diferensiasi, mitogenesis, embriogenesis, dan penyembuhan luka (Teven *et al.*, 2014). Fibroblast growth factor-2 adalah salah satu growth factor yang dihasilkan oleh sel makrofag, fibroblas, endotel, dan limfosit (Oentaryo *et al.*, 2016; Shah *et al.*, 2012). Basic FGF-2 mempunyai peran penting dalam proses penyembuhan luka neurovaskularisasi, dan meningkatkan sintesis kolagen (Matsumoto *et al.*, 2013).

Basic FGF muncul sejak awal terkena luka hingga mencapai puncaknya pada hari ke-5 sampai hari ke 8 (Oentaryo *et al.*, 2016). Basic FGF dikode oleh gen FGF-2 yang ditranslasikan kedalam 5 protein isoform yang berbeda, FGF-2 disekresikan melalui sebuah mekanisme yang terjadi di membran plasma, FGF-2 mempunyai reseptor FGF, yaitu FGFR-1, FGFR-2, FGFR-3, dan FGFR-4 (Dovilo *et al.*, 2017). Pada luka fase akut, FGF-2 berperan dalam pembentukan jaringan granulasi, re-epitelisasi, dan remodeling jaringan, selain itu FGF-2 berperan dalam regulasi sintesis dan deposisi komponen matriks ekstraseluler, meningkatkan pergerakan keratinosit, mempercepat migrasi fibroblas, dan sebagai perangsang dalam pembentukan tulang karena semakin tinggi FGF-2 maka sel osteoblas juga meningkat (Kresnoadi, 2012). Penelitian secara in-vitro telah membuktikan bahwa FGF-2 memiliki peran dalam mengatur sintesis dan deposisi berbagai komponen matriks ekstraseluler (ECM), meningkatkan motilitas kertainosit saat re-epitelisasi, merangsang migrasi fibroblast dan menstimulasi untuk memproduksi kolagen (Barrientos *et al.*, 2014).

2.4.5 Signaling Fibroblast Growth Factor -2

Basic FGF signaling mempunyai mekanisme *feedback regulasi* yang terdiri dari *positive* dan *negative regulation of signaling* (Brooks *et al.*, 2012; Teven *et al.*, 2014). Mekanisme FGF-2 signaling sama seperti mekanisme FGF pada umumnya, mekanisme awal *positive signaling*, ligand FGF-2 berkaitan dengan FGFRs (reseptor). Ikatan kompleks FGF terdiri dari dua FGFs, dua rantai heparin sulfat, dan dua FGFRs. Aktivasi FGFRs dimediasi secara *transphosphorylation* tyrosine. *Tyrosine kinase* yang telah diidentifikasi dalam FGFR1 yaitu; Tyr¹⁶³, Tyr⁵⁸³, Tyr⁵⁸⁵, Tyr⁶⁵³, Tyr⁶⁵⁴, Tyr⁷³⁰, dan Tyr⁷⁶⁶. Grup *phosphotyrosine* berfungsi sebagai tempat berikatan protein adaptor (Src *homology-2/ SH2* atau *phosphotyrosine binding/ PTB*) yang meregulasi jalur *signalinng* (Teven *et al.*, 2014). Tyrosine kinase berperan sebagai reseptor dalam mekanisme FGFR1 yang mengatur hemostasis dan penyembuhan luka dengan mengaktifkan sinyal diferensiasi, migrasi, proliferasi, angiogenesis, dan kelangsungan hidup sel (Sohl, 2015).

Jalur Ras/MAP kinase, FGF signaling melibatkan proliferasi dan diferensiasi sel. MAP kinase merupakan *serin/ threonine-specific protein kinase* yang berperan dalam respon stimulasi ekstraselular dan meregulasi berbagai aktivitas selular, seperti ekspresi gen, mitosis, diferensiasi sel, dan keberlangsungan hidup sel/apoptosis sel (Yun *et al.*, 2010).

Secara ringkas, mekanisme FGF-2 signaling sebagai berikut:

1. *Ligand* FGF-2 ekstraselular mengikat FGFR yang permukaan selnya dilekati *heparine sulfate* (HSPGs) berperan sebagai perantara. Hal ini menyebabkan FGFR mengalami dimerisasi dan *tyrosine kinase* aktif
2. Protein target *signaling* aktif dan mengawali terjadinya aktivasi jalur RAS/ *mitogen-activating protein kinasi* (MAPK), *phospholipase C gamma* (PLC γ), dan *phosphoinositide 3* (PI3)

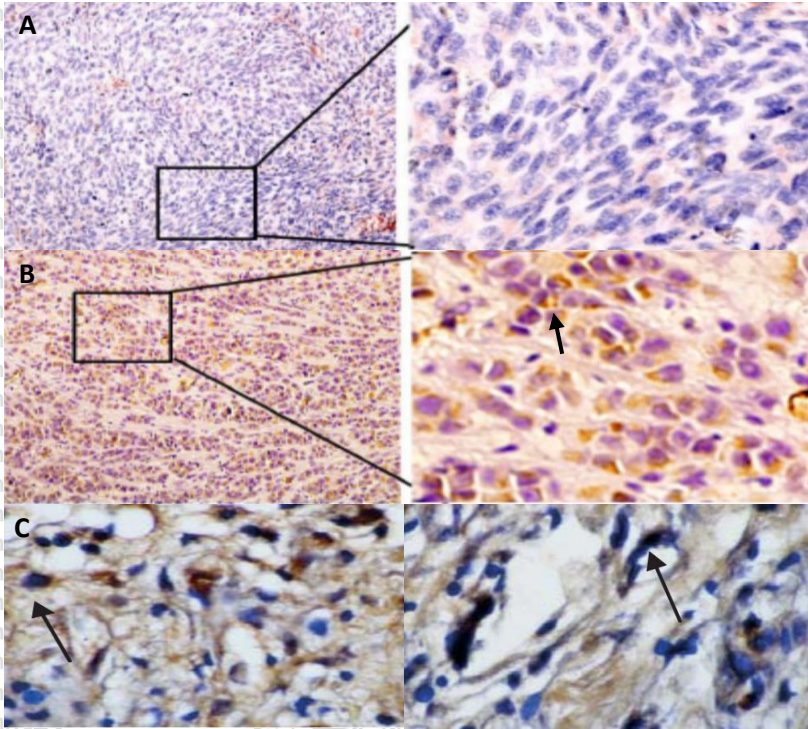
kinase/ jalur AKT. Jalur MAPK merupakan jalur yang sering dijumpai dalam FGF-2 *signaling*.

3. Terjadi aktivasi sel, seperti proliferasi, migrasi, diferensiasi dan angiogenesis (Dovilo *et al.*, 2017).

2.4.6 Ekspresi FGF-2 dalam Pewarnaan Immunohistokimia

Ekspresi FGF-2 dapat dilihat dalam pewarnaan imunohistokimia, Ekspresi FGF-2 dianggap imunoreaktif ketika granula coklat diidentifikasi dalam sitoplasma karena antigen (FGF-2) dengan antibodi monoklonal (anti FGF-2), untuk setiap spesimen, ekspresi FGF2 dikuantifikasi menggunakan sistem penilaian visual berdasarkan tingkat pewarnaan dan intensitas pewarnaan. Intensitas pewarnaan ditentukan sebagai 0: negatif, 1: lemah, 2: sedang, dan 3: kuat. Persentase sel positif didefinisikan sebagai 0: negatif, 1: 1% - 10% sel positif, 2: 11% - 50% sel positif, 3: 51% - 80% sel positif, dan 4: > 80% sel positif. Nilai skor imunoreaktif ≥ 4 dianggap sebagai hasil pewarnaan positif (Puspasari *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2017). Fibroblast growth factor-2 dihasilkan oleh makrofag, fibroblas, sel endotel, dan limfosit (Oentaryo *et al.*, 2016; Shah *et al.*, 2012).

Gambar 2.6 Ekspresi FGF-2 pada Pewarnaan Immunohistokimia



Sumber. Wang *et al.*, 2017; Oentaryo *et al.*, 2016

Keterangan:

Gambar 2.6: (A) Gambar representatif dari ekspresi FGF-2 negatif tampak sitoplasma berwarna kebiruan (B) Ekspresi FGF-2 positif menunjukkan warna kecokelatan pada sitoplasma. (C) Ekspresi FGF-2 positif berbentuk bulat dan spindle terlokalisasi pada makrofag, fibroblas dan sel endotel.

2.5 Triamcinolone Acetonide

Kortikosteroid topikal yang dijual luas di apotek mempunyai banyak variasi seperti hydrocortison, flupredniliden, triamcinolon, betametason, fluokortolon dan desoksimetason (Unur *et al.*, 2014). *Triamcinolone acetone* adalah glukokortikoid sintetik topikal yang sering kali dipergunakan untuk terapi berbagai lesi kulit, alergi, dan juga luka pada rongga mulut (Wijaya *et al.*, 2015). Glukokortikoid adalah sintetik kortikosteroid endogen yang dihasilkan oleh kelenjar adrenal melalui aktivitas aksis hypotalamic-pituitary adrenal (HPA) (Purba, 2007). Glukokortikoid, secara umum mengatur inflamasi (Neilsen dan Kaye, 2014). Glukokortikoid akan mencegah inflamasi sebagai respon dari adanya peristiwa infeksi, peradangan akibat keadaan yang mekanik, kimiawi serta stimulus imunologis (Ferrara *et al.*, 2019). Obat ini bekerja dengan cara mencegah keluarnya zat yang menyebabkan inflamasi atau peradangan (Sinha, 2019).

Kortikosteroid topikal yang sering digunakan dalam pengobatan ulkus traumatik adalah *triamcinolone acetone* 0,1% yang digunakan sebagai anti inflamasi sehingga dapat mempercepat penyembuhan ulkus (Gani *et al.*, 2015; Gupta *et al.*, 2018). Kortikosteroid topikal dipilih karena fungsinya seperti reduksi dalam eksudasi leukosit dan konstituen plasma, pemeliharaan integritas membran seluler dengan pencegahan pembengkakan sel, penghambatan lisozim pelepasan dari granulosit dan penghambatan fagositosis, stabilisasi membran lisozim intraseluler yang mengandung enzim hidrolitik, penurunan pembentukan bekas luka dengan cara menghambat proliferasi fibroblas dan jika diberikan dalam dosis yang besar akan terdapat efek terhadap pembentukan antibodi (Unur *et al.*, 2014). Absorpsi *Triamcinolone acetone* melalui mukosa ditentukan oleh berbagai faktor diantaranya integritas barrier mukosa, durasi terapi, adanya inflamasi atau proses adanya penyakit, setelah diabsorpsi melalui membran mukosa, kortikosteroid topikal ditangani melalui jalur farmakokinetik mirip dengan kortikosteroid yang diberikan secara sistemik, kortikosteroid terikat

dengan protein plasma dalam berbagai derajat, kortikosteroid dimetabolisme terutama di hati dan dieksresikan oleh ginjal, empedu (Wibowo *et al.*, 2014).

Kortikosteroid bekerja melalui membran sel dan berikatan dengan *glucocorticoid receptors* (GR) di sitoplasma (Mehdipour dan Taghavi, 2012). *Glucocorticoid receptors* adalah suatu protein yang inaktif dalam sitoplasma, yang baru aktif jika telah berikatan dengan kortisol, dalam mengatur inflamasi, efek utama glukokortikoid terutama berasal dari interaksi glukokortikoid teraktivasi dengan transkripsi faktor nuklear (NF- κ B) dan activator protein-1 (AP-1), yang diinduksi oleh protein antiinflamasi seperti I κ B, annexin I, and MAPK phosphatase I, dapat menyebabkan inhibisi ekspresi molekul proinflamasi (*trans-repressive*), sehingga menekan gen yang mengkode protein inflamasi (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-16, IL-17, IL-18, TNF- α , GM-CSF), kemokin, molekul adesi (ICAM-1, VCAM-1), enzim inflamasi, reseptor inflamasi dan peptida (Purba, 2007; Helmy dan Munasir, 2007). Glukokortikoid selain menghambat sitokin pro inflamasi juga menginduksi makrofag untuk transit ke fenotip M2 reparatif, yang menjadi mediator antiinflamasi dan menghasilkan *growth factors*, makrofag juga menghilangkan neutrofil dalam luka dengan fagositosis, yang menyebabkan perubahan makrofag dari M1 menjadi M2 (Landen *et al.*, 2016). *Triamcinolone acetonide* terbukti dapat menghambat ekspresi VEGF, proliferasi fibroblast, dan dapat menginduksi atrofi jaringan parut (Song *et al.*, 2018). Tindakan anti-inflamasi dari kortikosteroid topikal memungkinkan untuk menghambat inflamasi atau luka ulkus pada mukosa secara efektif (Derendorf dan Meltzer, 2008).

Ulkus non-spesifik yang diberi *Triamcinolone acetonide* biasanya sembuh dalam 2 hingga 5 hari (Fifita *et al.*, 2009). *Triamcinolone acetonide topical* di indikasikan untuk lesi akut dan kronik pada mukosa rongga mulut, namun memiliki kontraindikasi terhadap lesi yang disebabkan oleh jamur, virus atau bakteri pada

rongga mulut, dan memiliki efek samping seperti bengkak, iritasi, rasa gatal, kering, kemerahan dan rasa terbakar pada daerah lesi (Anil dan Savita, 2014; Gupta *et al.*, 2018). Meskipun triamcinolone memiliki efek yang baik pada penyembuhan ulkus traumatik, triamcinolone memiliki efek samping berupa rasa terbakar, gatal, kemerahan pada daerah ulkus, kering, dan iritasi (Fani *et al.*, 2012). Dalam jangka waktu panjang penggunaan *Triamcinolone acetonide topical* dapat menyebabkan adanya resistensi sistem kekebalan tubuh dan atrofi sel epitel (Gani *et al.*, 2015). Penggunaan steroid topikal dalam jangka waktu yang panjang dapat menimbulkan efek samping pada sistemik yakni supresi adrenal, *iatrogenic Cushing's syndrome*, bahkan pertumbuhan retardasi pada anak-anak atau bayi, namun efek samping sistemik jarang terjadi pada pasien dengan masalah gigi dan mulut yang menggunakan terapi steroid topikal (Dhar, 2014).

2.6 Ciplukan (*Physalis angulata L.*)

2.6.1 Taksonomi

Klasifikasi tanaman ciplukan menurut *Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC)*, (2019) :

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Spermatophyta*

Sub Divisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotylesonnae*

Ordo : *Solanales*

Famili : *Solanaceae*

Marga : *Physalis*

Spesies : *Pyhsaling angulata L.*

2.6.2 Morfologi

Physalis angulata yang termasuk dalam famili *Solanaceae*, yang merupakan spesies rerumputan tahunan yang terdistribusi pada setiap negara yang terletak di daerah tropis dan subtropik (Kusumaningtyas *et al.*, 2015; *Ferreira et al.*, 2019). Bercabang tegak, dengan akartepuk, batang miring dan berongga yang tumbuh hingga ketinggian 1-2 m, meskipun ada laporan tentang tanaman yang hanya tumbuh hingga setinggi 50 cm, biasanya tidak berbulu (glabrous), namun tanaman memiliki bulu pendek, terutama pada bagian yang lebih muda cm (CABI, 2019). Bagian daun berbentuk oval dengan panjang 4-10 cm dan lebar 3-6 cm. Panjang tangkai daun dapat mencapai 4 cm atau lebih. Tepi daun umumnya bergerigi tidak teratur, tetapi mungkin juga halus. Basis daun antara daun satu dengan lainnya tidak sama. Bagian bunga ditanggung tangkai dengan panjang 5-40 mm. Corolla bunga berwarna kuning, tanpa atau dengan bintik-bintik, dan memiliki panjang 4-12 mm dan lebar 6-12 mm. Kepala sari berwarna kebiruan atau ungu, dengan panjang 2,5 mm. Pangkal bunga berwarna hijau dengan panjang 4-7 mm dengan lobus segitiga. Buah ciplukan memiliki rasa yang tajam, buahnya berbentuk bundar berwarna hijau sampai kuning jika masak., panjang 1-1,8 cm dan tertutup di lapisan luar, lapisan luar ini (kelopak seperti balon dari 5 lobus dengan pembukaan apikal kecil) panjangnya 2-6 mm, tumbuh di sekitar dan membungkus buah. kelopak buah berwarna hijau pucat (coklat pucat saat kering), mengembang berbentuk siku atau bergaris, panjang 23-35 mm dan lebar 15-25 mm (CABI, 2019).

Gambar 2.7 Buah Ciplukan (*Physalis angulata* L.)



Sumber. CCRC, 2019.

Keterangan:

Gambar 2.7: Buah Ciplukan berbentuk telur, panjangnya sampai 14 mm, hijau sampai kuning jika masak, berurat lembayung, memiliki kelopak buah

2.6.3 Kandungan Senyawa Aktif dan Farmakologi

Ciplukan merupakan tumbuhan sangat berguna dalam bidang medis. Beberapa Negara menggunakannya dalam pengobatan tradisional. Tumbuhan ini digunakan untuk merawat beberapa penyakit seperti asma, hepatitis, malaria, demam, masalah liver, diretik dan ekstraknya sebagai antivirus, anti-inflamasi, antimikroba, antiseptik, diretik, antikanker, antitumor, antimikroba, immunosupresan. Seluruh bagian dari tumbuhan ini dapat digunakan untuk kebutuhan medis, salah satunya adalah bagian buah. Pemeriksaan dilakukan untuk mengetahui berbagai kandungan buah ciplukan menggunakan metode HTPLC, ditemukan bahwa buah ciplukan mengandung 26,78% Lupeol, 6,54% Ursolic acid, 10,84% β -sitosterol, 2,82% Campesterol, 24,67% Withaferin A, 0,028% Withanolide A, 1,186% Emodin (Brar dan Gupta, 2017).

2.6.3.1 Lupeol

Lupeol adalah *pentacyclic triterpene*, dengan stuktur kimia $C_{30}H_{50}O$ (Saleem. 2010). Lupeol menunjukkan efek farmakologi seperti Antiprotozoal, Antiinflamasi dan Antimikroba yang juga mendukung proses penyembuhan luka (Gallo, dan Miranda, 2009). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Beserra *et al.* (2019) menunjukkan peran lupeol, triterpen pentasiklik, dalam penyembuhan luka pada tikus hiperglikemik yang diinduksi streptozotocin, hasilnya menunjukkan penurunan ekspresi NF- κ B, TNF- α , IL-6 dan peningkatan level IL-10 pada kelompok yang diobati lupeol dibandingkan dengan kelompok kontrol. Lupeol juga meningkatkan ekspresi FGF-2, TGF- β 1, Hif-1 α , Ho-1, dan Sod-2. selain itu, pengamatan secara histologi didapatkan bahwa pembentukan jaringan granulasi yang lebih baik ditandai dengan proliferasi fibroblas, peningkatan vaskularisasi, dan deposisi serat kolagen setelah pengobatan lupeol. Peran lupeol sebagai antiinflamasi yaitu lupeol dapat memodulasi ekspresi keratin 16, keratinosit lupeol menghasilkan aktivasi Akt, P38, dan Tie-2, yang akan memberikan sinyal protein yang terlibat dalam proliferasi dan migrasi sel, angiogenesis dan perbaikan jaringan. Lupeol dapat meningkatkan proliferasi fibroblas yang signifikan sebanyak 12% pada dosis 1 mikrogram/mL, sedangkan pada dosis yang lebih besar yaitu 20 μ g/mL menghambat proliferasi fibroblas, ditunjukkan bahwa lupeol dapat meningkatkan wound closure sebanyak 59% secara signifikan dengan dosis 0,1 μ g /mL pada human epidermal keratinocytes (Brar dan Raghbir 2017; Beserra *et al.*, 2019).

2.6.3.2 Ursolic Acid

Ursolic acid (UA, 3 β -hydroxy-12-urs-12-en-28-oic acid) adalah *pentacyclic triterpenoid*, dengan stuktur kimia $C_{30}H_{48}O_3$ dan masa molekulnya 456.71 g/mol, Ursolid acid memediasi beberapa proses farmakologis dan memodulasi beberapa *signaling pathways* untuk mencegah perkembangan penyakit kronis (Seo *et al.*, 2018). *Ursolic acid* (UA) adalah bagian dari pengobatan tradisional dan telah

terbukti memiliki banyak aktivitas biologis, seperti menunjukkan efek antiinflamasi, antioksidan, antikanker, antikarsinogenik, antidibetes, kardioprotektif, neuroprotektif, hepatoprotektif, antiatrofi otot rangka, dan efek termogenik (Checker *et al.*, 2012; Seo *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2013; Benincá *et al.*, 2010).

Sifat anti inflamasi, anti-proliferasi, anti tumor dan antileukemik telah terbukti dimediasi melalui penekanan aktivasi NF- κ B dan menghambat ekspresi gen yang diatur NF- κ B seperti lipoksigenase, COX-2, MMP-9, dan iNOS, yang menyebabkan pelemahan ekspresi COX-2 dan sekresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6 (Checker *et al.*, 2012). Dalam penelitian Chen *et al.* (2013) UA dapat melemahkan cedera paru akut yang diinduksi LPS dalam model murine, bersama dengan penghambatan produksi TNF- α , IL-1 β dan IL-6 dan peningkatan regulasi ekspresi IL10. *Ursolic acid* juga memiliki peran dalam meningkatkan *tensile strenght* dari jaringan granulasi (Naika *et al.*, 2016).

2.6.3.3 B-sitosterol dan Campesterol

Sterol adalah komponen yang penting dalam sel hewan dan sel tumbuhan, sterol tanaman umumnya dikenal sebagai *pitosterol* adalah komponen integral dan membran lipid berlayer yang terlibat dalam stabilisasi sel membran, tiga fitosterol yang paling umum adalah β -sitosterol, compesterol dan stigmasterol (Ambavade *et al.*, 2014). Beta-sitosterol senyawa ini meningkatkan antioksidan enzimatik dan swsnonenzimatik dalam sel sehingga efektif sebagai anti-diabetes, neuroprotektif, dan agen kemoprotektif (Saidnia *et al.*, 2014).

β -sitosterol memiliki aktivitas anti-inflamasi ketika diberikan melalui oral dan dioleskan, dalam penelitian Loizou *et al.* (2010) menentukan aktivitas β -sitosterol (dosis berkisar: 0,1-200 μ M) pada ekspresi adhesi vaskular dan molekul adhesi intraseluler 1 yang menggunakan ELISA, di samping perlekatan monosit (sel-sel U937) pada TNF- α merangsang *human aortic endothelial cells* (HAECs) menggunakan uji adhesi, mereka menyimpulkan bahwa β -sitosterol

mampu menghambat ekspresi adhesi molekul 1 dan molekul adhesi intraseluler dalam HAEC yang dirangsang TNF- α , selain itu, senyawa ini bertindak sebagai penghambat fosforilasi NFKB dalam sel makrofag. Beta-sitosterol (*β -sitosterol*) bekerja sebagai anti inflamasi dengan cara menurunkan sekresi sitokin pro-inflamasi, TNF- α yang menyebabkan edema, dan meningkatkan sitokin anti-inflamasi, *β -sitosterol* juga dapat meningkatkan angiogenesis (Valerio dan Awad, 2011; Saeidnia *et al.*, 2014). β -sitosterol- β -D-glukosida juga memiliki aktivitas antiinflamasi yang dibuktikan dengan pengurangan produksi nitrat oksida (NO) dari sel-sel RAW 264.7 yang diinduksi LPS, penghambatan kuat aktivitas IL-6 dari makrofag terstimulasi, pengurangan sekresi elemen inflamasi termasuk TNF- α dan IL-1 β (Sayed *et al.*, 2016). Campesterol bekerja sebagai anti inflamasi dengan mempengaruhi kerja neutrofil (Hemmati *et al.*, 2015).

2.6.3.4 Withaferin-A

Withaferin A (WFA) adalah produk alami dengan struktur steroid, withaferin A memiliki efek farmakologi seperti, anti-inflamasi, anti kanker, dan kardioprotektif, aktivitas biologisnya sebagian besar disebabkan oleh ikatan rangkap dan cincin epoksida (Craig, 2016). Withaferin A secara signifikan menurunkan kadar bromodomain 4 (BRD4), WFA juga secara dependen mengurangi ekspresi phosphop 44/42 MAPK dan phospho-p38 MAPK berkontribusi terhadap inflamasi yang terkait dengan pensinyalan inflamasi dan dimediasi oleh NF- κ β / IKK, sitokin proinflamasi seperti IL-1 β dan TNF- α juga secara signifikan dihambat oleh WFA (Bale *et al.*, 2018).

2.6.3.5 Emodin

Emodin (1,3,8-trihydroxy-6-methylantraquinone) adalah turunan dari *anthraquinone* (He *et al.*, 2018). Emodin telah terbukti memiliki spektrum efek farmakologis yang luas, seperti antikanker, antitumor, antiinflamasi, antivirus, antibakteri, antialergi,

antiosteoporotik, antidiabetes, immunosupresif, aktivitas neuroprotektif, dan hepatoprotektif (Yao *et al.*, 2015).

Emodin mampu menghambat beberapa biomarker inflamasi yang memainkan peran penting dalam perkembangan penyakit. Beberapa molekul-molekul ini meliputi: NF- κ B, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, *chemokine CXCR4*, *adhesion molecules* seperti *intracellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), *endothelial leukocyte adhesion molecule* (ELAM), *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) (Shrimali *et al.*, 2013). Efek antiinflamasi dari emodin telah dikaitkan dengan penghambatan faktor transkripsi proinflamasi NF- κ B. Molekul adhesi seperti ICAM-1, VCAM-1 dan ELAM-1 mengandung situs pengikatan untuk NF- κ B yang terlibat dalam transkripsi berbagai gen pro-inflamasi dalam perkembangan penyakit, seperti NF- κ B, efek penghambat NF- κ B melalui protein kinase yang diaktifkan-mitogen (MAPK), jalur PI3K / AKT dan NIK- κ B (Dong *et al.*, 2016; Shrimali *et al.*, 2013). Penghambatan NF- κ B menyebabkan penghambatan perlekatan monosit ke *Endothelial cell* (EC) serta ekspresi molekul adhesi dan menekan sitokin pro-inflamasi (IL-1 β dan TNF- α) yang diinduksi lipopolisakarida (IL-1 β , IL-6) dan kemokin (IL-8, CCL2) (Shrimali *et al.*, 2013; Meng *et al.*, 2010).

2.7 Gel

2.7.1 Definisi

Gel adalah obat padat yang mempunyai daya menyerap air yang besar (hidrasi) dan ukuran partikelnya sangat kecil (koloid), sangat viskos dan tanpa bahan pensuspensi (Anief, 2018). Gel harus menunjukkan tidak atau sedikit perubahan viskositas pada saat penyimpanan maupun digunakan, memiliki resiko yang cukup tinggi terhadap pertumbuhan mikroba sehingga dibutuhkan penambahan pengawet untuk mencegah kontaminasi mikroba. Selain itu, gel untuk penggunaan topikal tidak boleh terlalu cair (Fatmawaty *et al.*, 2016). Keuntungan sediaan gel dibandingkan sediaan topikal yang lain adalah mudah merata jika dioleskan pada kulit tanpa penekanan,

memberi sensasi dingin, tidak menimbulkan bekas dikulit, dan mudah digunakan (Anggraeni *et al.*, 2012).

2.7.2 Sediaan

Beberapa komponen gel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Karbopol merupakan kelompok acrylic polymer cross-linked dengan poly alkenyl ether, karbopol digunakan sebgai besar dalam cairan sediaan formulasi semi solid seperti krim, gel, lotion, dan ointment (Rowe *et al.*, 2009). Karbopol 940 mempunyai sifat non-toksik, tidak mengiritasi dan tidak ada bukti terjadinya reaksi hipersensivitas ketika digunakan secara topikal (Das *et al.*, 2013). Perbedaan karbopol 940 dengan karbopol lainnya adalah sifat viskositasnya yaitu sebesar 40.000 – 60.000 sehingga penambahannya berpengaruh positif terhadap viskositas gel. Dalam sediaan topikal konsentrasi yang digunakan sebanyak 0,5 – 2% (Rowe *et al.*, 2009).
- b. Propylene glikol memiliki banyak fungsi diantaranya bekerja sebagai pelarut, ekstraktn, pengawet, dan anti septik yang hampir sama dengan etanol,propylene glikol memiliki warna yang jernih (tidak berwarna), kental, tidak berbau (Rowe *et al.*, 2009). Penambahan propylene glikol terbukti meningkatkan pelepasan obat, terutama jika digunakan karbomer sebagai *gelling agent* (Dewi dan Saptarini, 2016).
- c. Gliserin pada formulasi topikal bekerja sebagai humektan (menjaga kelembapan sediaan dan *emollient*) menjaga dari kehilangan air pada sediaan, bentuk dari gliserin transparan, tidak bewarna, tidak berbau, kental, higroskopis. Dalam sediaan topikal, gliserin yang bekerja sebagai humektan digunakan sebanyak $\leq 30\%$ (Rowe *et al.*, 2009).
- d. Metil paraben biasanya digunakan sebagai bahan pengawet dan juga bekerja sebagai anti-mikroba, memiliki bentuk kristal

tanpa warna atau bubuk kristal berwarna putih. Dalam sediaan topikal konsentrasi yang digunakan sebanyak 0,02 - 0,3% (Rowe *et al.*, 2009).

e. Propil paraben bekerja sebagai bahan pengawet dan juga bekerja sebagai anti-mikroba, memiliki bentuk kristal berwarna putih, tidak berbau, tidak mempunyai rasa, dapat digunakan sendiri ataupun digunakan bersama metil paraben. Dalam sediaan topikal konsentrasi yang digunakan sebanyak 0,01 - 0,6% (Rowe *et al.*, 2009).

f. *Disodium edetate* atau yang biasa disebut EDTA banyak digunakan dalam formulasi obat topikal, oral, parenteral, berfungsi menjaga stabilitas dan kemampuan gel dalam hal penetrasi kedalam kulit. Dalam sediaan topikal konsentrasi yang digunakan sebanyak 0,005 - 0,1% (Rowe *et al.*, 2009).

g. Natrium Hidroksida (NaOH) digunakan sebagai penstabil karbomer yang bersifat asam dalam formulasi gel, sifatnya sangat mudah larut dalam air maupun dalam etanol, dan memiliki bentuk berupa butiran, rapuh, mudah meleleh, basah, korosif, dan sangat alkalis. Penggunaan dalam konsentrasi rendah terbukti non-toksik, akan tetapi penggunaan dalam konsentrasi tinggi dapat mengiritasi kulit, mata, dan membran mukosa (Rowe *et al.*, 2009).

2.8 Tikus Putih

2.8.1 Definisi

Hewan laboratorium atau hewan percobaan adalah hewan yang sengaja dipelihara sebagai hewan model yang berguna untuk mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratoris (Widiartini *et al.*, 2013). Tikus laboratorium yang sering digunakan dalam penelitian merupakan tikus spesies *Rattus norvegicus* dan berperan penting

dalam penelitian eksperimen sehingga menambah wawasan dan pengetahuan berbagai bidang ilmu (Carolina dan Asep, 2016).

2.8.2 Klasifikasi Ilmiah

Menurut Akbar (2010), klasifikasi tikus putih (*rattus norvegicum*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Phylum : Chodata

Subphylum : Veterbrata

Class : Mammalia

Order : Rodentia

Family : Muridae

Genus : Rattus

Specias : norvegicus

2.8.3 Karakteristik

Beberapa keunggulan tikus putih dibanding tikus liar antara lain lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, dan umumnya lebih cepat berkembang biak. Kelebihan lainnya sebagai hewan laboratorium adalah sangat mudah ditangani dapat ditinggal sendirian dalam kandang asal dapat mendengar suara tikus yang lain dan berukuran cukup besar sehingga memudahkan pengamatan. Biasanya pada umur empat minggu beratnya 35-40 gram, dan berat dewasa 200-250 gram, tetapi bervariasi tergantung galur nya. Terdapat beberapa galur tikus yang sering digunakan dalam penelitian yaitu, galur wistar, galur sprague-dawley, galur long evans, galur holdzman (Carolina dan Asep, 2016).

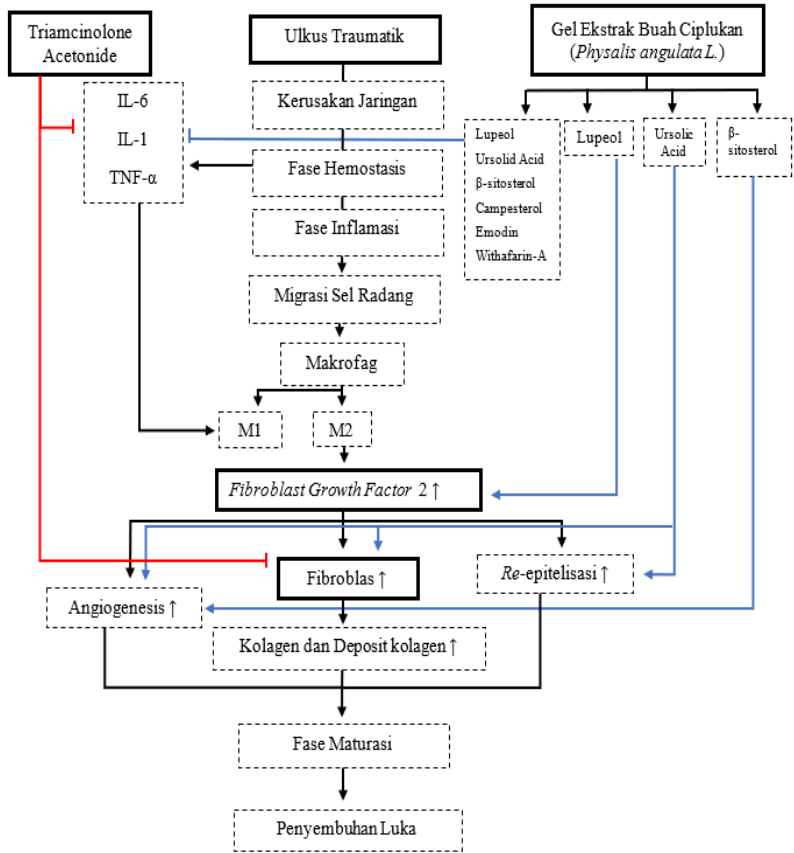
Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar dipilih sebagai sampel karena tikus merupakan hewan coba yang tergolong jinak, mudah diperoleh dalam jumlah banyak, mempunyai respon yang lebih cepat, mudah perawatanya, dan fungsi metabolismenya mirip dengan manusia, serta harganya lebih terjangkau dibandingkan dengan menggunakan marmot (*Cavia coby*), para ilmuwan telah memunculkan banyak strain atau galur tikus khusus untuk eksperimen. Sebagian besar berasal dari tikus Wistar albino, yang masih digunakan secara luas (Carolina dan Asep, 2016).







BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:

	: Variabel yang tidak diteliti		: Menstimulasi
	: Variabel yang diteliti		: Menghambat

Ulkus merupakan keadaan patofisiologis hilangnya jaringan epitelium hingga melebihi membran basalis dan mengenai lamina propria (Regezi *et al.*, 2016). Hemostasis terjadi setelah terjadinya luka dan berlangsung sampai 72 jam (Wang *et al.*, 2018). Bekuan darah di sekitar jaringan luka akan mengeluarkan sitokin *pro* inflamatory (TNF- α , IL-6, IL-8) setelah perdarahan terkontrol, sel-sel inflamasi bermigrasi ke dalam luka (*chemotaxis*) dan mempromosikan fase inflamasi, yang ditandai dengan infiltrasi berurutan dari neutrofil, makrofag, dan limfosit (Gonzalez *et al.*, 2016).

Makrofag yang muncul pada saat fase inflamasi mempunyai fungsi untuk fagositosis debris dan berbagai bakteri patogen yang dapat menginfeksi jejas, selama proses penyembuhan, makrofag transit dari M1 pro-inflamasi ke fenotip M2 reparatif, mengekspresikan mediator anti-inflamasi seperti antagonis IL-1R, umpan reseptor IL-1 tipe II dan IL-10, dan *growth factors* seperti FGF-2, TGF β , dan VEGF yang mempunyai peran untuk mempromosikan proliferasi fibroblas, sintesis ECM dan angiogenesis (Kumar *et al.*, 2013; Landen *et al.*, 2016). *Fibroblast growth factor-2* muncul sejak terjadinya cedera hingga mencapai puncaknya pada hari ke-5 sampai hari ke-8 (Oentaryo *et al.*, 2016). Memiliki peran dalam mengatur sintesis dan deposisi berbagai komponen matriks ekstraseluler (ECM), meningkatkan motilitas kertosit saat re-epitelisasi, merangsang migrasi fibroblast dan menstimulasi untuk memproduksi kolagen (Barientos *et al.*, 2014).

Triamcinolone acetonide merupakan glukokortikosteroid sintetis yang memiliki efek immunosupresif dan anti-inflamasi. Efek utama glukokortikoid terutama berasal dari interaksi glukokortikoid teraktivasi dengan transkripsi faktor nuklear (NF- κ B) dan activator protein-1 (AP-1), yang diinduksi oleh protein antiinflamasi seperti I κ B, annexin I, and MAPK phosphatase 1, dapat menyebabkan inhibisi ekspresi molekul proinflamasi (*trans-repressive*), sehingga menekan gen yang mengkode protein inflamasi (IL-1, IL-6, TNF- α). Absorbsinya meningkat pada daerah luka atau inflamasi.

Triamcinolone acetonide terbukti dapat menghambat ekspresi VEGF, proliferasi fibroblast, dan dapat menginduksi atrofi jaringan parut (Song *et al.*, 2018). Meskipun triamcinolone memiliki efek yang baik pada penyembuhan ulkus traumatik, triamcinolone memiliki efek samping berupa rasa terbakar, gatal, kemerahan pada daerah ulkus, kering, dan iritasi (Fani *et al.*, 2012; Purba, 2007; Helmy dan Munasir, 2007).

Kandungan gel ekstrak buah ciplukan yang memiliki efek antiinflamasi yakni lupeol, ursolic acid, β -sitosterol, campesterol, withaferin-A, dan emodin, efek antiinflamasinya bekerja dengan cara menghambat sitokin pro-inflamasi (TNF- α , IL-1, IL-6) (Beserra *et al.*, 2019; Brar dan Raghbir, 2017; Checker *et al.*, 2012; Cha *et al.*, 2011; Valerio dan Awad, 2011; Dong *et al.*, 2016; Shrimali *et al.*, 2013; Meng *et al.*, 2010). Kandungan buah ciplukan selain memiliki efek antiinflamasi juga terlibat dalam proses penyembuhan yang lain, seperti lupeol juga terlibat dalam peningkatan ekspresi seluler FGF-2 yang berperan penting dalam proses proliferasi migrasi sel fibroblas, proses angiogenesis dan perbaikan jaringan (Beserra *et al.*, 2019). *Ursolid acid* juga memiliki peran dalam meningkatkan *tensile strength* dari jaringan granulasi (Naika *et al.*, 2016). Beta-sitosterol (β -sitosterol) juga dapat meningkatkan angiogenesis (Saeidnia *et al.*, 2014).

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah terdapat perbedaan antara pemberian *Triamcinolone acetonide* dengan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap jumlah fibroblas, dan ekspresi seluler FGF-2 pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa tikus putih (*Rattus norvegicus*).

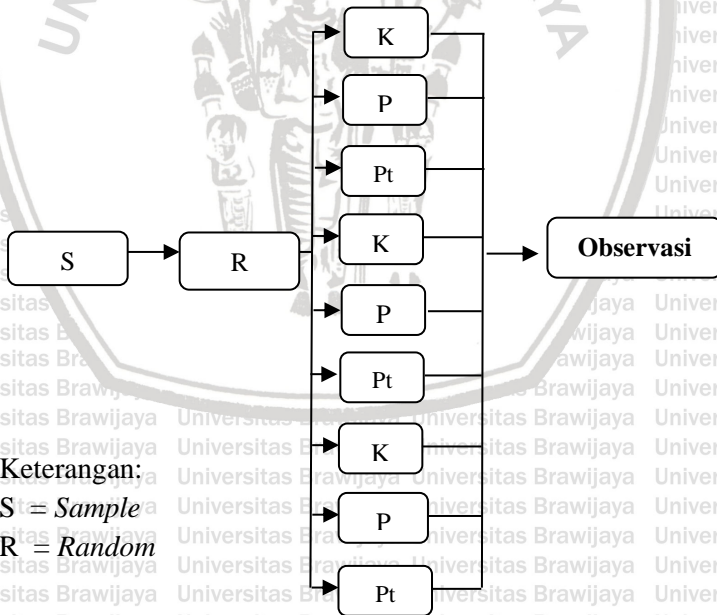
BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan dan Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental design*) di laboratorium secara *in vivo* menggunakan rancangan *Randomized Post Test Only Controlled Group Design* (Notoatmodjo, 2015). Penelitian dilakukan di *animal house* farmakologi, laboratorium farmasi, laboratorium biokimia, dan laboratorium patologi anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pada penelitian ini dibuat 9 kelompok dengan *three time series*

Gambar 4.1 Kerangka Desain Penelitian



K (2) : kelompok kontrol yang diberi basis gel tanpa ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) yang diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 2 hari pasca terjadinya ulkus kemudian dilakukan pembedahan.

P (2) : Kelompok Perlakuan yang diberi gel ekstrak ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) konsentrasi 1% yang diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 2 hari pasca terjadinya ulkus kemudian dilakukan pembedahan.

Pt (2) : Kelompok perlakuan yang diberi *Triamcinolone acetonide* yang diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 2 hari pasca terjadinya ulkus kemudian dilakukan pembedahan.

K (6) : kelompok kontrol yang diberi basis gel tanpa ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) yang diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 6 hari pasca terjadinya ulkus kemudian dilakukan pembedahan.

P (6) : Kelompok Perlakuan yang diberi gel ekstrak ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) konsentrasi 1% yang diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 6 hari pasca terjadinya ulkus kemudian dilakukan pembedahan.

Pt (6) : Kelompok perlakuan yang diberi *Triamcinolone acetonide* yang diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 6 hari pasca terjadinya ulkus kemudian dilakukan pembedahan.

K(12) : kelompok kontrol yang diberi basis gel tanpa ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) yang diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 12 hari pasca terjadinya ulkus kemudian dilakukan pembedahan.

P (12) : Kelompok Perlakuan yang diberi gel ekstrak ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) konsentrasi 1% yang diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 12 hari pasca terjadinya ulkus kemudian dilakukan pembedahan.

Pt (12) : Kelompok perlakuan yang diberi *Triamcinolone acetonide* yang diaplikasikan 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 12 hari pasca terjadinya ulkus kemudian dilakukan pembedahan.

4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan sebagai hewan percobaan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipelihara di *animal house* Farmako Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Tikus putih jantan digunakan sebagai hewan coba karena tidak mudah terkena infeksi, tidak mudah terganggu dengan kehadiran manusia, jarang berkelahi, dengan sesamanya, dan ukurannya lebih besar untuk percobaan (Setiawan, 2010).

4.2.1 Kriteria Sampel

Tikus putih dipilih sebagai sampel dalam penelitian ini karena memiliki beberapa kriteria menurut Oroh *et al.* (2015) sebagai berikut:

1. Kriteria Inklusi
 - a. Tikus putih galur wistar dengan kelamin jantan
 - b. Berumur 2-3 bulan
 - c. Mempunyai berat badan 200-250 gram
 - d. Sehat ditandai dengan bola mata jernih dan tidak kemerahan
 - e. Belum pernah digunakan untuk penelitian
2. Kriteria Eksklusi
 - a. Adanya luka pada tubuh tikus
 - b. Konsistensi feses cair akibat diare
 - c. Tikus dalam kondisi yang tidak sehat ditandai dengan aktivasi gerak tikus yang berkurang, bola mata kemerahan, hidung dan mulut berlendir, air liur terus menerus keluar
 - d. Tikus mati selama proses penelitian
 - e. Ulkus tidak terbentuk setelah 24 jam pasca induksi panas

4.2.2 Jumlah Sampel Penelitian

Sampel penelitian akan dilakukan pengulangan bagi setiap kelompok untuk mencegah terjadinya bias pada peneliti. Jumlah pengulangan penelitian menggunakan rumus Federer (Notoatmodjo, 2015):

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

Ket:

t = Jumlah Kelompok

n = Jumlah Pengulangan

Pada Penelitian ini nilai t = 9 sehingga jumlah pengulangan penelitian sebagai berikut:

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

$$(n-1)(9-1) \geq 15$$

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

$$n \geq 2.8$$

$$n \approx 3$$

Kesimpulannya jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah minimal 3 ekor tikus putih untuk tiap kelompok pada penelitian ini terdiri atas 9 kelompok perlakuan sehingga dibutuhkan 27 ekor tikus putih, untuk mencegah kehilangan sampel maka jumlah sampel ditambah menjadi 1 ekor tikus putih tiap kelompok, sehingga total tikus yang dibutuhkan dalam penelitian ini sejumlah 36 ekor tikus.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut:

Variabel bebas : *Triamcinolone acetonide*, gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) 1%.

Variabel terikat : Jumlah fibroblas, dan ekspresi seluler FGF-2.

Variabel terkendali : Berat badan hewan coba, umur hewan coba, jenis kelamin hewan coba, cara pemberian gel ekstrak buah ciplukan dan *Triamcinolone acetonide*, makanan dan minuman hewan coba, kebersihan kandang hewan coba.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan \pm 4-6 bulan dengan tempat penelitian sebagai berikut:

1. Pembuatan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan, serta Pengambilan jaringan luka dan pembuatan preparat pada hewan coba di *animal house* Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Pembuatan slide perparat serta Pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE) fibroblas di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
4. Pewarnaan Immunohistokimia (IHK) FGF-2 di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

5. Pengambilan dan analisa data dengan menghitung jumlah fibroblas, dan jumlah ekspresif FGF-2 dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Hewan Coba

Alat yang dibutuhkan adalah kandang tikus ukuran 43 cm x 31 cm x 12 cm, setiap kandang diisi 1 ekor tikus dan diberi sekam yang diganti 2 kali setiap minggu. Tutup kandang tikus dengan anyaman kawat dan botol air minum. Diet diberikan dalam bentuk pelet Brl sebanyak 40 gram pada setiap tikus. Pengukuran berat badan tikus menggunakan Neraca Analitik Digital dengan merk SF 400.

4.5.2 Alat dan Bahan Ekstraksi Buah Ciplukan

Alat yang digunakan untuk pembuatan gel buah ciplukan adalah timbangan digital, pipet tetes, gelas ukur, gelas beaker, mortar, stamfer, spatula, termometer, gelas arloji, *freeze dryer*, dan wadah untuk menyimpan gel. Alat yang dibutuhkan untuk uji gel adalah pH meter, glass lab, object glass, dan beban. Bahan yang dibutuhkan adalah ekstrak buah ciplukan, carbopol 940, Propylene Glikol, gliserin, metil paraben, propil paraben, EDTA, NaOH, dan aquadest.

4.5.3 Alat dan Bahan Pembuatan Gel

Alat yang digunakan untuk pembuatan gel buah ciplukan adalah timbangan digital, pipet tetes, gelas ukur, gelas beaker, mortar, stamfer, spatula, termometer, gelas arloji, *freeze dryer*, dan wadah untuk menyimpan gel. Alat yang dibutuhkan untuk uji gel adalah pH meter, glass lab, object glass, dan beban. Bahan yang dibutuhkan adalah ekstrak buah ciplukan, carbopol 940, Propylene Glikol, gliserin, metil paraben, propil paraben, EDTA, NaOH, dan aquadest.

4.5.4 Alat dan Bahan Perlakuan Hewan Coba

Alat yang dibutuhkan adalah *burnisher* kedokteran gigi, *sputit* 1 cc, spiritus, bunsen, korek api, pinset, *cotton bud*, gunting bedah, dan toples untuk fiksasi organ. Bahan yang dibutuhkan adalah masker, *handscoon*, *povidone iodine*, anestesi ketamine, formalin 10%, dan akohol 70%.

4.5.5 Alat dan Bahan Pembuatan Sediaan Histologi

Alat yang digunakan antara lain pisau *scalpel*, pinset, *microtome*, kaca obyek dan penutup, blok parafin, *water bath*, tempat pewarnaan dan cucian, kertas saring, kuas kecil. Bahan utama yang digunakan adalah buffer neutral formalin (BNF) 10%, alkohol absolut, alkohol (70%, 80%, 96%), alkohol asam 1%, *xylol*, parafin cair, larutan larutan hematoksilin dan eosin, litium karbonat, gel, alkohol 96%, masker, *handscoon*.

4.5.6 Alat dan Bahan Pewarnaan *Hematoxilin Eosin*

Alat yang digunakan antara lain adalah talenan, pisau scalpel, pinset, saringan, tissue casset, mesin processor otomatis, mesin vaccum, mesin bloking, *freezer* (-20 °C), mesin microtome, pisau microtome, *water bath* 46°C, kaca obyek, kaca penutup, rak khusus untuk pewarnaan, oven 60°C. Bahan utama berupa potongan jaringan yang telah difiksasi dengan Buffer Neutral Formalin (BNF) 10%. Larutan yang diperlukan adalah, ethanol absolute, *xylol*, parafin, glyserin 99,5%, ewit (albumin), larutan hematoksilin, lithium carbonat, larutan eosin, DPX.

4.5.7 Alat dan Bahan Pewarnaan Immunohistokimia

Blok parafin, *xylene*, etanol, *peroxidase blocking solution* *prediluted blocking serum*, antibodi monoknal (anti FGF-2) *phosphate buffer saline*, antibodi sekunder (*peroxidase*), peroksidase kromogen DAB (*Diaminobenzidine*), *hematoxylin*, air, *mounting*, *media*, *coverslip*.

4.6 Definisi Operasional

4.7.1 Ulkus Traumatik

Ulkus merupakan keadaan patofisiologis hilangnya jaringan epitelium hingga melebihi membran basalis dan mengenai lamina propria, yang disebabkan karena berbagai macam sebab baik trauma mekanik, elektrik, thermal, kimiawi, dan iatrogenik (Regezi *et al.*, 2016). Ulkus traumatik dibentuk dengan cara diinduksi panas, yaitu menggunakan *burnisher* kedokteran gigi kemudian luka dibiarkan selama 24 jam hingga terbentuk ulkus. Ulkus berupa cekungan berbentuk oval berdiameter ± 4 mm dan kedalaman ± 2 mm, dengan tepi eritematosus bagian tengahnya berwarna abu-abu kekuningan (Puspasari *et al.*, 2018; Sunarjo *et al.*, 2015; Langlais *et al.*, 2015).

4.7.2 Fibroblas

Fibroblas yang diamati merupakan fibroblas yang tampak sebagai sel fusiform atau gelendong dengan ujung meruncing, inti fibroblas tampak pucat dan terpulas gelap apabila tercat hematoksilin-eosin sehingga tampak berwarna biru keunguan (Kusumawardhani *et al.*, 2015). Pengamatan fibroblas menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX-21 dengan pembesaran 400 kali. Lapang pandang dipilih dengan metode zig-zag, yaitu lapisan dermis, dimulai pada lapisan papilar dari dermis kemudian turun menuju lapisan retikular dari dermis demikian seterusnya secara zig-zag (Islami *et al.*, 2018). Hasil perhitungan dari 5 lapang pandang tersebut disimpulkan dan diperoleh nilai rata-rata yang merupakan hasil perhitungan dari satu kelompok (Rifasanto *et al.*, 2018).

4.7.3 Fibroblast Growth Factor-2

Fibroblast growth factor 2 dapat diamati dengan pewarnaan imunohistokimia. Reaksi positif dari ekspresi FGF-2 akan memperlihatkan warna coklat didalam Sel makrofag, fibroblas, endotel yang disebabkan karena antigen (FGF-2) dengan *monoclonal* (anti FGF-2) (Puspasari *et al.*, 2018). Ekspresi seluler FGF-2 dapat

diamati dalam 5 lapang pandang pada daerah luka menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX-21 yang dilengkapi dengan kamera digital dengan perbesaran 400x, masing masing kelompok dihitung menggunakan *software imageJ* untuk mengetahui persentase ekspresi seluler FGF-2 (Beserra *et al.*, 2019; Rifasanto *et al.*, 2018).

4.7.4 Gel Ekstrak Buah Ciplukan

Buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang digunakan berasal dari penanaman dari pihak Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya. Buah ciplukan yang dipilih adalah buah yang matang dengan warna hijau kekuningan, buah dicuci hingga bersih, setelah itu ditiriskan di atas rak pengering, buah ciplukan yang telah kering diblender hingga halus kemudian disaring, ekstrak buah ciplukan dibentuk menjadi sediaan *freeze drying* hingga dihasilkan ekstrak kental. Sediaan tersebut kemudian dibuat menjadi gel menggunakan karbopol 940, propilen glikol, gliserol, metil paraben, propil paraben, EDTA, air, dan ekstrak buah ciplukan dengan konsentrasi 1% (Misal *et al.*, 2012).

4.7.5 Triamcinolone Acetonide

Triamcinolone acetonide adalah salah satu kortikosteroid topikal sering digunakan dalam perawatan ulkus dengan bentuk sediaan topikal dan konsentrasinya 0,1% (Gani *et al.*, 2015). *Triamcinolone acetonide* dianggap sebagai gel hidrofobik, sering disebut sebagai salep karena konsistensinya cair, berwarna putih kecoklatan, halus dan merata, dengan aroma karakteristik dan bebas dari pengotor visible atau gumpalan, dengan bentuk sediaan topikal (Labib dan Aldawsari, 2015).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Pemeliharaan Hewan Coba

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dipelihara dan diadaptasikan selama 1 minggu di *animal house* Farmakologi Universitas Brawijaya. Tempat pemeliharaan tikus menggunakan bak plastik bersih dengan ukuran 43 cm x 31 cm x 12 cm dengan tutup kandang yang terbuat dari anyaman kawat. Setiap kandang diisi dengan 1 ekor tikus. Hewan coba dipelihara di suhu ruangan dan ventilasi yang baik. Penggantian sekam dilakukan 2 kali dalam seminggu, diberikan air minum mineral, dan pemberian makanan pellet Br-1 sebanyak 40 gram setiap tikus (Juknis, 2017).

4.7.2 Ekstraksi Buah Ciplukan

Buah ciplukan yang dipilih adalah buah yang matang dengan warna hijau kekuningan, buah dicuci hingga bersih, setelah itu ditiriskan di atas rak pengering, buah ciplukan yang telah kering diblender hingga halus kemudian disaring, ekstrak buah ciplukan dibentuk menjadi sediaan *freeze drying* hingga dihasilkan ekstrak kental.

4.7.3 Pembuatan Gel Buah Ciplukan

Hasil ekstraksi buah ciplukan dalam bentuk *freeze drying* dibentuk menjadi sediaan gel di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Prosedur dilakukan berdasarkan dari penelitian Misal *et al.* (2012) :

- a. Alat dan bahan dipersiapkan, ditimbang sesuai jumlah yang ada di tabel formulasi

Tabel 4.1 Formulasi Gel Ekstrak Buah Ciplukan

NO.	BAHAN (%)	FORMULASI
1.	Ekstrak buah ciplukan	1%
2.	Carbopol 940	1
3.	Propylene Glikol	4
4.	Gliserin	3
5.	Metil Paraben	0,2
6.	Propil Paraben	0,02
7.	EDTA	0,03
8.	Aquadest	Up to 100

- b. Aquadest di rebus terlebih dahulu sampai mencapai 75°C
- c. Karbopol 940 dikembangkan dalam aquadest sebanyak 10 kali berat dari karbopol 940 di dalam lumping dan alu, didiamkan selama 10 menit lalu lakukan penggerusan hingga terbentuk dispersi yang homogen
- d. Setelah mengembang campurkan Propylene glikol dan gliserin aduk hingga homogen
- e. Tambahkan metil paraben, propil paraben, dan EDTA aduk kembali hingga homogen
- f. Campurkan sisa aquades sebagai pelarut terakhir lalu aduk hingga homogen
- g. Tambahkan ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) diaduk secara perlahan dan kontinu hingga sesuai dengan volume yang diinginkan dan membentuk gel yang homogen.

h. Lakukan penambahan NaOH (1M/0,4gr) yang telah dilarutkan sampai dengan 10ml dalam labu ukur, ditambahkan sedikit demi sedikit hingga pH yang diinginkan

i. Gel disimpan dalam wadah gel

j. Simpan gel didalam plastik klip sesuai kebutuhan untuk pemberian pada ulkus.

k. Evaluasi sediaan gel

a) Uji Organoleptik

Uji organoleptik merupakan pengujian yang didasarkan pada proses penginderaan. Bagian organ tubuh yang berperan dalam penginderaan adalah mata, telinga, indera pencicip, indera pembau, atau sentuhan (Negara *et al.*, 2016).

b) Uji Pemeriksaan pH

Pengukuran pH dilakukan dengan mencelupkan kertas pH meter ke dalam sediaan gel yang telah dibuat (Ningsi *et al.*, 2016). Pengukuran ini dilakukan untuk melihat apakah sediaan memiliki pH yang dapat diterima oleh kulit ataupun membran mukosa pada mulut, yaitu 5,5-7,9 (Rehan *et al.*, 2016).

c) Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan gel pada kaca objek transparan hingga membentuk lapisan tipis, kemudian diamati homogenitasnya. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar pada sediaan di atas kaca objek tersebut (Harahap *et al.*, 2018).

d) Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dengan cara sediaan sebanyak 1 gram diletakkan pada gelas objek dan ditutup dengan gelas objek

lainnya hingga menyatu, kemudian ditekan dengan beban seberat 1 kg selama 5 menit. Setelah itu, diamati waktu yang dibutuhkan beban tersebut memisahkan kedua gelas objek tersebut (Niyogi *et al.*, 2012).

e) Uji Daya Sebar

Pengukuran daya sebar bertujuan untuk melihat kemampuan sediaan gel menyebar pada permukaan kulit ataupun membran mukosa sehingga dapat mengetahui penyebaran zat aktif yang dikandung dalam gel di kulit ataupun membran mukosa (Niyogi *et al.*, 2012). Gel sebanyak 0,5 gram diletakkan di tengah kaca, ditutup dengan kaca lain yang telah ditimbang dan dibiarkan selama 1 menit, lalu diukur diameter sebar gel. Selanjutnya diberi penambahan beban setiap 1 menit sebesar 50 gram, 100 gram, 150 gram, 200 gram, dan 250 gram lalu diukur diameter sebar gel (Tambunan dan Sulaiman, 2018). Daya sebar 5-7 cm menunjukkan konsistensi semisolid yang sangat nyaman dalam penggunaan (Ningsi *et al.*, 2016).

f) Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui kekentalan dari gel. Penentuan viskositas dilakukan menggunakan viskosimeter seri VT 04. Gel dimasukkan ke dalam tabung pada viskotester, kemudian dipasang rotor nomor 2 hingga spindel terendam seluruhnya dalam gel. Alat dinyalakan dan diamati jarum penunjuk rotor nomor 2 pada skala viskositas hingga berhenti stabil. Angka yang ditunjukkan jarum penunjuk dalam satuan dPa.S (1 dPa.S = 1 poise) (Tambunan dan Sulaiman, 2018). Gel yang tidak terlalu cair maupun tidak terlalu kental merupakan ciri gel yang baik. Viskositas gel yang baik berada pada rentang 50 – 1000 dPa.s, dengan viskositas optimal 200 dPa.s (Nurahmanto *et al.*, 2017).

4.7.4 Triamcinolone Acetonide

Triamcinolone acetonide yang digunakan dalam penelitian ini adalah yang dijual dipasaran dan digunakan masyarakat pada umumnya, dengan merk dagang Kenalog in Orabase (Rudnik *et al.*, 2017).

4.7.5 Induksi Ulkus Traumatik

Pembuatan ulkus traumatik yang didahului dengan anestesi menggunakan ketamine 0,2 ml intramuscular, kemudian diinduksi dengan ujung *burnisher* kedokteran gigi dengan diameter 4mm yang sebelumnya telah dipanaskan dengan bunsen selama 60 detik dan ditempelkan pada mukosa labial rahang bawah tanpa tekanan selama 1 detik sehingga terbentuk ulkus berupa cekungan berbentuk oval berdiameter ± 4 mm dan kedalaman ± 2 mm, setelah 24 jam pasca induksi panas (Puspasari *et al.*, 2018; Sunarjo *et al.*, 2015; Langlais *et al.*, 2015).

4.7.6 Pemberian Gel Ekstrak Buah Ciplukan pada Hewan Coba

Pemberian gel ekstrak buah ciplukan dilakukan 24 jam setelah induksi panas (ulkus telah terbentuk) dengan frekuensi 2 kali sehari (pagi dan sore) dilakukan setiap hari hingga hari ke-12, pada kelompok perlakuan P diberikan gel ekstrak buah ciplukan 1% dan pada kelompok perlakuan Pt diberikan *Triamcinolone acetonide*, sedangkan kelompok K diberikan basis gel tanpa ekstrak buah ciplukan (Kurniawan dan Kamalia, 2017).

4.7.7 Pengambilan Sampel Jaringan

Pada hari ke-2, ke-6, dan ke-12, hewan coba *diethanasia* dengan metode pemutaran leher (*cervical dislocation*), hewan coba yang akan dimatikan harus dalam keadaan yang telah dianestesi dan tidak boleh dilakukan pada hewan dalam keadaan sadar, metode ini dilakukan dengan ibu jari dan jari telunjuk diletakkan dikedua sisi leher pada pangkal tengkorak, dengan tangan lain memegang ujung

ekor atau memegang punggung tikus lalu dengan cepat ditarik sehingga menyebabkan pemisahan sumsum tulang belakang dari tengkorak (AVMA, 2013). Setelah sumsum tulang belakang terpisah dari otak, reflek kedip akan menghilang, rangasangan rasa sakit menghilang sehingga hewan tidak peka dengan rasa sakit (Franson, 2019). Kematian hewan coba disebabkan karena iskemia serebral, dan kerusakan batang otak, serta kerusakan pada sumsum tulang belakang (Woolcott *et al.*, 2018). Keuntungan dari metode ini adalah mempercepat hilangnya kesadaran pada hewan coba dan secara kimia tidak merusak jaringan hewan coba, kemudian dilakukan pengambilan jaringan ulkus pada mukosa labial bawah tikus dibuat eksisi biopsi dengan ketebalan $\pm 2-3$ mm, jaringan difiksasi dengan cara direndam dalam larutan formalin 10% minimal selama 7 jam sebelum dilakukan proses pengerjaan berikutnya. Sisa organ tikus yang sudah tidak digunakan dikubur dengan layak didalam tanah dengan bantuan tenaga ahli laboratorium (AVMA, 2013).

4.7.8 Pembuatan Preparat

Sampel jaringan ulkus yang telah difiksasi menggunakan formalin kemudian dicuci menggunakan air mengalir selama 15 menit. Kemudian melakukan pemotongan ukuran dengan ukuran 2 cm x 1 cm x 3 mm. Kemudian dicuci dengan air selama 15 menit dan dilakukan dehidrasi dengan menggunakan acetone sebanyak 1 jam x 4. Kemudian melakukan *clearing*, dengan menggunakan xylol sebanyak 30 menit x 4, kemudian dilakukan impregnasi dengan menggunakan parafin cair dengan suhu 55°C blok parafin (*embedding*) lalu dilakukan pendinginan selama 24 jam. Setelah itu, sediaan disayat dengan menggunakan *mikrotom rotary* dengan ketebalan 3-5 mikron kemudian sayatan diletakkan pada *water bath* dengan suhu 30°C. Kemudian mengambil sayatan dan meletakkannya pada *object glass*, didiamkan selama 24 jam, selanjutnya dilakukan pewarnaan Hematoxilin-Eosin (HE) dan Immunohistokimia (IHK) (Dey, 2018).

4.7.9 Tahap Pewarnaan Hematoxilin Eosin

Pewarnaan hematoxilin eosin (HE) digunakan untuk mewarnai preparat jaringan. Hematoxilin bekerja sebagai pewarna basa, artinya zat ini mewarnai unsur basofilik jaringan, hematoxilin memulas inti dan struktur asam lainnya dari sel (seperti bagian sitoplasma yang kaya RNA dan matriks tulang rawan) menjadi biru, Hematoxilin akan mewarnai nukleus sedangkan eosin akan mewarnai sitoplasma dan kolagen menjadi warna merah mudah. Eosin bersifat asam. Eosin akan memulas komponen asidofilik jaringan seperti mitokondria, granula sekretoris dan kolagen (Eroschenko, 2010).

Prosedur pewarnaan hematoxilin eosin (HE) yang dilakukan pada penelitian ini sebagai berikut (Fuadi *et al.*, 2015). :

1. *Object glass* dimasukan kedalam larutan harris hematoxilin selama 10-15 menit, lalu dibilas dengan air yang mengalir selama 15 menit, dimasukan kedalam alkohol asam 1%, 2-3 celup, dimasukan kedalam cairan eosin selama 10-15 menit.
2. Alkohol bertingkat, *object glass* dimasukan kedalam alkohol dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi untuk menghilangkan kelebihan car yaitu alkohol 70% selama 3 menit, alkohol 80% selama 3 menit, alkohol 96% selama 3 menit dan terakhir dimasukan kedalam alkohol absolut selama 3 menit.
3. Tahap penjernihan (*Clearing*), *object glass* dimasukan kedalam larutan *xylol* selama 15 menit sebanyak 2 kali untuk penjernihan.
4. Mounting dengan entelan dan *deckglass*, *object glass* ditutup dengan *coverglass* dan dibiarkan slide kering pada suhu ruangan, setelah slide kering sip untuk di amati.

4.7.10 Tahap Pewarnaan Immunohistokimia

Metode pewarnaan imunohistokimia yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu, metode *indirect* (tidak langsung). Metode ini merupakan pewarnaan imunohistokimia yang menggunakan antibodi primer (tidak berlabel) dan antibodi sekunder (berlabel). Antibodi primer berfungsi untuk mengenali antigen yang mengidentifikasi jaringan. Antibodi sekunder berfungsi untuk berikatan dengan antibodi primer dan memberikan warna cokelat untuk ekspresi FGF-2 karena berikatan dengan senyawa pemberi warna (kromogen) (Puspasari *et al.*, 2018).

Prosedur pewarnaan imunohistokimia tidak langsung yang dilakukan pada penelitian ini sebagai berikut (Kabiraj *et al.*, 2015) :

1. Deparafinasi preparat (blok parafin), slide direndam secara berurutan dengan larutan *xylol* (2 x 20 menit), *etanol absolut* (20 menit), *etanol 90%* (20 menit), *etanol 80%* (20menit), dan *etanol 70%* (20menit).
2. Cuci slide dengan *Phospo Buffer Saline* (PBS) (3 x 5 menit).
3. Melakukan *blocking peroksidase* dengan cara slide ditetesi 3% H₂O₂ (dalam methanol) inkubasi 20 menit pada suhu ruang, lalu dicuci dengan PBS (3 x 5 menit).
4. Melakukan *blocking unspecific protein* (*Background Sniper*), inkubasi 60 menit pada suhu ruang, lalu dicuci dengan PBS (3 x 5 menit).
5. Inkubasi antibodi primer (*rat anti FGF-2*), slide ditetesi antibodi primer yang dilarutkan dalam *blocking buffer* didiamkan selama 60 menit pada suhu ruangan, kemudian dicuci dengan PBS (3 x 5 menit).

6. Inkubasi antibodi sekunder, slide ditetesi antibodi sekunder (*Biotin Conjugate*), inkubasi selama 60 menit pada suhu ruang, kemudian dicuci dengan PBS (3 x 5 menit).
7. Inkubasi *Streptavidin Horseradish Peroxidase* (SA-HRP), slide ditetesi SA-HRP lalu diinkubasi selama 40 menit pada suhu ruang, kemudian dicuci dengan PBS (3 x 5 menit), dibilas dengan aquades.
8. Aplikasikan *Chromagen Diarninobenzidine* (DAB), slide ditetaskan DAB (DAB *crhomogen* : DAB *buffer* = 1:40), diinkubasi 20-30 menit pada suhu ruang, kemudian dicuci dengan aquades (3 x 5 menit).
9. Counterstain dengan *Mayer's Hematoxilen* dengan cara slide ditetesi *Mayer's Hematoxilen* (*Mayer's Hematoxilen* : aquades = 1:3), diinkubasi selama 1-10 menit pada suhu ruang, kemudian dicuci dengan aquades (3 x 5 menit).
10. Membersihkan preparat dan ditetesi *mounting media*.
11. Menutup preparat dengan *coverslip*.
12. Preparat dikeringkan selama 24 jam agar lem *entelan* tidak merusak pandangan *coverslip*.

4.7.11 Pengamatan Sediaan

4.7.11.1 Fibroblas

Fibroblas biasanya tersebar sepanjang serat kolagen dan tampak sebagai sel fusiform atau gelendong dengan ujung meruncing, Inti fibroblas tampak pucat dan terpulas gelap apabila tercat hematoxilin sehingga berwarna biru keunguan (Kusmawardhani *et al.*, 2015). Pengamatan fibroblas menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX-21 dengan pembesaran 400 kali. Lapang pandang dipilih dengan metode zig-zag, yaitu pada lapisan dermis, dimulai pada lapisan

papilar dari dermis kemudian turun menuju lapisan retikular dari dermis demikian seterusnya secara zig-zag (Islami *et al.*, 2018). Peneliti menggunakan sistem *double-blind* dan pengamatan dilakukan minimal oleh 2 orang, setelah diamati didapatkan hasil perhitungan dari 5 lapang pandang tersebut disimpulkan dan diperoleh nilai rata-rata yang merupakan hasil perhitungan dari satu kelompok (Susetiyo, 2017; Rifasanto *et al.*, 2018).

4.7.11.2 Fibroblast Growth Factor-2

Reaksi positif dari ekspresi FGF-2 akan memperlihatkan warna coklat didalam sel makrofag, fibroblas, endotel yang disebabkan karena antigen (FGF-2) dengan monoclonal (anti FGF-2) (Puspasari *et al.*, 2018). Ekspresi seluler FGF-2 dapat diamati dalam 5 lapang pandang pada daerah luka menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX-21 yang dilengkapi dengan kamera OPTILAB dengan perbesaran 400x dengan metode zig-zag untuk memperhatikan seluruh lapang pandang dalam satu preparat. Peneliti menggunakan sistem *double-blind* dan pengamatan dilakukan minimal oleh 2 orang, masing masing kelompok dihitung menggunakan *software imageJ* untuk mengetahui persentase ekspresi seluler FGF-2. (Beserra *et al.*, 2019; Paramita *et al.*, 2019; Susetiyo, 2017; Islami *et al.*, 2018).

4.8 Analisis Data

Hasil perhitungan jumlah fibroblas, dan ekspresi seluler dari *fibroblast growth factor-2* (FGF-2). Kelompok kontrol, kelompok perlakuan dengan pemberian gel ekstrak buah ciplukan dan kelompok perlakuan dengan pemberian *Triamcinolone acetonide* dianalisis secara statistik dengan menggunakan aplikasi analisis statistik dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p=0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Beberapa uji yang dilakukan adalah sebagai berikut :

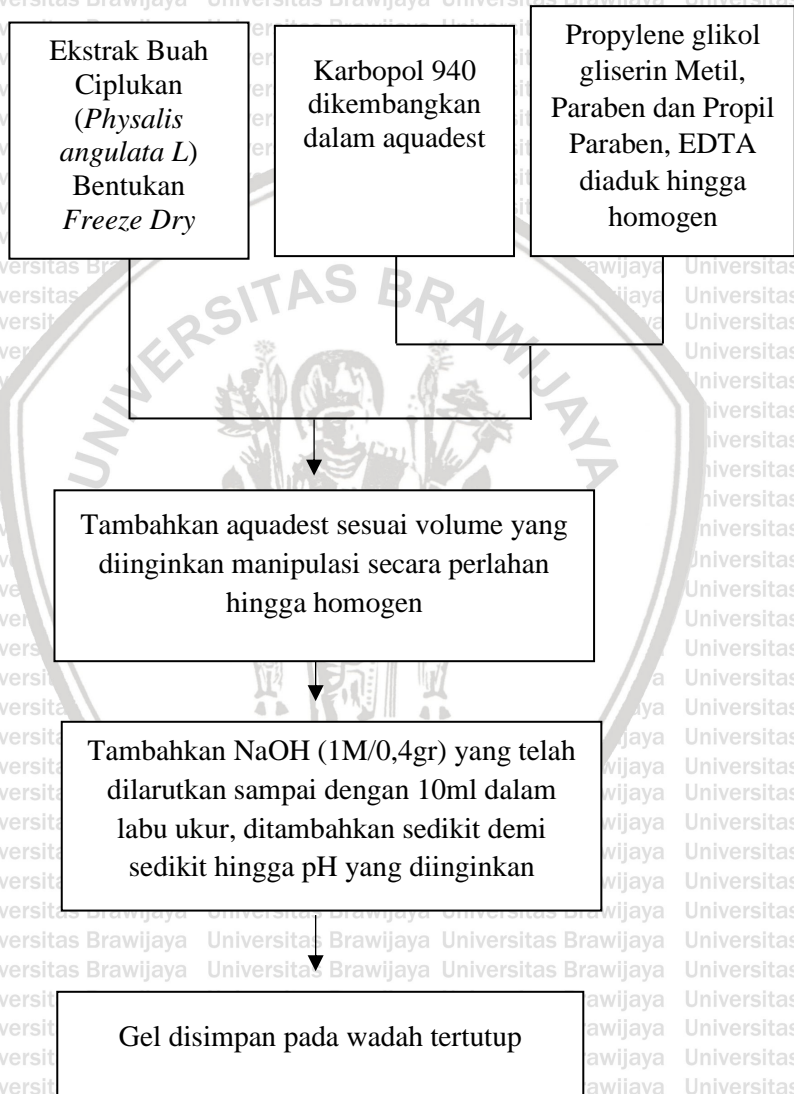
1. Uji normalitas data bertujuan untuk menginterpretasikan apakah suatu data terdistribusi normal atau tidak. Apabila penyajian data terdistribusi normal, maka dapat digunakan

mean dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran, uji hipotesis dapat menggunakan uji parametrik. Apabila penyajian data tidak terdistribusi normal, maka median dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran, uji hipotesis dapat menggunakan uji non-parametrik. Uji normalitas dilakukan dengan ujin *Shapiro-Wilk* karena besar sampel yang digunakan ≤ 50 .

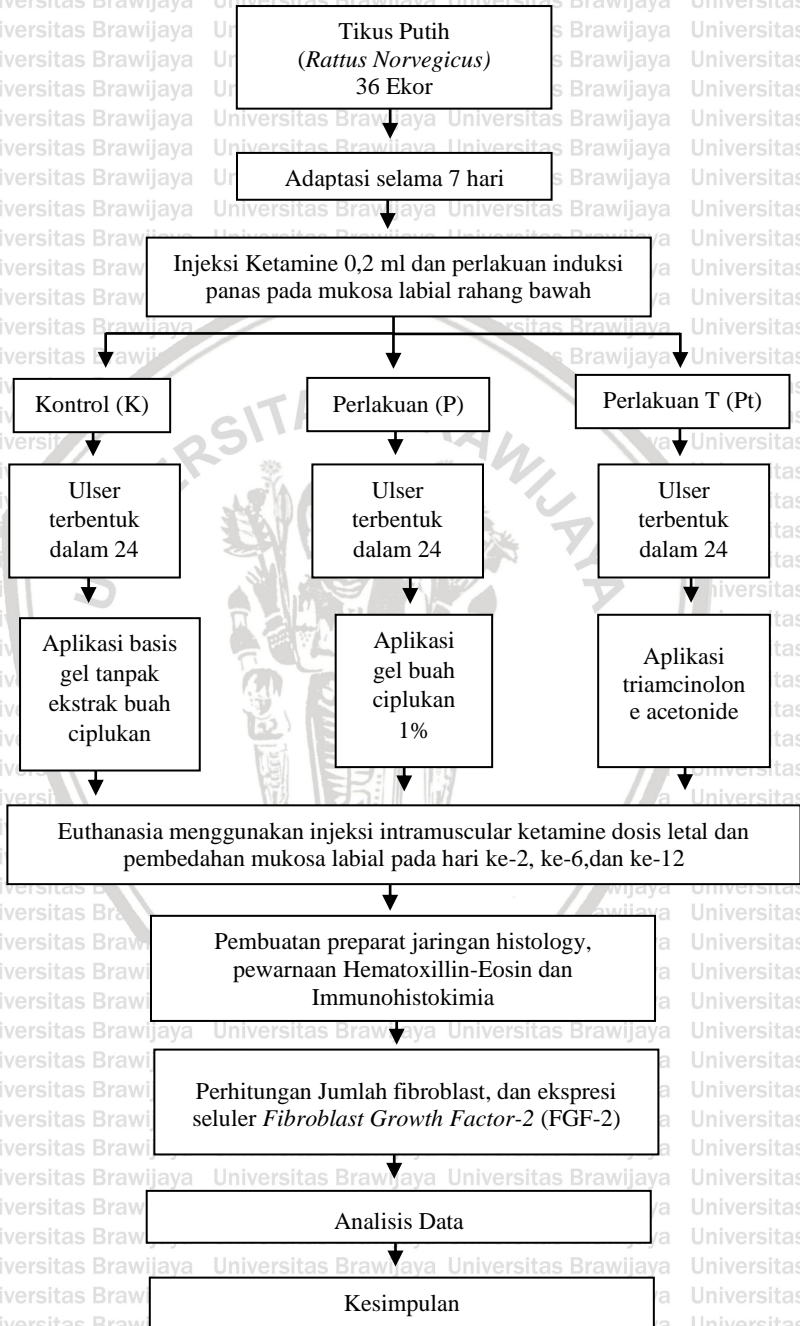
2. Uji homogenitas untuk melihat apakah data yang didapatkan dari setiap perlakuan merupakan data yang homogen. Apabila data yang didapatkan merupakan data yang homogen. Uji homogenitas dengan menggunakan *Lavene's test*.
3. Uji *independent T-test* bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata hubungan jumlah fibroblas dengan ekspresi seluler *fibroblast growth factor-2*, antara kelompok kontrol, kelompok perlakuan physalis, dan kelompok perlakuan *triamcinolone*.
4. Uji Korelasi Regresi bertujuan untuk mengetahui arah hubungan dengan melihat nilai koefisien regresi dan nilai R (korelasi pearson) digunakan untuk mengetahui kekuatan hubungan antara waktu dan respon serta hubungan jumlah fibroblas dengan ekspresi FGF-2 pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan physalis, kelompok *triamcinolone*, hari ke-2, ke-6, ke-12.

4.9 Skema Prosedur Penelitian

4.9.1 Uji Efektifitas Gel Ekstrak Buah Ciplukan



4.9.2 Skema Prosedur Penelitian



BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Gel ekstrak buah ciplukan yang telah dibuat dilakukan beberapa uji sediaan gel seperti uji organoleptik, uji pH, uji homogenitas, uji daya lekat, uji daya sebar, uji viskositas, dengan hasil diantaranya sebagai berikut :

Tabel 5.1 Uji Evaluasi Gel

Evaluasi Fisik	Gel	
	Basis Gel (Tanpa Ekstrak Buah Ciplukan)	Ekstrak Buah Ciplukan 1%
Organoleptis		
a. Tekstur	Halus Mengkilap, licin	Halus Mengkilap, Licin
b. Bau	Tidak Berbau	Khas
c. Warna	Bening Transparant	Kuning kecokelatan
Ph	6	6
Homogenitas	Homogen	Homogen
Daya lekat	Kuat	Kuat
Daya sebar	5,3 cm	5,3 cm
Viskositas	140 dPa.s	110 dPa.s

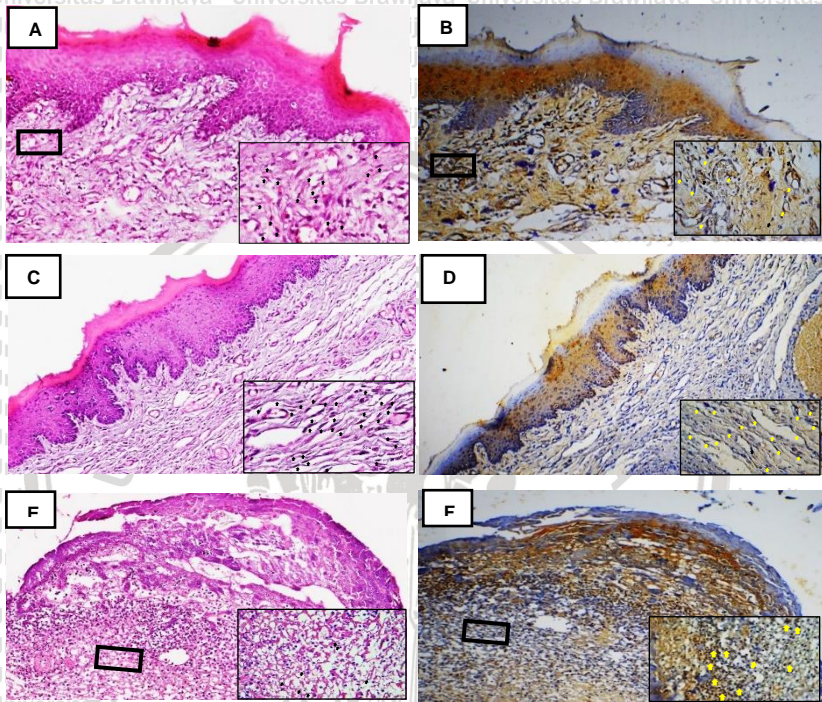
Sediaan gel dipilih karena mudah mengering, dan memberikan rasa dingin ketika dioleskan (Sayuti, 2015). Uji pH sediaan gel didapatkan hasil bahwa sediaan basis gel dan sediaan gel ekstrak buah ciplukan 1% memiliki pH 6 sehingga memenuhi kriteria pH yang dapat diterima oleh kulit ataupun membran mukosa pada mulut, yaitu 5,5-7,9 (Rehan *et al.*, 2016). Uji Homogenitas didapatkan semua



sediaan gel homogen menunjukkan formula yang baik, hal ini memenuhi syarat homogenitas yaitu tidak kasar saat diraba (Asmi *et al.*, 2013). Uji daya lekat didapatkan hasil daya lekat yang kuat menunjukkan sediaan gel tersebut memiliki kemampuan melekat pada lapisan epidermis dengan baik, semakin besar kemampuan gel melekat maka akan semakin baik penghantaran obatnya (Bahtiar, 2016). Uji daya sebar didapatkan hasil 5,3 cm menunjukkan konsistensi semisolid yang sangat nyaman dalam penggunaan dengan rentang nilai daya sebar adalah 5-7 cm (Ningsi *et al.*, 2016). Uji viskositas pada sediaan basis gel memiliki nilai 140 dPa.s sedangkan sediaan gel ekstrak buah ciplukan 1% memiliki nilai 110 dPa.s menunjukkan bahan sediaan gel tercampur rata dan sediaan tidak terlalu cair maupun tidak terlalu kental, viskositas gel yang baik berada pada rentang 50 – 1000 dPa.s, dengan viskositas optimal 200 dPa.s (Nurahmanto *et al.*, 2017).

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan sebanyak 27 ekor tikus yang terbagi menjadi 9 kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan yang diberi gel ekstrak buah ciplukan 1%, dan kelompok perlakuan yang diberi *triamcinolone acetonide*, berdasarkan *time series* pada hari ke-2, ke-6, dan ke-7.

Gambar 5.1 Gambar Fibroblas dengan Pewarnaan HE (→), dan gambar ekspresi seluler FGF-2 dengan Pewarnaan Imunohistokimia (→) Hari Ke-2 pada Perbesaran 100x dan 400x.



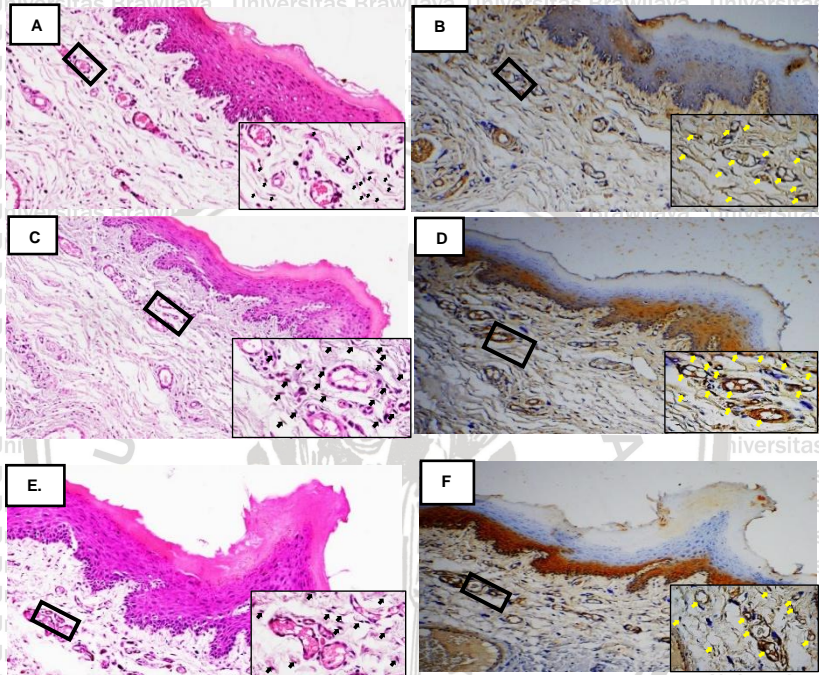
Keterangan: Tanda panah hitam (→) pada inset menunjukkan sel fibroblas, dan Tanda panah kuning (→) menunjukkan ekspresi seluler FGF-2.

- A. Sel fibroblas dengan pewarnaan HE pada kelompok kontrol (K-2)
- B. Ekspresi seluler FGF-2 dengan pewarnaan IHC pada kelompok kontrol (K-2)
- C. Sel fibroblas dengan pewarnaan HE pada kelompok perlakuan gel ekstrak buah ciplukan 1% (P-2)
- D. Ekspresi seluler FGF-2 dengan pewarnaan IHC pada kelompok perlakuan gel ekstrak buah ciplukan 1% (P-2)
- E. Sel fibroblas dengan pewarnaan HE pada kelompok perlakuan triamcinolone acetonide (Pt-2)
- F. Ekspresi seluler FGF-2 dengan pewarnaan IHC pada kelompok perlakuan triamcinolone acetonide (Pt-2)

Berdasarkan gambar 5.1 pada hari ke-2 tampak gambaran jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 yang lebih banyak pada kelompok perlakuan gel ekstrak buah ciplukan 1% dibandingkan

dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan *triamcinolone acetonide* yang memiliki jumlah fibroblas lebih sedikit.

Gambar 5.2 Gambar Fibroblas dengan Pewarnaan HE (→), dan gambar ekspresi seluler FGF-2 dengan Pewarnaan Imunohistokimia (→) Hari Ke-6 pada Perbesaran 100x dan 400x.



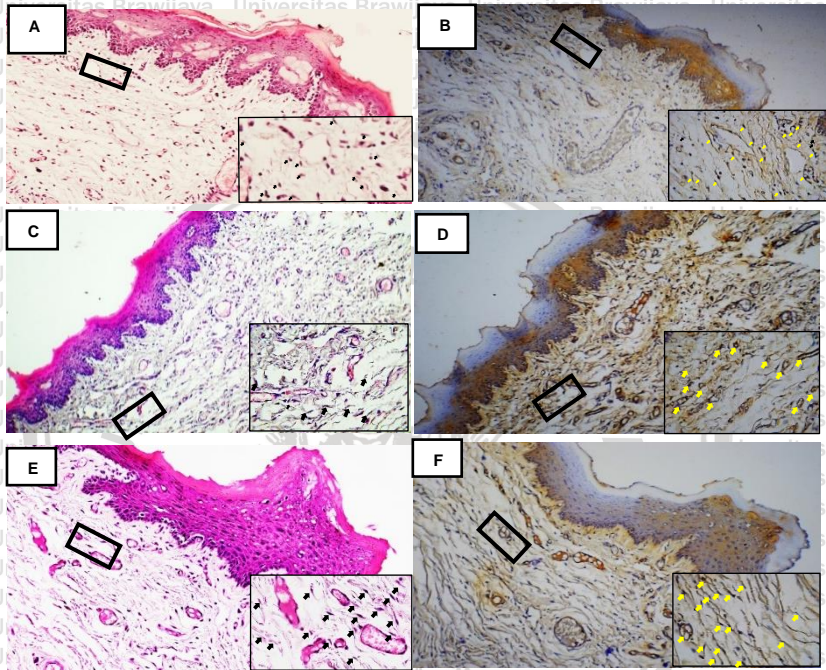
Keterangan: Tanda panah hitam (→) pada inset menunjukkan sel fibroblas, dan Tanda panah kuning (→) menunjukkan ekspresi seluler FGF-2.

- A. Sel fibroblas dengan pewarnaan HE pada kelompok kontrol (K-6)
- B. Ekspresi seluler FGF-2 dengan pewarnaan IHC pada kelompok kontrol (K-6)
- C. Sel fibroblas dengan pewarnaan HE pada kelompok perlakuan gel ekstrak buah ciplukan 1% (P-6)
- D. Ekspresi seluler FGF-2 dengan pewarnaan IHC pada kelompok perlakuan gel ekstrak buah ciplukan 1% (P-6)
- E. Sel fibroblas dengan pewarnaan HE pada kelompok perlakuan *triamcinolone acetonide* (Pt-6)
- F. Ekspresi seluler FGF-2 dengan pewarnaan IHC pada kelompok perlakuan *triamcinolone acetonide* (Pt-6)

Berdasarkan gambar 5.2 pada hari ke-6 tampak gambaran jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 yang lebih banyak pada kelompok perlakuan gel ekstrak buah ciplukan 1% dibandingkan

dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan *triamcinolone acetonide* yang memiliki jumlah fibroblas lebih sedikit.

Gambar 5.3 Gambar Fibroblas dengan Pewarnaan HE (→), dan gambar ekspresi seluler FGF-2 dengan Pewarnaan Imunohistokimia (↔) Hari Ke-12 pada Perbesaran 100x dan 400x



Keterangan: Tanda panah hitam (→) pada inset menunjukkan sel fibroblas, dan Tanda panah kuning (↔) menunjukkan ekspresi seluler FGF-2.

- A. Sel fibroblas dengan pewarnaan HE pada kelompok kontrol (K-12)
- B. Ekspresi seluler FGF-2 dengan pewarnaan IHC pada kelompok kontrol (K-12)
- C. Sel fibroblas dengan pewarnaan HE pada kelompok perlakuan gel ekstrak buah ciplukan 1% (P-12)
- D. Ekspresi seluler FGF-2 dengan pewarnaan IHC pada kelompok perlakuan gel ekstrak buah ciplukan 1% (P-12)
- E. Sel fibroblas dengan pewarnaan HE pada kelompok perlakuan triamcinolone acetonide (Pt-12)
- F. Ekspresi seluler FGF-2 dengan pewarnaan IHC pada kelompok perlakuan triamcinolone acetonide (Pt-12)

Berdasarkan gambar 5.3 pada hari ke-12 tampak gambaran jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 yang lebih banyak pada kelompok perlakuan gel ekstrak buah ciplukan 1% dibandingkan

dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan *triamcinolone acetonide* yang memiliki jumlah fibroblas lebih sedikit.

Dari hasil perhitungan jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2, selain didapatkan rata-rata didapatkan juga standar deviasi untuk setiap kelompok yang tertera dalam tabel 5.2

Tabel 5.2 Hasil Perhitungan Rata-Rata dan Standar Deviasi Jumlah Fibroblas dan Ekspresi Seluler FGF-2 hari ke-2, ke-6, dan ke-12 pada kelompok K,P,Pt

Fibroblas			
Day	Kelompok	Mean	Std. Deviasi
2	Kontrol (K)	27,6	0,60
	Physalis (P)	38,3	0,57
	Triamcinolone (Pt)	26,6	0,57
6	Kontrol (K)	34,8	0,57
	Physalis (P)	48,1	8,71
	Triamcinolone (Pt)	28,8	2,08
12	Kontrol (K)	22,2	4,35
	Physalis (P)	18,6	0,57
	Triamcinolone (Pt)	22,8	2,64
FGF-2			
Day	Kelompok	Mean	Std. Deviasi
2	Kontrol (K)	9,7	0,35
	Physalis (P)	12,7	1,96
	Triamcinolone (Pt)	8,2	0,72
6	Kontrol (K)	9,8	0,04
	Physalis (P)	15,2	0,85
	Triamcinolone (Pt)	9,6	0,85
12	Kontrol (K)	7,9	0,51
	Physalis (P)	5,7	0,91
	Triamcinolone (T)	8,8	0,43

Berdasarkan gambar diagram di atas, kelompok kontrol menunjukkan jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 lebih rendah dari kelompok perlakuan gel ekstrak buah ciplukan pada hari ke-2, dan ke-6, dan pada hari ke-12 lebih rendah dari kelompok *triamcinolone*. Kelompok perlakuan menggunakan gel ekstrak buah ciplukan 1% menunjukkan jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 paling tinggi pada hari ke-2 dan ke-6, dan paling rendah pada hari ke-



12. Kelompok perlakuan *triamcinolone* menunjukkan jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 paling rendah pada hari ke-2 dan ke-6, dan paling tinggi pada hari ke-12.

5.2 Analisis Data

Data hasil penelitian berupa data perhitungan jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 dianalisa secara statistika menggunakan program IBM *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) 22.0 untuk *Windows* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Langkah analisis statistik yang pertama, uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui sebaran data masing-masing kelompok tersebut homogen atau tidak dengan menggunakan *Levene's test*, bila data berdistribusi normal ($p > 0,05$) dan bersifat homogen ($p > 0,05$) dilakukan uji *independent T-test*, dilanjutkan dengan uji korelasi person dan regresi.

5.2.1 Uji Normalitas

Uji normalitas data digunakan mengetahui data penelitian ini berdistribusi normal atau tidak. Pengujian normalitas data dilakukan dengan uji *Shapiro-Wilk* karena besar sampel ≤ 50 . Uji normalitas terpenuhi bila nilai signifikansi perhitungan $p > 0,05$. Berdasarkan uji normalitas data, didapatkan hasil signifikansi perhitungan rata-rata jumlah fibroblas 0,139, dan pada kelompok FGF-2 adalah 0,393. Sehingga dapat disimpulkan bahwa data setiap kelompok berdistribusi normal sehingga uji normalitas terpenuhi. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas data.

5.2.2 Uji Homogenitas Data

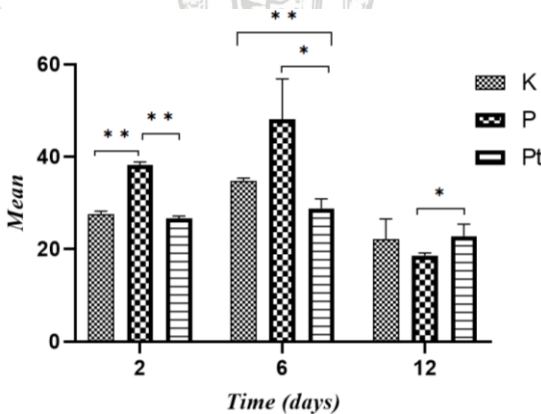
Uji homogenitas data dilakukan dengan uji *Levene's test*. Uji homogenitas bertujuan untuk menguji data penelitian mempunyai variasi yang sama (homogen). Data dinyatakan homogen apabila nilai signifikansi yang diperoleh lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$), sedangkan

apabila data tidak homogen ($p < 0,05$) uji beda pada *independent t-test* menggunakan nilai *equal variances not assumed*. Hasil uji homogenitas (Lampiran 11) didapatkan nilai signifikansi pada semua kelompok kecuali pada kelompok K-6 dengan P-6, dan K-12 dengan P-12 didapatkan nilai ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa data tersebut tidak homogen.

5.2.3 Uji T-test

Uji T digunakan untuk mengetahui perbedaan rata-rata dua kelompok data yang tidak berpasangan dengan syarat hasil uji statistik parametrik yaitu data normal dan homogen. Pada uji ini, suatu data dikatakan berbeda secara bermakna apabila nilai signifikansi $p < 0,05$ pada interval kepercayaan 95%. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan nilai rata-rata jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 antara kelompok kontrol, kelompok perlakuan pemberian gel ekstrak buah ciplukan 1%, dan kelompok perlakuan pemberian *triamcinolone acetonide* pada hari ke-2, ke-6, ke-12, hasil uji *independent sample t-test* sebagai berikut:

Gambar 5.4 Diagram Hasil Uji *independent T-test* Jumlah Rata-Rata Fibroblas



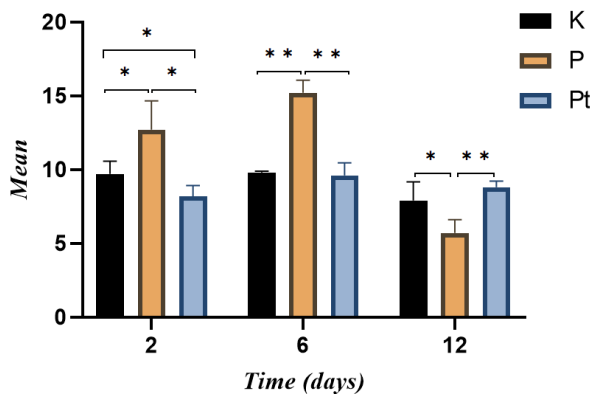
Keterangan:

- A. **Sig. (2-tailed) : $p < 0,01$ (Sangat Signifikan)
- B. *Sig. (2-tailed) : $p < 0,05$ (Signifikan)



Berdasarkan gambar (5.4) diatas, pada hari ke-2 didapatkan perbedaan yang sangat signifikan jumlah rata-rata fibroblas antara kelompok kontrol dengan kelompok *physalis* dan pada kelompok *physalis* dengan kelompok *triamcinolone*, sedangkan pada kelompok kontrol dengan kelompok *triamcinolone* tidak didapatkan perbedaan yang signifikan. Pada hari ke-6 didapatkan perbedaan yang signifikan jumlah rata-rata fibroblas pada kelompok *physalis* dengan kelompok *triamcinolone* dan pada kelompok kontrol dengan kelompok *triamcinolone*, sedangkan pada kelompok kontrol dengan kelompok *physalis* tidak didapatkan perbedaan yang signifikan. Pada hari ke-12 hanya pada kelompok *physalis* dan kelompok *triamcinolone* yang didapatkan perbedaan yang signifikan.

Gambar 5.5 Diagram Hasil Uji *independent T-test* Jumlah Rata-Rata FGF-2



Keterangan:

- A. **Sig. (2-tailed) : $p < 0,01$ (Sangat Signifikan)
- B. *Sig. (2-tailed) : $p < 0,05$ (Signifikan)

Berdasarkan gambar (5.5) FGF-2 pada masing-masing kelompok perlakuan. Pada hari ke-6 didapatkan perbedaan yang sangat signifikan jumlah rata-rata FGF-2 antara kelompok kontrol dengan kelompok *physalis*, dan pada kelompok *physalis* dengan kelompok *triamcinolone*, sedangkan pada kelompok kontrol

dengan kelompok *triamcinolone* tidak didapatkan perbedaan yang signifikan. Pada hari ke-12 didapatkan perbedaan yang sangat signifikan pada kelompok physalis dengan kelompok *triamcinolone*, dan ditemukan perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok physalis, sedangkan pada kelompok kontrol dengan kelompok *triamcinolone* tidak didapatkan perbedaan yang signifikan.

5.2.4 Uji Korelasi Pearson dan Uji Regresi Linear

Uji regresi linear dilakukan untuk mengetahui arah hubungan dengan melihat nilai koefisien regresi dan nilai korelasi pearson digunakan untuk mengetahui kekuatan hubungan antara waktu dan respon serta hubungan jumlah fibroblas dengan ekspresi FGF-2 pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan physalis, kelompok *triamcinolone*, hari ke-2, ke-6, ke-12. Suatu data dikatakan berhubungan secara bermakna apabila nilai signifikansi ($p < 0,05$). Koefisien regresi bernilai positif berarti hubungan yang didapatkan searah sedangkan bernilai negatif berarti hubungan tersebut berbanding terbalik, nilainya berkisar antara -1 sampai dengan +1, dan interpretasi nilai R adalah 0,80-1,000 (sangat kuat); 0,60-0,799 (kuat); 0,40-0,599 (cukup kuat); 0,20-0,399 (rendah); 0,00-0,199 (sangat rendah) (Bertan, 2016; Astuti, 2017).

Hasil uji korelasi pearson dan regresi pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

Tabel 5.3 Hasil Uji Korelasi Pearson dan Uji Regresi Hubungan Waktu dan Respon Jumlah Fibroblas

Kelompok	Korelasi Pearson (R)	Koefisien regresi
K	0,502	-0,682
P	0,704*	-2,232
Pt	0,595	-0,412

Keterangan:

**correlation significant* : $p < 0,05$ (Signifikan)



Berdasarkan tabel diatas (**Tabel 5.3**) dapat disimpulkan pada kelompok K didapatkan hubungan dengan arah koefisien regresi negatif (-0,682) yang cukup kuat ($R=0,502$) menunjukkan bahwa setiap penambahan 1 hari pemberian gel tanpa ekstrak buah ciplukan dapat menurunkan jumlah fibroblas sebanyak 0,682. Pada kelompok P didapatkan hubungan yang signifikan dengan arah koefisien regresi negatif (-2,232) yang kuat ($R=0,704$) menunjukkan bahwa setiap penambahan 1 hari pemberian gel ekstrak buah ciplukan dapat menurunkan jumlah fibroblas sebanyak 2,232. Pada kelompok T didapatkan hubungan dengan arah koefisien regresi negatif yang cukup kuat ($R=0,595$) menunjukkan bahwa setiap penambahan 1 hari pemberian gel *triamcinolone* dapat menurunkan jumlah fibroblas sebanyak 0,412. Diagram arah hubungan dapat dilihat pada (lampiran 11).

Tabel 5.4 Hasil Uji Korelasi Pearson dan Uji Regresi Hubungan Waktu dan Respon Jumlah FGF-2

Kelompok	Korelasi Pearson (R)	Koefisien regresi
K	0,855**	-0,187
P	0,764*	-0,770
Pt	0,263	0,05

Keterangan:

***correlation significant* : $p < 0,01$ (Sangat Signifikan)

**correlation significant* : $p < 0,05$ (Signifikan)

Berdasarkan tabel diatas (**Tabel 5.4**) dapat disimpulkan pada kelompok kontrol (K) hubungan dengan arah koefisien regresi negatif (-0,187) yang sangat kuat ($R=0,855$) menunjukkan bahwa setiap penambahan 1 hari pemberian gel tanpa ekstrak buah ciplukan dapat menurunkan jumlah FGF-2 sebanyak 0,187. Pada kelompok P hubungan dengan arah koefisien regresi negatif (-0,770) yang kuat

($R=0,764$) menunjukkan bahwa setiap penambahan 1 hari pemberian gel ekstrak buah ciplukan dapat menurunkan jumlah FGF-2 sebanyak 0,770. Pada kelompok T didapatkan hubungan dengan arah koefisien regresi positif (0,05) yang rendah ($R=0,263$) menunjukkan bahwa setiap penambahan 1 hari pemberian gel *triamcinolone* meningkatkan jumlah FGF-2 sebanyak 0,05. Diagram arah hubungan dapat dilihat pada (lampiran 11).

Tabel 5.5 Hasil Uji Korelasi Pearson dan Uji Regresi Hubungan Jumlah Fibroblas dengan Ekspresi FGF-2

Kelompok	Korelasi Pearson (R)	Koefisien regresi
K	0,851**	0,137
P	0,943**	0,300
Pt	0,332	0,095

Keterangan:

***correlation significant* : $p < 0,01$ (Sangat Signifikan)

Berdasarkan gambar diatas (**Tabel 5.5**) pada kelompok K didapatkan hubungan dengan arah koefisien regresi positif (0,137) yang sangat kuat ($R=0,851$) menunjukkan bahwa setiap penambahan fibroblas pada pemberian gel tanpa buah ciplukan meningkatkan jumlah FGF-2 sebanyak 0,137. Pada kelompok P didapatkan hubungan dengan arah koefisien regresi positif (0,300) yang sangat kuat ($R=0,943$) menunjukkan bahwa setiap penambahan fibroblas pada pemberian gel buah ciplukan meningkatkan jumlah FGF-2 sebanyak 0,300. Pada kelompok Pt didapatkan hubungan dengan arah koefisien regresi positif (0,095) yang sangat rendah bahwa setiap penambahan fibroblas pada pemberian gel *triamcinolone* meningkatkan jumlah FGF-2 sebanyak 0,332. Diagram arah hubungan dapat dilihat pada (lampiran 11).

5.3 Pembahasan

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mempelajari pemberian *Triamcinolone acetonide* dengan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap jumlah fibroblas, dan ekspresi selular *Fibroblast Growth Factor-2* pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus norvegicus*).

a. Perbedaan Efek Pemberian Basis Gel dengan Gel Ekstrak Buah Ciplukan (*Physalis angulata L.*) Terhadap Jumlah Fibroblas, dan FGF-2

Hasil *t-test* antara pemberian basis gel (kelompok K) dengan pemberian gel ekstrak buah ciplukan (kelompok P) menunjukkan perbedaan yang signifikan jumlah fibroblas pada hari ke-2 sedangkan pada hari ke-6 dan ke-12 tidak ditemukan perbedaan jumlah fibroblas yang signifikan. Hasil *t-test* pada kelompok kontrol dengan kelompok *Physalis* juga menunjukkan perbedaan jumlah FGF-2 yang signifikan pada hari ke-2, ke-6 dan ke-12. Hal ini dikarenakan buah ciplukan memiliki senyawa aktif yang mempunyai peran penting dalam proses penyembuhan. Berdasarkan penelitian Brar dan Gupta (2017) menggunakan metode HTPLC ditemukan bahwa buah ciplukan mengandung senyawa aktif yang berperan sebagai antiinflamasi seperti lupeol, *ursolic acid*, β -sitosterol, campesterol, withaferin-A, dan emodin. Efek antiinflamasinya bekerja dengan cara menghambat sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6 sehingga memperpendek fase inflamasi, mempercepat fase proliferasi dan mempercepat fase maturasi (Beserra *et al.*, 2019; Checker *et al.*, 2012; Cha *et al.*, 2011; Valerio dan Awad, 2011; Dong *et al.*, 2016; Shrimali *et al.*, 2013; Meng *et al.*, 2010).

b. Perbedaan Efek Pemberian Basis Gel dengan *Triamcinolone Acetonide* Terhadap Jumlah Fibroblas dan FGF-2

Hasil *t-test* antara pemberian basis gel (kelompok K) dengan pemberian *triamciolone acetonide* (kelompok Pt) didapatkan perbedaan jumlah fibroblas yang signifikan pada hari ke-6, sedangkan pada hari ke-2 dan ke-12 tidak ditemukan perbedaan jumlah fibroblas yang signifikan. Hasil pengujian T pada kelompok kontrol dengan kelompok *triamciolone acetonide* juga didapatkan perbedaan jumlah FGF-2 yang signifikan pada hari ke-2, sedangkan pada hari ke-6 dan ke-12 tidak didapatkan perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan pemberian *triamciolone acetonide* memperlambat proses penyembuhan karena *triamciolone acetonide* merupakan glukokortikoid yang bekerja sebagai anti inflamasi dengan menghambat sitokin pro inflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6 (Fani *et al.*, 2012). *Triamcinolone acetonide* terbukti dapat menghambat ekspresi VEGF, proliferasi fibroblast, dan dapat menginduksi atrofi jaringan parut (Song *et al.*, 2018). Berdasarkan penelitian Ariawan, (2018) *triamcinolone acetonide* sering digunakan sebagai obat antikeloid dengan menghambat inflamasi, proliferasi fibroblas, maupun sintesis kolagen. *Triamcinolone acetonide* dapat mencegah bekas luka dengan cara menghambat proliferasi fibroblas, dan jika diberikan dalam dosis yang besar akan terdapat efek pada pembentukan antibodi dalam proses penyembuhan (Unur *et al.*, 2014).

c. Perbedaan Efek Pemberian *Triamcinolone Acetonide* dengan Gel Ekstrak Buah Ciplukan (*Physalis angulata L.*) Terhadap Jumlah Fibroblas dan FGF-2

Kelompok pemberian *triamciolone acetonide* (kelompok Pt) dengan pemberian gel ekstrak buah ciplukan (kelompok P) pada hari ke-2, ke-6, dan ke-12 terdapat perbedaan rata-rata jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 yang signifikan. hal ini dapat terjadi karena adanya senyawa aktif dalam buah ciplukan yaitu lupeol dan ursolid acid yang dapat meningkatkan ekspresi FGF-2 sehingga dapat merangsang proliferasi fibroblas. Hasil ini terkait dengan penelitian

Beserra *et al.* (2019) yang mengisolasi kandungan lupeol dari batang *Bowdichia virgilioides* Kunth didapatkan hasil bahwa lupeol dapat meningkatkan ekspresi FGF-2 yang merangsang proliferasi fibroblas. Lupeol telah ditemukan secara farmakologis efektif dalam mengobati berbagai penyakit dengan berbagai rute pemberian yaitu topikal, oral, intra peritoneal, dan intravena (Wal *et al.*, 2015). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pengobatan topikal dengan lupeol mempercepat penutupan luka yang mempercepat epitelisasi jaringan dengan menginduksi pembentukan jaringan granulasi, meningkatkan deposisi kolagen, dan menghambat infiltrasi makrofag (Harish *et al.*, 2008). Dalam penelitian Naika *et al.* (2016) pada luka insisi tikus yang diobati menggunakan *ursolid acid*, dilihat dari histologi jaringan granulasi menunjukan penyembuhan total dengan peningkatan fibroblas, peningkatan signifikan jaringan kolagen, peningkatan jaringan *tensile strength* dari jaringan granulasi. Pemberian *ursolid acid* dapat mempercepat proses epitelisasi (Agra *et al.*, 2015).

d. Pengaruh Waktu dalam Proses Penyembuhan Luka Terhadap Jumlah Fibroblas dan FGF-2

Hasil uji korelasi pearson didapatkan hubungan waktu dan respon fibroblas dan FGF-2 dengan arah korelasi negatif (**Tabel 5.3** dan **Tabel 5.4**) pada semua kelompok perlakuan penunjukan semakin lama perlakuan dapat menurunkan jumlah fibroblas dan FGF-2, kecuali pada kelompok *triamcinolone* semakin lama perlakuan dapat meningkatkan jumlah FGF-2 dengan hubungan korelasi yang rendah. Hal ini sesuai dengan pathogenesis penyembuhan luka dimana fibroblas mulai berproliferasi pada area luka dimulai pada hari ke-3 dan akan terus meningkat hingga puncaknya pada hari ke-7 (Khoswanto *et al.*, 2010). Proliferasi sel fibroblas dari jaringan ikat didapatkan jumlah yang maksimal pada hari ke-7 dalam proses penyembuhan luka (Ardiana *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian Sabirin *et al.* (2013) pada pengamatan jumlah fibroblas pada hari ke 14 didapatkan jumlah sel rata-rata pada sediaan perlakuan sedikit lebih banyak daripada kelompok kontrol, beberapa sel fibroblas terutama pada kelompok perlakuan sudah menunjukkan maturasi menjadi

fibrosit. *Basic* FGF-2 muncul sejak awal terjadinya luka mencapai puncaknya pada hari ke-5 sampai hari ke-8 (Oentaryo *et al.*, 2016). Pada penelitian Puspasari *et al.* (2018) didapatkan hasil peningkatan ekspresi FGF-2 dan fibroblas hari ke-5 dan ke-7 pada kelompok perlakuan. Pathogenesis penyembuhan luka dimana setelah luka sembuh setelah hari ke-14, fibroblas dan makrofag (sel mononuclear) akan mengalami apoptosis kemudian pertumbuhan kapiler berhenti, aliran darah ke area luka dan aktifitas metabolik akan menurun (Mahendra *et al.*, 2019).

e. Hubungan Antara Jumlah Fibroblas dengan FGF-2 pada Proses Penyembuhan Luka

Hasil penelitian ini didapatkan hubungan yang signifikan dengan arah korelasi positif pada kelompok K dan P menunjukkan peningkatan jumlah fibroblas diiringi dengan peningkatan jumlah FGF-2, namun pada kelompok Pt tidak didapatkan hubungan yang signifikan hal ini dikarenakan FGF-2 tidak hanya diekspresikan oleh sel fibroblas namun juga diekspresikan oleh sel makrofag, dan sel endotel (Park *et al.*, 2017). *Basic* FGF berfungsi melalui interaksi dengan reseptor permukaan di endotel, dan di dalam sel endotel terdapat banyak FGFR1 yang mengatur hemostasis dan penyembuhan luka dengan mengaktifkan sinyal diferensiasi, proliferasi, angiogenesis (Jetten *et al.*, 2013; sohl, 2015). *Basic* FGF merupakan kunci utama untuk mempercepat penyembuhan luka dengan merangsang proliferasi fibroblas, menginduksi neovaskularisasi, dan meningkatkan sintesis kolagen (Matsumo *et al.*, 2013). Dalam penelitian Ola *et al.* (2018) telah diamati bahwa bFGF memiliki aktivitas potensial paling efektif untuk angiogenesis, di mana bFGF telah diterapkan pada fase awal proses penyembuhan luka terdapat banyak kapiler baru yang terbentuk di sekitar area luka, dan terbentuknya serat kolagen dalam jaringan granulasi yang lebih cepat, ini menjelaskan fakta bahwa FGF adalah salah satu faktor paling mendasari proliferasi sel fibroblas, pembuluh darah, re-epitelisasi. Hasil penelitian Jetten *et al.*, (2013) yang memblokir jalur persinyalan FGF (M2) secara *in vitro* didapatkan penurunan yang sangat

signifikan dalam pembentukan tabung terdeteksi ketika persinyalan FGF-2 dihambat, hal ini menunjukkan bahwa persinyalan FGF-2 berkontribusi terhadap angiogenesis yang diinduksi makrofag tipe 2 (M2).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara pemberian *triamcinolone acetonide* dengan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) 1% terhadap jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih. Sehingga hipotesis pada penelitian ini dapat diterima.



BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai perbedaan pemberian perbedaan pemberian *triamcinolone acetonide* dengan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus novergicus*), dapat disimpulkan bahwa :

1. Terdapat perbedaan signifikan antara pemberian *triamcinolone acetonide* dengan gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) 1% terhadap jumlah fibroblas dan ekspresi seluler FGF-2 pada proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih (*Rattus novergicus*).
2. Terdapat hubungan dengan arah korelasi negatif terhadap waktu dan respon jumlah fibroblas dan FGF-2, menunjukkan semakin lama perlakuan dapat menurunkan jumlah fibroblas dan jumlah FGF-2.
3. Terdapat hubungan dengan arah korelasi positif terhadap waktu dan respon jumlah FGF-2, menunjukkan semakin lama perlakuan jumlah FGF-2 mengalami peningkatan.
4. Terdapat hubungan jumlah fibroblas dengan jumlah ekspresi seluler FGF-2 dengan arah korelasi positif pada semua perlakuan, menunjukkan peningkatan jumlah fibroblas seiring dengan peningkatan jumlah ekspresi seluler FGF-2.

6.2 Saran

1. Penelitian ini tidak dilakukan uji toksisitas, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek samping dari gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) sebelum dilakukan uji klinis pada manusia sebagai pengobatan medis.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai *growth factor* lain yang mempengaruhi proliferasi fibroblas dalam proses penyembuhan ulkus traumatik mukosa labial tikus putih dengan pemberian gel ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*).
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan gel ekstrak buah ciplukan dalam sediaan topikal lain selain gel seperti *cream* atau salep.



DAFTAR PUSTAKA

- Agra, L.C., Ferro, J.N.S., Barbosa, F.T., Barreto, E. 2015. Triterpenes with healing activity: A systematic review. *Journal of Dermatological Treatment*. 26(5):465–470.
- Akbar, B. 2010. Tumbuhan dengan Senyawa Aktif Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas. 1st ed. Jakarta: Adabia Press, p:3.
- Ambavade, S.D., Ashwini, V.M., Prashant, D.A. 2013. Pharmacological, nutritional, and analytical aspects of β -sitosterol. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 14(3): 193–211.
- Andreasen, J.O., Frances, M.A., Lars, A. 2019. Textbook and Color Atlas of Traumatic Injuries to the Teeth. 5th ed. India: John Wiley and Sons Ltd, pp:13-46.
- Anggraeni, Yulia, Hendradi, Esti, Purwanti, Tutiek. 2012. Karakteristik Sediaan dan Pelepasan Natrium Diklofenak dalam Sistem Niosom dengan Basis Gel Carbomer 940. *PharmaScientia*, Vol.1, No.1. Departemen Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
- Anief, M. 2018. Prinsip Umum dan Dasar Farmakologi. Yogyakarta: UGM Press, p:22.
- Ardiana, T., Kusuma, R.P.A., Firdausy, D.M. 2015. Efektivitas Pemberian Gel Binahong (*Anredera Cordifolia*) 5% Terhadap Jumlah Sel Fibroblast Pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Marmut (*Cavia Cobaya*). *ODONTO Dental Journal*. 2(1): 64-70.
- Ariawan, A. 2018. Kombinasi Terbaik Antara Triamcinolone Acetonide dan 5-*Fluorouracil* Sebagai Obat Antikeloid Kajian *In Vitro* pada Sel Fibroblas Keloid. *Tesis*. Program Studi Ilmu Bedah Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

Asmi, R. Sulaiman, T. Sujono, T. 2013. Uji efek penyembuhan luka bakar gel ekstrak herba pengagan (*centella asiatica L. urban*) dengan gelling agent carbopol 934 kulit punggung kelinci jantan. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Fakultas Farmasi Universitas Mummadiyan Surakarta

Astuti, C.C. 2017. Analisis Korelasi untuk Mengetahui Keeratan Hubungan antara Keaktifan Mahasiswa dengan Hasil Belajar Akhir. *Journal of Information Computer Technology Education*.1(1): 5.

AVMA (American Veterinary Medical Association) AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition. (2013). Publication. <https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf> 14 agustus 2019 (20.00).

Bahtiar, R. 2016. Optimasi Formula Gel Asam Salisilat dengan Kombinasi Basis Karbomer dan HPMC menggunakan Metode SLD. Universitas Gadjah Mada: 11-12.

Bale, S., Pulivendala, G., dan Godugu, C. 2018. Withaferin A attenuates bleomycin-induced scleroderma by targeting FoxO3a and NF- κ B signaling: Connecting fibrosis and inflammation. *BioFactors*. 9999(9999): 1-11.

Barbul, A. David, T.E. Sandra, L.K. 2010. Wound Healing in *Schwartz's Principles of Surgery*. 10th ed. New York: Mc Graw Hills Education, pp:30-5.

Barrientos, S. Brem, H., Stojadinovic, O., Tomic C. M. 2014. Clinical Application of Growth Factors and Cytokines in Wound Healing. *Review Article*, Mismo: Departement Dermatologi. Universitas Miami. 22(5): 569-78.

Benincá, J. P., Dalmarco, J. B., Pizzolatti, M. G., dan Fröde, T. S. 2011. Analysis of the anti-inflammatory properties of *Rosmarinus officinalis* L. in mice. *Food Chemistry*. 124(2): 468-75.

Bertan, V.C. 2016. Pengaruh Pendayagunaan Sumber Daya Manusia (Tenaga Kerja) Terhadap Hasil Pekerjaan (Studi Kasus Perumahan Taman Mapanget Raya(Tamara). *Jurnal Sipil Statik*. 4(1): 15.

Beserra, F. P., Vieira, A. J., Gushiken, L. F. S., de Souza, E. O., Hussni, M. F., Hussni, C. A., Pellizzon, C. H. 2019. Lupeol, a Dietary Triterpene, Enhances Wound Healing in Streptozotocin-Induced Hyperglycemic Rats with Modulatory Effects on Inflammation, Oxidative Stress, and Angiogenesis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1-20.

Brar, R., Raghbir, R.G. 2017. Phytochemical Analysis of Two Cytotypes (2x and 4x) of *Physalis angulata* an Important Medicinal Plant, Collected from Rajasthan. *Biochemistry & Molecular Biology Journal*. 03(03): 1-6.

Brooks, A. Nigel. Elaine, K. Paul, D.S. 2012. Molecular Pathways: Fibroblast Growth Factor Signaling: A New Therapeutic Opportunity in Cancer. *Journal Clinical Cancer Research*. 18(7).

CABI. 2019. *Physalis angulata* (cutleaf groundcherry). Publication <https://www.cabi.org/isc/datasheet/40711>. 22 Januari 2019 (09.30).

Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC), Ciplukan (Physalis angulata L.). Publication. http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=193 Farmasi UGM. Diakses 10 Februari 2019 (09.30).

Carolina, N. dan Asep, S. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Lidah Buaya Konsentrasi 25%,50%, 75%, dan 100% terhadap Jumlah

Makrofag pada Radang Mukosa Mulut Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley. JK Unila. 1(2): 243-5.

Cha, D.S., Eun, J.S., Jeon, H. 2011. Anti-inflammatory and antinociceptive properties of the leaves of *Eriobotrya japonica*. J. Ethnopharmacol. 134: 305-12.

Checker, R., Sandur, S. K., Sharma, D., Patwardhan, R. S., Jayakumar, S., Kohli, V., Sainis, K. B. 2012. Potent Anti-Inflammatory Activity of Ursolic Acid, a Triterpenoid Antioxidant, Is Mediated through Suppression of NF- κ B, AP-1 and NF-AT. PLoS ONE, 7(2): 318.

Chen, X., Wan, Y., Zhou, T., Li, J., Wei, Y. 2013. Ursolic acid attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in a mouse model. Immunotherapy. 5: 39-47.

Choi, J.N., Choi, Y.H., Lee, J.M., Noh, I.C., Park, J.W., Choi, W.S., Choi, J.H. 2012. Anti-inflammatory effects of β -sitosterol- β -D-glucoside from *Racholoper mom jasminoides* (Apocynaceae) in lipopolysaccharide stimulated RAW 264.7 murine macrophages. Nat Prod Res 26(24): 2340-43.

Clark, R. A.F. 2013. The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair. 2nd ed. New York: State University of New York, pp:4-35.

Craig, J. 2016. Withaferin A. American Chemical Society. Publication <https://www.acs.org/content/acs/en/molecule-of-the-week/archive/w/withaferin-a.html> 01 september 2019 (23.45).

Das, B., Nayak, A. K., dan Nanda, U. 2013. Topical gels of lidocaine HCl using cashew gum and Carbopol 940: Preparation and in vitro skin permeation. International Journal of Biological Macromolecules. 62: 514-7.

DeLong, L., Burkhart, N.W. 2013. General and Oral Pathology for the dental hygienist. 2nd ed. *Wolters Kluwer Health*. Lippincott Williams and Wilkins, pp:332-5.

Derendorf, H., dan Meltzer, E. O. 2008. Molecular and clinical pharmacology of intranasal corticosteroids: clinical and therapeutic implications *Allergy*. 63(10): 1292-300.

Deshmukh, R., Bagewadi, A. 2014. Comparison of effectiveness of curcumin with triamcinolone acetonide in the gel form in treatment of minor recurrent aphthous stomatitis: A randomized clinical trial. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*. 4(3): 138.

Dewi, C.C., Saptarini, N.M. 2016. Hidroksi Propil Metil Selulosa dan Karbomer serta Sifat Fisikokimianya Sebagai *Gelling Agent*. *Farmaka*. Bandung Universitas Padjajaran. 14(3): 7.

Dey, Pranab. 2018. *Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology*. India: Springer Publisher, pp:6-9.

Dhar, S., Joly, S., Deepak, P. 2014. Systemic Side-Effects of Topical Corticosteroids. *Indian Journal of Dermatology*. 59(5): 460-4.

Dong, X., Fu, J., Yin, X., Cao, S., Li, X., Lin, L. 2016. Emodin: A Review of its Pharmacology, Toxicity and Pharmacokinetics. *Phytotherapy Research*, 30(8): 1207-18.

Dovilo, D.M., Larson, S.A., Dominko, T. 2017. Fibroblast Growth Factor 2 as an Antifibrotic: Antagonism of Myofibroblast Differentiation and Suppression of Pro-Fibrotic of Gene Expression. *Elsevier. Cytokin and Growth Factor Reviews*. 38: 49-58.

Eroschenko, V.P. 2010. *Atlas Histologi diFiore dengan Korelasi Fungsional Edisi 11*. Jakarta: EGC, pp:324.



- Fani, M.M., Ebrahimi, H., Pourshahidi, S., Aflaki, E., Shafiee, Sarvestani. 2012. Comparing the Effect of Phenytoin Syrup and *Triamcinolone acetonide* Ointment on Aphthous Ulcers in Patients with Behcet's Syndrome. *Iran Red Crescent Med J.* 14(2): 75-8.
- Fatmawaty, A., Subehan, Muliawati. 2016. Formulasi Dan Evaluasi Kestabilan Fisik Gel Niosom Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences.*1(1): 38-44.
- Ferrara, G., Petrillo, M., Giani, T., Marrani, E., Filippeschi, C., Oranges, T., Cimaz, R. 2019. Clinical Use and Molecular Action of Corticosteroids in the Pediatric Age. *International Journal of Molecular Sciences.* 20(2): 1-2.
- Ferreira, L.M., Ademir, E.V., Amancio, J.S., Kelly, B.L., Cassia, S., Maria, L.V., Thessika, H.A., Milena, B.P.S., Maria, F.R.G. 2019. Anatomical and phytochemical characterization of *Physalis angulata L.*: A plant with therapeutic potential. *Phcog Res.* 2 11(17): 1-7.
- Fifita, S. F., Kuyama, K., San, Y., Morikawa, M., Matsumoto, T., & Yamamoto, H. 2009. Oral Cytology; Oral Mucosal Diseases (6)-*Triamcinolone acetonide* in the Treatment of Oral Ulcers: With special references to cytological findings. *International Journal of Oral-Medical Sciences.* 7(3): 182–5.
- Foster, Janet. 2012. Management of Complex Wounds. *Journal of Wound Care.* 9(6).
- Franson, J.C. 2019. Euthanasia Chapter 5. Publication. <http://www.nwhc.usgs.gov>. 13 Agustus 2019 (19.30).
- Fuadi, I.M. Elfiah, U. Misnawi. 2015. Jumlah Fibroblas pada Luka Bakar Derajat II pada Tikus dengan Pemberian Gel Ekstrak



Etanol Biji Kakao dan Silver Sulfadiazine. Fakultas Kedokteran Universitas Jember. 3(2).

Gallo, M.B.C., Miranda, J.C. 2009. Biological Activities of Lupeol. International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences. 3(1): 44-66.

Gani, B.A., Abdillah, I.N., Nazaruddin., Sartika, L., Rahmat, K.A. 2015. Potential of *Jatropha multifida* sap against traumatic ulcer. Dental Journal. 48(3): 119-25.

Gonzalez, A. C. de O., Costa, T. F., Andrade, Z. de A., dan Medrado, A. R. A. P. 2016. Wound healing - A literature review. Anais Brasileiros de Dermatologia, 91(5): 614-20.

Goodman, M.P. 2012. Are all estrogens created equal: A review of oral vs. Transdermal therapy. Journal of Women's Health. 21(2): 161-9.

Guo, S. DiPietro, L.A. 2010. Factor Affecting Wound Healing. University of Illionis. USA. J Dent Res 89(3): 219--29.

Gupta, S.V., Vidya, K.L., Rahul, R.B. 2018. Comparison of efficacy of Natural honey and *Triamcinolone acetonide* (0.1%) in the healing of oral ulcers—A clinical study. J Apither. 3(1): 1-2.

Hamishehkar, H., Nokhodchi, A., Ghanbarzadeh, S., Kouhsoltani, M. 2015. *Triamcinolone acetonide* Oromucoadhesive Paste for Treatment of Aphthous Stomatitis. Advanced Pharmaceutical Bulletin, 5(2), 277-82.

Hantash, B., M. Longmei, Z., Joseph, A., Knowles, H., Peter. L. 2008. Adult and fetal wound healing. Frontiers in Bioscience. 13(13): 51-4.

Harahap, N.I., Marline, N., Urip, H. 2018. Formulation And Evaluation Of Herbal Antibacterial Gel Containing Ethanolic

Extract Of Mikania Micrantha Kunth Leaves. Asian J Pharm Clin Res. 11(3): 429-31.

Harish, B. G., Krishna, V., Santosh Kumar, H. S., Khadeer Ahamed, B. M., Sharath, R., & Kumara Swamy, H. M. 2008. Wound healing activity and docking of glycogen-synthase-kinase-3- β -protein with isolated triterpenoid lupeol in rats. *Phytomedicine*. 15(9): 763–767.

Harty, F.J., dan Ogston, R. 2014. Kamus Kedokteran Gigi. Jakarta: EGC, pp:303-04.

He, B., Jia, C., Liang, L., Hao, W., Shaohua, W., Ping, L., Jianda, Z. 2018. Emodin inhibits formation of hypertrophic scars through regulating the p38/MAPK signaling pathway. *Int J Clin Exp Med*. 11(11): 12310-17.

Heather, A. W., Brandon, M. B., Patrick, M. Z. 2019. Wound Healing Phases. StatPearls. Treasure Island (FL). 1-4.

Helmy, M., Munasir, Z. 2007. Pemakaian Cetirizine dan Kortikosteroid pada Penyakit Alergi Anak. *Dexa Media*. 2(20): 68.

Hemmati, A.A., Houshmand, G., Nemati, M., Bahadoram, M., Dorestan, N., Nooshabadi, M.R.R. dan Zargar, H. 2015. Wound Healing Effects of Persian Oak (*Quercus brantii*) Ointment in Rats. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*. 10(4):25508.

Islami, I.S., Munawir, A., Astuti, S.I. 2018. Efek Pemberian Membran Bakiko (Bayam- Kitosan- Kolagen) terhadap Jumlah Fibroblas pada Luka Bakar Derajat II. *Hang Tuah Medical Journal*. 15(2): 99.

Juknis, Rodensia. 2017. Penggunaan dan Penanganan Hewan Coba Rodensia dalam Penelitian sesuai dengan Kesejahteraan Hewan. Publication <https://peternakan.litbang.pertanian.go.id/fullteks/>

[booklet/juknisrodensia-2107/coverdalam-daftarisi-daftartabel-daftargambar-katapengantar-2017.pdf](http://booklet.juknisrodensia-2107/coverdalam-daftarisi-daftartabel-daftargambar-katapengantar-2017.pdf) 19 Februari 2019 (18.30).

Junqueira, L. Carneiro, J. Kelley, R. 2013. Histologi Dasar. 13th ed. Jakarta: EGC, pp:98-102

Kabiraj, A., Jagrati, G., Tanya, K., Preeti, T.B. 2015. Principle And Techniques of Immunohistochemistry. Int J Biol Med Res. 6(3): 5204-5210.

Kim, Carvalho, Souza. 2013. Topical Application of the Lectin Artin M Acceleration Wound Healing in Rat Ooral Mucosa by Enhancing TGF-B and VEGF Production. Wound Repair and Regeneration. 21: 456-65.

Koria, P. 2012. Delivery of Growth Factors for Tissue Regeneration and Wound Healing. BioDrugs, 26(3): 163-75.

Kresnoadi, Utari. 2012. The increasing of Fibroblast Growth factor 2. Osteocalcin, and Osteoblast Due to the Induction of the Combination od *Aloe vera* and 2% Xenograft Concelous Bovine. *Dental Journal Majalah kedokteran gigi*. 45(4): 228-33.

Kumar, V. Abas, A.K. Aster, J.C. 2013. Information and Repair. Robbins Basic Pathology. 9th ed. Philadelphia: Elsevier-Saunders, pp:43-75.

Kurniawan, Y., Kamalia, L. 2017. Pemberian Gel Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Dapat Mempercepat Proses Penyembuhan Luka Bakar pada Mencit. Syifa' MEDIKA. 8(1): 33-4.

Kusumaningtyas, R., Laily, N. dan Limandha, P. 2015. Potential of ciplukan physalis angulata l. as source of functional ingredient, procedia chemistry. Elsevier Ltd.14: 367-72.

Kusumawardhani, A.D., Kalsum, U., Rini, I.S. 2015. Pengaruh Sediaan Salep Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap Jumlah Fibroblas Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Majalah Kesehatan FKUB*. 2(1): 16-28.

Labib, G., & Aldawsari, H. (2015). *Innovation of natural essential oil-loaded Orabase for local treatment of oral candidiasis. Drug Design, Development and Therapy*. 2015(9): 3349.

Landen, N. X., Li, D., & Stähle, M. (2016). *Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. Cellular and Molecular Life Sciences*. 73(20): 3861-3885.

Langkir, A., Pangemanan, D.H.C. dan Mintjelungan, C.N. 2015. Gambaran Lesi Traumatik Pada Lansia Pengguna Gigi Tiruan Sebagian Lepas Di Panti Werda Kabupaten Minahasa. *Jurnal e-GiGi*. 3(1): 1-8.

Langlais, R. P., Miller, C.S., dan Nield-Gehric, J.S. 2013. Atlas Berwarna Lesi Mulut Yang Sering Ditemukan, 4th ed. Jakarta : EGC, pp:18

Lawrence, W.T. 2012. *Wound Healing Biology and Its Application to Wound Management: O'Leary P. The Physiologic Basis of Surgery*. 3th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, pp:107-32.

Leong, M., Phillips, L.G. 2012. *Wound Healing. Dalam: Sabiston Textbook of Surgery*. 19th ed. Amsterdam: Elsevier Saunders. 984-92.

Liu, K., Guo, L., Miao, L., Bao, W., Yang, J., Li, X., Zhao, W. 2013. Ursolic acid inhibits epithelial-mesenchymal transition by suppressing the expression of astrocyte-elevated gene-1 in

human nonsmall cell lung cancer A549 cells. *Anti-Cancer Drugs*. 24(5): 494–503.

Loizou, S., Lekakis, I., Chrousos, G.P., Moutsatsou, P. 2010. β -sitosterol exhibits anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells. *Mol Nutr Food Res*. 54: 551–8.

Luliana, S., Susanti, R., Agustina, E. 2017. Anti-inflammatory Activity Test of Aqueous Extracts Herb of Ciplukan (*Physalis angulata L.*) in Caragenan Inducted Wistar Rat (*Rattus norvegicus L.*) *Traditional Medicine Journal*. 22(3): 199-205.

Mahendra, Y.F.K., Niryana, W., Golden, N. 2019. Perbandingan jumlah sel mononuklear, jumlah sel fibroblas, ukuran fibrosis, dan per lengketan klinis jaringan peridural pasca prosedur kraniektomi dekompresi dengan dan tanpa proceed surgical mesh pada kelinci new zealand cedera otak traumatik. *Medicina*. 50(2): 343-349.

Mathew. 2015. *Oral local drug delivery: An Overview. Pharmacy and Pharmacology Research*. 3(1): 1-6.

Matsumoto, S., Tanaka, R., Okada, K., Arita, K., Hyakusoku, H., Miyamoto, M., Mizuno, H. 2013. The Effect of Control-released Basic Fibroblast Growth Factor in Wound Healing. *Plastic and Reconstructive Surgery Global Open*. 1(6): 1-9.

Matsumoto, S., Tanaka, R., Okada, K., Arita, K., Hyakusoku, H., Miyamoto, M., Mizuno, H. 2013. The Effect of Control-released Basic Fibroblast Growth Factor in Wound Healing. *Plastic and Reconstructive Surgery Global Open*. 1(6): 1-9.

Mehdipour, M., dan Taghavi, A. 2012. Role of Corticosteroids in Oral Lesions. *State of the Art of Therapeutic Endocrinology*. 88-9.

Meng, G., Liu, Y., Lou, C., dan Yang, H. 2010. Emodin suppresses lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory responses and



NF- κ B activation by disrupting lipid rafts in CD14-negative endothelial cells. *British Journal of Pharmacology*, 161(7): 1628-44.

Mescher, L. Antony. 2013. *Junquiera'a Basic Histology Test and Atlas*. 13th ed. Indiana: The Mc Graw Hill Companies, pp:99-102.

Misal, G., Gouri, D., Vijay, G. 2012. Formulation and Evaluation of Herbal Gel. *Indian Journal of Natural Product and Resources*. 3(4): 501-05.

Mukudai, S., Matsuda, K. I., Nishio, T., Sugiyama, Y., Bando, H., Hirota, R., Kawata, M. 2015. *Differential Responses to Steroid Hormones in Fibroblasts From the Vocal Fold, Trachea, and Esophagus*. *Endocrinology*. 156(3): 1000-1009.

Murdoch, M. 2016. *E-book Wound Healing*. Wits Donald Gordon Medical Centre. Parktown: Wits Donald Gordon Medical Centre, 3-14.

Naika, H.R, Bhavana, S., Teixeira, J.A., Lingaraju, K., Mohan, V.C., Krishna, V. 2016. In silico and in vivo wound healing studies of ursolic acid isolated from *Clematis gouriana* against GSK-3 beta. *Nusantara Bioscience* 8: 232-44.

National Center for Biotechnology Information (NCBI). Campesterol. PubChem Database. Publication. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Campesterol> 01 september 2019 (23.45).

Negara, J.K., Sio, A.K., Rifkhan, R., Arifin, M., Oktaviana, A.Y., Wihansah, R.R.S., dan Yusuf, M. 2016. Aspek Mikrobiologis Serta Sensoris (Rasa, Warna, Tekstur, Aroma) Pada Dua Bentuk Penyajian Keju Berbeda. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Pertenakan Bogor* 4(2): 286-90.

Neilsen, W.E., Kaye, A.D. 2014. Steroids: Pharmacology, Complications, and Practice Delivery Issues. *The Ochsner Journal*. 14: 203-7.

Neville, B.W., Dann, D.D., Allen, C.M., Bouquot, J.E. 2015. Oral and maxillofacial pathology, 4th ed. Philadelphia: Elsevier-Saunders, pp:255-61

Ningsi, S., Leboe D.W., dan Armaya, S. 2016. Formulasi Dan Uji Stabilitas Fisik Gel Ekstrak Daun Binahong. *JF FIK UINAM* 4(1) : 21-7.

Niyogi, P., N.J. Raju, P.G. Reddy, dan B.G. Rao. 2012. Formulation and Evaluation of Antiinflammatory Activity of Solanum pubescens Wild Extracts Gel on Albino Wistar Rats. *International Journal of Pharmacy* 2(3): 484-90.

Notoatmodjo, S. 2015. Metode Penelitian Kesehatan, Jakarta: Rineka Cipta, pp:190-95.

Nurahmanto, D., Mahrifah, I.R., Azis, R.F.N.I., dan Rosyidi, V.A. 2017. Formulasi Sediaan Gel Dispersi Padat Ibuprofen : Studi Gelling Agent Dan Senyawa Peningkat Penetrasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung* 3(1): 96-105.

Odell, E.W. 2017. *Cawson's Essentials of Oral Pathology and Oral Medicine*. Elsevier: Churchill Livingstone, p:255.

Oentaryo, G. Istiati. Pratiwi, S. 2016. Acceleration of Fibroblast Number and FGF-2 Expression Healing Proses in Vivo Studies in Wistar Rats. *Dental journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 49(3): 127-29.

Ola, A. Dewedar., Mona, H. M. Farid., Heba, A. Adawy. 2018. Potential Effect of Fibroblast Growth Factor (FGF2) Versus Epidermal Growth Factor (EGF) on Healing of Induced Oral Ulcer in Albino Rats (A Histological and Immunohistochemical

Study). *Al-Azhar Dental Journal for Girls (ADJ-for Grils)*. 5(1): 23-27.

Olezyk, P., Mencner, L., Komosinska, V.K. 2014. The Role of the Extracellular Matrix Components in Cutaneous Wound Healing. *BioMed Research International*. 1-8.

Olezyk, P. Lukaz, M. Kartarzyna, K.V. 2014. The Role of the Extracelullar Matrix Components in Cutaneous Wound Healing. *Review Article*. *BioMed Research International*. Hindawi Publishing Corporation.14: 1-8.

Oroh, G.C, Damajanty, H.C.P, Christy, N.M. 2015. Efektivitas Lendir Bekicot (*Achatina fulica*) terhadap jumlah sel fibroblas pada luka pasca pencabutan Gigi Tikus Wistar. *Jurnal e-Gigi (eG)*. 3(2): 516-519.

Paleri, V., Staines, K., Sloan, P., Douglas, A., Wilson, J. 2010. Evaluation of oral ulceration in primary care. *BMJ*. 340(02): 1234.

Paramita, N.P.C., Sugiritma, W., Linawati, N.M., Ratnayanti, I.D., Wahyuniari, I.A.I., Arjina, I.N., Wiryawan, I.S. 2019. Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas L.*) Menurunkan Degenerasi Lemak Jaringan Hati Tikus Yang di Ovariektomi. *E-Jurnal Medika*. 8(1): 34.

Park, J., Hwang, S., Yoon, I.-S. 2017. Advanced Growth Factor Delivery Systems in Wound Management and Skin Regeneration. *Molecules*. 22(8): 1259.

Park, J.W., Hwang, S.R., Yoon, I.S. 2017. Advanced Growth Factor Delivery Systems in Wound Management and Skin Regeneration. *Molecules*. 22(8): 1259.

Parkarwar, C.R. Qadri S.M. Ziauddin, S.M. Zaidi, N.Kale, L. Pansambal, V.L. Parkawar, P.C. Khaimar, S. Khairadi, U. Kore,

P. Muley, P. Gaikwad, P. 2017. Oral Candidiasis: A Review. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. Jurnal Biotropika*, 2(5): 269-72.

Purba, S.J. 2007. Efek Kortikosteroid Terhadap Metabolisme Sel; Dasar Pertimbangan Sebagai Tujuan Terapi Pada Kondisi Akut Maupun Kronik. *Jurnal Kedokteran dan Farmasi*. 20(2): 77-9.

Puspasari, A. Harijanti, K. Soebadi, B. Henditari, T.H. Radhitia, D. Ernawati, S.D. 2018. Effect of Topical Application of Propolis extract on Fibroblast Groeth Factor 2 and Fibroblast Expression in Traumatic Ulcers of Diabetic *Rattus norvegicus*. *Jurnal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 22(1): 54-58.

Regezi, J.A., Sciubba, J.J, Jordan, R.C.K. 2016. Oral Pathology Clinical Pathologic Correlations 7th ed. Elsevier: Saunders. 23-7.

Rehan. F., Rabia, S.K., Zohaib, K., Mohammed, S.M., Sadia, N., Muhammad, S.Z. 2016. Analysis of Resting Mouth Salivary Flow Rate. *Journal of the Pakistan Dental Association (JPDA)*. 25(4): 161.

Rifasanto, M.I., Maharani, L.A., Irham, T. 2018. The Effect Of Mauli Banana (*Musa Acuminata*) Stem Extract Gel Application With 37.5% Concentration On Fibroblast Cell Count. *Dentino (Jur. Ked. Gigi)*. 3(1): 1-6.

Rowe, R.C., Sheskey P.J., Quinn, M.E. 2009. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6th ed. Pharmaceutical Press, London. 110, 242, 283, 441, 463, 592, 596.

Rudnik, J. I., Colen, S., Berard, J., Plomp, S., Que, I., van Rijen, M., Creemers, L. 2017. Prolonged inhibition of inflammation in osteoarthritis by *Triamcinolone acetonide* released from a polyester amide microsphere platform. *Journal of Controlled Release*. 253: 64–72.

Sabirin, P.R.I., Maskoen, A.M., Hernowo, B.S. 2013. Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar. *MKB*. 45(4): 226-233.

Saeidnia, S., Manayi, A., Gohari, A.R., dan Abdollahi, M. 2014. The Story of Beta-Sitosterol-A Review. *European Journal of Medicinal Plants*. 4(5) : 590-609.

Saleem, M. 2010. Lupeol, A Novel Anti-inflammatory and Anti-cancer Dietary Triterpene. *Cancer Letters*. 285(2): 109-15.

Salvo, P. V., Dini, F. D., Francesco, dan M. Romanelli. 2015. The Role of Biomedical Sensors in Wound Healing. *Jurnal Elsevier: Wound Medicine*. 8: 15-18.

Sandhu, S.V., Gupta, S., Bansal, H., Singla, K. 2012. Collagen in Health and Disease. *Journal of Orofacial Research*. 2(3): 153-159.

Sari, R.P., Wahjuningsih, E., Soeweondo, D.K. 2014. Modulasi FGF2 Setelah Pemberian Aplikasi Topikal gel *Stichopus Hermanii* Pada Ulkus Traumatikus Tikuswistar. *Dental Journal*. 47(3): 126-129.

Sayeed, M., Karim, S., Sharmin, T., & Morshed, M. 2016. Critical Analysis on Characterization, Systemic Effect, and Therapeutic Potential of Beta-Sitosterol: A Plant-Derived Orphan Phytosterol. *Medicines*. 3(4): 29.

Sayuti, N. Aquariushinta. 2015. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol.5 No.2-Agustus. 2015:74-82

Sculean, A., Gruber, R. & Bosshardt, D. D. 2014. Soft tissue wound healing around teeth and dental implants. *Journal of Clinical Periodontology*. s7

Seo, D.Y., Sung, R.L., Jun, W.H., Mi, H., Byoung, D.R., Kyung, S.K., Hyo, B.K. 2018. Ursolic acid in health and disease. *Korean J Physiol Pharmacol*. 22(3): 235-248.

Setiawan, Rudi. 2010. Pengaruh Pemberian ekstrak Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa L*) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diiduksi Aloksan. Skripsi Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.

Shah, J.M.Y., Omar, E., Pai, D.R., dan Sood, S. 2012. Cellular Events And Biomarkers Of Wound Healing. *Indian J Plast Surg* 45(2) :220-8.

Shaw, T.J., Martin, P. 2009. Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science*. 122(18): 3209–3213.

Shrimali, D., Shanmugam, M. K., Kumar, A. P., Zhang, J., Tan, B. K. H., Ahn, K. S., dan Sethi, G. 2013. Targeted abrogation of diverse signal transduction cascades by emodin for the treatment of inflammatory disorders and cancer. *Cancer Letters*, 341(2): 139-49.

Shrivastava, R. Smrati B. 2016. Role of Growth Factor Signaling in Cancer. *Defence Life Science Journal*. 1(1): P. 24-47.

Sinha, Sanjai. 2019. Triamcinolone Drug.com. Publication. <https://www.drugs.com/triamcinolone.html>. 15 Maret 2019 (19.20).

Sohl, C. D., Ryan, M. R., Luo, B., Frey, K. M., dan Anderson, K. S. 2015. Illuminating the Molecular Mechanisms of Tyrosine Kinase Inhibitor Resistance for the FGFR1 Gatekeeper

Mutation: The Achilles' Heel of Targeted Therapy. *ACS Chemical Biology*. 10(5): 1319-29.

Song, H., Tan, J., Fu, Q., Huang, L., & Ao, M. 2018. Comparative efficacy of intralesional triamcinolone acetonide injection during early and static stage of pathological scarring. *Journal of Cosmetic Dermatology*.

Suling, Tumewu, Soerwantoro, Damayanto. 2013. Angka Kejadian Lesi Yang Diduga Sebagai *Stomatitis Aftosa Rekuren* Pada Mahasiswa Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi *Jurnal Kedokteran Gigi*. 1(2): 2-3.

Sunarjo, L., Hendari, R., Rimbyastuti, H. 2015. Manfaat Xanthone Terhadap Kesembuhan Ulkus Rongga Mulut Dilihat Dari Jumlah Sel Pmn dan Fibroblast. *Odonto Dental Journal*. 2(2): 15-6.

Susetiyo, I.V. 2017. Tepung Kedelai (*Glycine max*) Sebagai Hepatoprotektor Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Diazinon. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran. Universitas Jember. Jember.

Tambunan, S. dan Sulaiman, T.N.S. 2018. Formulasi Gel Minyak Atsiri Sereh dengan Basis HPMC dan Karbopol. *Majalah Farmaseutik* 14(2): 87-95.

Teven, Chad, M. Evan, M.F. Jane, R. 2014. Fibroblast Growth Factor (FGF) Signaling in Developmental and Skeletal Disease. *Journal Elsevier*. 1(2).

Unur, M., Ofluoglu, D., Koray, M., Mumcu, G., Onal, A. E., & Tanyeri, H. 2014. *Comparison of a New Medicinal Plant Extract and Triamcinolone acetonide in Treatment of Recurrent Aphthous Stomatitis*. *Balkan Journal of Dental Medicine*. 18(1): 29-34.

Valerio, M., Awad, A.B. 2011. B-sitosterol down-regulates some pro-inflammatory signal transduction pathways by increasing the activity of tyrosine phosphatase SHP-1 in J774A. 1 murine macrophages. *Int. Immunopharmacol.* 11: 1012-17.

Velnar, T., Bailey, T., Smrkolj, V. 2009. The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research.* 37(5): 1528-42.

Wal, A., Srivastava, R.S., Wal, P., Rai, A., Sharma, S. 2015. Lupeol As A Magical Drug. *Pharmaceutical and Biological Evaluations.* 2 (5): 142-151.

Wallace, H.A., Basehore, B.M., Zito, P.M. 2019. Wound Healing Phases. StatPearls. Treasure Island (FL). Publication. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470443>. 15 Agustus 2019 (13.20).

Wang, P.H., Huang, B.S., Horng, H.C., Yeh, C.C., Chen, Y.J. 2018. *Journal of the Chinese Medical Association.* 81: 94-101.

Wang, Y., Bao, X., Zhang, Z., Sun, Y., dan Zhou, X. 2017. FGF2 promotes metastasis of uveal melanoma cells via store-operated calcium entry. *OncoTargets and Therapy.* 10: 5317-28.

Wibowo, A., Soenarjo, S. Hari.H., 2014. Comparison Of Post Operative Sore Throat Using *Triamcinolone acetonide* To Water Soluble Gel Within Endotracheal Tube. *Jurnal Anestesiologi Indonesia.* 6(3): 178-9

Widiartini, W., Siswati, E., Setyawati, A., Rohmah, I.M., Prastyo, E. 2013 pengembangan usaha produksi tikus putih (*Rattus norvegicus*) Tersertifikasi dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium: Jakarta Ditjen DIKTI KEMEDIKBUD RI.

Wijaya, A.A., Garditya, R., Marsaban, A.H. M. 2015. Deksametason Intravena dalam Mengurangi Insidens Nyeri Tenggorok Pascabedah. *Jurnal Anestesi Perioperatif*. 3(2):118.

Woolcott, C.R., Torrey, S., Patricia, V.T., Heater, C., Lena, J.L., Karen, S.L., Tina, W. 2018. Assessing a Method of Mechanical Cervical Dislocation as a Humane Option for On-Farm Killing Using Anesthetized Poult and Young Turkeys. *Frontiers in Veterinary Science*. 5(275): 3.

Yao, W.Y., Yu, F.Z., Qian, A.H., Yong, P.Z., Min, M.Q., Zu, K.Z., Yao, Z.Y., Song, L.Y. 2015. Emodin has a protective effect in cases of severe acute pancreatitis via inhibition of nuclear factor- κ B activation resulting in antioxidation. *Molecular Medicine Reports* 11: 1416-20.

Yun, Y.R., Won, J. E., Jeon, E., Lee, S., Kang, W., Jo, H., Kim, H.-W. 2010. Fibroblast Growth Factors: Biology, Function, and Application for Tissue Regeneration. *Journal of Tissue Engineering*.1(1): 1-12.