



**PENGARUH GELATIN IKAN PATIN (*Pangasius djambal*)
TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT PADA LUKA PASCA
PENCABUTAN GIGI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI
UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN MEMPEROLEH
GELAR SARJANA**

oleh :

**IBNU PUTRA NUGRAHA
145070407111002**

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



HALAMAN PENGESAHAN
SKRIPSI

PENGARUH GELATIN IKAN PATIN (*Pangasius djambal*)
TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT PADA LUKA PASCA
PENCABUTAN GIGI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

Oleh :
IBNU PUTRA NUGRAHA
NIM. 145070407111002

Telah diujikan didepan Majelis Penguji pada tanggal 10 Juli
2019 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh Gelar
Sarjana dalam Bidang Kedokteran Gigi

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dr. Fredy Mardiyantoro Sp.BM
NIK. 2012088 30318 1 001

Dosen Pembimbing II

dr. Novi Khila Firani, M.kes., Sp.PK
NIP. 197611022003122001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

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



ABSTRAK

Nugraha, Ibnu Putra. 2019. **Pengaruh Gelatin Ikan Patin (*Pangasius djambal*) Terhadap Jumlah Limfosit pada Luka Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**. Skripsi, Program Studi Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) drg. Fredy Mardiyantoro Sp.BM (2) dr. Novi Khila Firani, M. Kes., Sp.PK.

Salah satu fase dalam penyembuhan luka adalah fase inflamasi. Limfosit merupakan sel pusat dari sistem imunitas yang mempunyai peranan penting dalam proses inflamasi. Salah satu bahan alami yang dapat membantu proses penyembuhan luka adalah gelatin. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap jumlah limfosit pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus wistar putih (*Rattus norvegicus*). Desain penelitian adalah eksperimental murni dengan *Post Test Only Randomized Control Group Design* secara *in-vivo*. Gelatin ikan patin dibuat dengan metode modifikasi tanpa proses pengeringan. Penghitungan sel imfosit secara manual menggunakan mikroskop digital dengan perbesaran 400x yang didapat dari preparat soket alveolar tikus Wistar. Identifikasi sel limfosit dilakukan dengan pewarnaan HE. Hasil penelitian, uji One Way ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan yang menggunakan gelatin ikan patin dengan kelompok kontrol. Uji Korelasi Pearson menunjukkan korelasi negative antara variabel penelitian, dimana semakin rendah hasil hitung limfosit pada kelompok kontrol (K), maka semakin tinggi hasil hitung limfosit pada kelompok perlakuan (P). Disimpulkan bahwa pemberian ekstrak gelatin ikan patin berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel limfosit pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus wistar putih.

Kata Kunci: penyembuhan luka, inflamasi, limfosit, gelatin, ikan patin.



ABSTRACT

Nugraha, Ibnu Putra. 2019. **Effect of Catfish Gelatin (*Pangasius djambal*) on Lymphocyte Amount in Post-Tooth Extraction of White Mice (*Rattus norvegicus*)**. Final Assignment, Faculty of Dentistry Brawijaya University. Advisor: (1) drg. Fredy Mardiyantoro Sp.BM (2) dr. Novi Khila Firani, M. Kes., Sp.PK.

One phase in wound healing is the inflammatory phase. Lymphocytes are the central cells of the immune system which have an important role in the inflammatory process. One of the natural substance that can help the wound healing process is gelatin. The aim of the study was to determine the effect of catfish gelatin (*Pangasius djambal*) on the number of lymphocytes in the wound healing process after the extraction of white wistar mice teeth (*Rattus norvegicus*). The design of the study was experimental purely with Post Test Only Randomized Control Group Design in vivo. Catfish gelatin was made by the modified method from without drying process. Limfocytes was counted manually by a digital microscope with 400x magnification, the preparation obtained from Wistar alveolar socket. Identification of lymphocyte cells was done by coloring HE. The results of the study, the One Way ANOVA test showed that there was a significant difference between the treatment groups using catfish gelatin and the control group. Pearson Correlation Test showed a negative correlation between the research variables, where the lower the lymphocyte count results in the control group (K), the higher the lymphocyte count results in the treatment group (P). It was concluded that the administration of catfish gelatin extract had an effect on the increase in the number of lymphocyte cells in the wound healing process after extracting white wistar teeth.

Keywords: wound healing, inflammation, lymphocytes, gelatin, catfish.



DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Orisinalitas Skripsi	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Lampiran	xiii
Daftar Istilah, Simbol, Singkatan	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	
1.4.1 Manfaat Akademis	5
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pencabutan Gigi	7
2.1.1 Definisi	7
2.1.2 Indikasi Pencabutan Gigi	7
2.1.3 Kontraindikasi Pencabutan Gigi	8



2.1.4	Komplikasi Pasca Pencabutan Gigi	8
2.1.4.1	Perdarahan	8
2.1.4.1.1	Menkanisme Hemostasis	9
2.2	Hemostatik Agen	11
2.2.1	Gelatin	12
2.2.1.1	Klasifikasi Gelatin	13
2.2.1.2	Sifat Fisik dan Kandungan	14
2.3	Luka	14
2.3.1	Proses Penyembuhan Luka	15
2.3.1.1	Fase Inflamasi	16
2.3.1.2	Fase Proliferasi	17
2.3.1.3	Fase Maturasi	18
2.4	Proses Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi	18
2.5	Limfosit	20
2.5.1	Penggolongan Limfosit	21
2.5.2	Peran Limfosit Pada Penyembuhan Luka	24
2.6	Ikan Patin	25
2.6.1	Taksonomi	26
2.6.2	Morfologi	27
2.6.3	Habitat dan Penyebaran	27
2.6.4	Kandungan	27
2.6.5	Gelatin dalam Ikan Patin	28
2.7	Tikus Putih	31
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN		
3.1	Kerangka Konsep	33
3.2	Hipotesis Penelitian	35

**BAB IV METODE PENELITIAN**

4.1	Rancangan Penelitian	37
4.2	Sampel Penelitian	39
4.2.1	Kriteria Sampel Penelitian	39
4.2.2	Jumlah Sampel Penelitian.....	40
4.3	Variabel Penelitian.....	41
4.4	Tempat dan Waktu Penelitian.....	41
4.5	Alat dan Bahan Penelitian	42
4.6	Definisi Operasional	43
4.7	Prosedur Penelitian	45
4.8	Analisa Data	53
4.9	Alur Penelitian	53

BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1	Hasil Penelitian	54
	Analisa Data	59
5.1.1	Uji Normalitas Data.....	59
5.1.2	Uji Homogenitas Ragam.....	59
5.1.3	Uji One way ANOVA	60
5.1.4	Uji Post Hoc Tukey	61
5.1.5	Uji Korelasi Pearson.....	63

BAB VI PEMBAHASAN 65**BAB VII PENUTUP**

7.1	Kesimpulan.....	69
7.2	Saran	70

DAFTAR PUSTAKA.....71**LAMPIRAN**.....77



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Gelatin.....	28
Tabel 2.2 Sifat Fisika dan Kimia Gelatin Ikan Patin.....	29
Tabel 2.3 Asam Amino Gelatin Ikan Patin.....	30
Tabel 5.1 Uji Post Hoc.....	62
Tabel 5.2 Uji Korelasi Pearson.....	63



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Kimia Gelatin.....	13
Gambar 2.2 Proses Penyembuhan Luka Soket Gigi.....	19
Gambar 2.3 Limfosit dengan Pewarnaan HE.....	21
Gambar 2.4 Ikan Patin.....	26
Gambar 2.5 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	31
Gambar 3.1 Kerangka Konsep.....	33
Gambar 5.1 Perbandingan Gambaran Histologi hari ke-3.....	55
Gambar 5.2 Perbandingan Gambaran Histologi hari ke-5.....	56
Gambar 5.3 Perbandingan Gambaran Histologi hari ke-7.....	57
Gambar 5.4 Grafik Rerata Jumlah Limfosit.....	58



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Pernyataan Keaslian Tulisan.....	77
Lampiran 2 Keterangan Kelayakan Etik.....	78
Lampiran 3 Surat Keterangan Identifikasi Ikan Patin.....	79
Lampiran 4 Tabel Uji Statistika.....	80
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian.....	82

DAFTAR ISTILAH, SIMBOL, SINGKATAN

ECM : *Extracellular Matrix* EGF

: *Epithelial Growth Factor*

FGF : *Fibroblas Growth Factor*

HE : *Hematoksin Eosin*

HPA : *Histopatologi Anatomi*

IL-1 : *Interleukin-1*

mRNA : *Messenger Ribonucleic Acid*

PDGF : *platelet – derived growth factor*

PMN : *Polimorfonuclear*



SPSS : *Statistical Product and Service Solution*

TGF- β : Transforming Growth Factor - β

TNF : *Tumor Necrosis Factor*

VEGF : Vascular endothelial growth factor



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencabutan gigi merupakan salah satu pelayanan kesehatan gigi yang sering dijumpai di Indonesia dilakukan oleh seorang dokter gigi. Setelah dilakukan tindakan pencabutan, biasanya sering diikuti adanya komplikasi pasca pencabutan gigi.

Komplikasi pasca pencabutan gigi bisa menjadi masalah serius dan fatal. Tetapi apabila berlebihan maka perlu ditinjau apakah termasuk morbiditas yang biasa terjadi atau termasuk komplikasi.

Komplikasi pencabutan gigi dibagi menjadi tiga yaitu komplikasi intraoperatif, komplikasi pasca bedah, dan komplikasi beberapa saat setelah operasi. Komplikasi intraoperatif berupa pendarahan, fraktur, pergeseran, cedera jaringan lunak, dan cedera saraf.

Sedangkan komplikasi pasca bedah berupa perdarahan, rasa sakit, edema, dan reaksi terhadap obat. Dan yang termasuk komplikasi beberapa saat setelah operasi adalah alveolitis (Gordon PW, 2013).



2

Saat ini kecenderungan masyarakat untuk menggunakan pengobatan tradisional semakin tinggi, sehingga pemanfaatan bahan-bahan alami meningkat, termasuk beberapa jenis tumbuhan dan hewan yang digunakan sebagai obat-obatan tradisional salah satunya dengan menggunakan gelatin. Dalam industri farmasi, gelatin digunakan pada pembuatan cangkang kapsul keras maupun lunak, pengembang plasma dan perawatan luka (Karim dan Bhat, 2009).

Salah satu bahan alami yang dapat membantu proses penyembuhan luka adalah gelatin. Gelatin adalah suatu jenis protein yang di ekstraksi dari jaringan kolagen kulit, tulang atau ligament (jaringan ikat) hewan. Sumber bahan baku gelatin biasanya berasal dari tulang dan kulit sapi dan babi. Gelatin ikan berbeda dengan gelatin mamalia berdasarkan pada suhu leleh, suhu pembentukan gel dan kekuatan gel. Perbedaan tersebut disebabkan oleh perbedaan kandungan asam amino terutama prolin dan hidrokisprolin, keduanya bertanggung jawab pada stabilitas struktur kolagen (Norziah, 2009).

Asam amino yang berpengaruh dalam penyembuhan luka adalah arginin, glutamin dan glisin. Arginin merupakan protein yang baik untuk fungsi imun karena meningkatkan fungsi dari limfosit-T.

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks dan dinamis untuk mengembalikan kontinuitas anatomi dan fungsi jaringan. Proses yang kompleks ini dibagi menjadi tiga fase penyembuhan yang saling tumpang tindih, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi (Torre, 2006). Salah satu fase dalam penyembuhan luka adalah fase inflamasi atau fase peradangan.



Radang adalah reaksi alamiah yang berupa respon vaskuler dan seluler dari jaringan tubuh sebagai reaksi terhadap adanya stimuli. Adanya rangsang akan menyebabkan munculnya respon neurogenik dan humoral (Celloti dan Laufer, 2001).

Limfosit merupakan sel pusat dari sistem imunitas yang mempunyai peranan penting dalam proses peradangan, dengan menghancurkan mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh dan membentuk sebuah pertahanan tubuh berupa *immunoglobulin*.

Limfosit umumnya terdapat di dalam eksudat dalam jumlah sedikit hingga waktu yang cukup lama, seperti proses peradangan yang berlanjut menjadi kronis. Oleh karena itu, limfosit dikategorikan sebagai sel radang kronis (Goldsby, 2003).

Limfosit merupakan sel-sel bulat didalam darah manusia mempunyai diameter yang bervariasi antara 6 sampai 8 μm , walaupun beberapa diantaranya mungkin lebih besar. Kebanyakan hanya lebih besar sedikit dibandingkan eritrosit. Jumlah limfosit adalah 20 sampai 35 persen dari leukosit darah normal. Kebanyakan hanya lebih besar sedikit dibandingkan eritrosit. Jumlah limfosit adalah 20 sampai 35 persen dari leukosit darah normal. Pada jaringan ikat, limfosit merupakan sel yang paling kecil diantara sel bebas, kebanyakan berukuran hanya 7 sampai 8 μm . Mereka memiliki inti bulat, gelap yang hampir memenuhi seluruh sel. Disekitar inti terdapat sedikit sitoplasma homogen yang basofil (Leeson *et al.*, 1996).



4

Tikus putih yang memiliki nama ilmiah *Rattus norvegicus* adalah hewan coba yang sering dipakai untuk penelitian. Hewan ini termasuk hewan nokturnal dan sosial. Salah satu faktor yang mendukung kelangsungan hidup tikus putih dengan baik ditinjau dari segi lingkungan adalah temperatur dan kelembaban (Wolfenshon dan Lloyd, 2013)

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti ingin mengetahui potensi pemberian gelatin ikan patin dalam perubahan jumlah limfosit dalam proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel limfosit pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus wistar putih (*Rattus norvegicus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh pemberian gelatin ikan patin terhadap jumlah limfosit pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus wistar putih (*Rattus norvegicus*).

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini antara lain :

- a. Menghitung jumlah limfosit pada tikus Wistar yang diberi gelatin dan yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*).



b. Membandingkan jumlah limfosit pada tikus Wistar yang diberi gelatin dan yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*).

c. Menganalisis pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap jumlah limfosit pada tikus Wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Menambah pengetahuan tentang pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap jumlah limfosit pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus wistar putih (*Rattus norvegicus*)

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi ilmiah dan alternatif pengobatan kepada masyarakat mengenai penggunaan bahan obat alamiah dari gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) guna menyembuhkan luka pasca pencabutan gigi.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencabutan Gigi

2.1.1 Definisi

Pencabutan gigi merupakan salah satu tindakan perawatan gigi yang sering dilakukan. Pencabutan gigi adalah suatu proses pengeluaran gigi dari alveolus, dimana pada gigi tersebut sudah tidak dapat dilakukan perawatan lagi dan merupakan tindakan bedah minor yang melibatkan jaringan keras dan jaringan lunak pada rongga mulut (Gordon PW, 2013).

Pencabutan gigi yang ideal diupayakan pencabutan tanpa rasa sakit dengan trauma minimal terhadap jaringan pendukung gigi, sehingga bekas pencabutan dapat sembuh dengan sempurna dan tidak terdapat masalah prostetik di masa mendatang (Chandra HM, 2014).

2.1.2 Indikasi Pencabutan Gigi

Indikasi dari pencabutan gigi antara lain persistensi gigi sulung, *supernumerary teeth*, *crowding teeth*, penyakit periodontal yang parah, gigi yang fraktur, terdapat abses periapikal, gigi yang terletak pada garis fraktur, karies yang parah, nekrosis pulpa, gigi impaksi, untuk keperluan perawatan orthodontic, gigi, estetik pada kondisi seperti berwarna karena tetrasiklin atau fluorosis, dan ekonomis jika pasien tidak mau atau tidak mampu secara finansial untuk mendukung keputusan dalam mempertahankan gigi tersebut. (Peterson, 2004).



2.1.3 Kontraindikasi Pencabutan Gigi

Kontraindikasi untuk pencabutan gigi dibagi menjadi duabagian yaitu kontra indikasi lokal dan kontraindikasi sistemik. Kontraindikasi lokal yaitu radang akut, infeksi akut, gigi yang masih dapat dirawat atau dipertahankan dengan perawatan konservasi, endodontik dan sebagainya. Kontraindikasi sistemik yaitu Kelainan jantung, kelainan darah, penyakit syphilis, diabetes melitus, penyakit ginjal, alergi pada anastesi lokal rahang, toxic goiter, kehamilan padatrimester ke-dua karena obat-obatan (Nina, 2012).

2.1.4 Komplikasi Pasca Pencabutan gigi

Berbagai komplikasi seringkali terjadi setelah dilakukan pencabutan gigi. Berdasarkan waktunya, komplikasi dapat terjadi langsung saat operasi seperti kegagalan pemberian anastesi, fraktur, cedera jaringan lunak dan perforasi sinus maksilaris. Kemudian komplikasi beberapa saat setelah operasi seperti edema, perdarahan, nyeri, dan reaksi terhadap obat. Dan komplikasi jauh setelah tindakan operasi seperti *dry socket*, alveolitis dan infeksi. Komplikasi ini dapat dicegah dengan cara menghindari perlukaan pada pembuluh darah dan melakukan tekanan dan klem jika terjadi perdarahan (Gordon PW, 2013).

2.1.4.1 Perdarahan

Perdarahan adalah salah satu komplikasi dalam pencabutan gigi yang sering terjadi. Perdarahan dapat terjadi dan dapat dihubungkan dengan luka pembedahan, akibat medikasi, atau adanya masalah sistemik. Pedlar dan Frame 2001 menyatakan bahwa



10

perdarahan normal pasca pencabutan gigi akan berhenti setelah tidak lebih dari 10 menit. Perdarahan dapat dikontrol dengan diberikan tampon dan dilakukan sedikit penekanan agar terjadi penutupan luka. Perdarahan akan berhenti karena adanya proses hemostasis. Proses hemostasis merupakan upaya tubuh dalam menghentikan perdarahan dengan cara membentuk bekuan darah. Kerusakan jaringan yang terjadi mengakibatkan keluarnya platelet. Proses keluarnya platelet akan menutupi vaskuler yang terbuka dengan membentuk clot atau bekuan darah. Bekuan darah yang terbentuk terdiri dari trombosit dengan jala-jala fibrin dan mengeluarkan zat yang menyebabkan vasokonstriksi serta retraksi ujung dari pembuluh darah yang putus. Proses hemostasis terjadi sangat cepat yaitu selama 5-10 menit (Kumar, 2007).

2.1.4.1.1 Mekanisme Hemostasis

Hemostasis adalah penghentian perdarahan dari suatu pembuluh darah yang rusak yaitu, hemoragia (*hemo* berarti “darah”; *stasis* berarti “berdiri”). Hemostasis melibatkan tiga langkah utama:

(1) *spasme vaskular*, (2) pembentukan sumbat trombosit, dan (3) koagulasi darah (pembentukan bekuan darah). Trombosit berperan kunci dalam hemostasis.

Mekanisme terjadinya proses hemostasis terdiri dari beberapa tahapan, pertama pembuluh darah akan mengalami vasokonstriksi (Guyton and Hall, 2012). Setelah pembuluh darah mengalami suatu kerusakan atau pecah rangsangan dari pembuluh darah menyebabkan dinding pembuluh darah berkontraksi, sehingga



dengan segera aliran darah dari pembuluh yang pecah akan berkurang (Sherwood, 2011; Guyton and Hall 2012).

Tahapan kedua adalah aktivasi trombosit. Pada saat terjadi sebuah kerusakan pembuluh darah, maka trombosit akan mulai membesar, berbentuk ireguler dengan tonjolan-tonjolan yang keluar dari permukaannya, protein kontraktilnya berkontraksi dengan kuat dan menyebabkan pelepasan granula yang mengandung berbagai faktor aktif, sehingga trombosit lengket dan melekat pada serat kolagen, kemudian mensekresi sejumlah besar ADP (*Adenosin Diphosphate*) dan enzim-enzimnya membentuk tromboksan A₂ yang juga disekresikan ke dalam darah. ADP dan tromboksan A₂ kemudian mengaktifkan trombosit yang berdekatan (Guyton and Hall, 2012). Karena sifat trombosit yang lengket maka akan menyebabkan melekatnya trombosit tambahan pada trombosit semula yang sudah aktif.

Fase koagulasi merupakan tahapan ketiga dalam pembekuan darah. Suatu zat atau kompleks zat-zat disebut *activator prothrombine* yang timbul sebagai reaksi terhadap pecahnya pembuluh darah kemudian mengkatalisa perubahan *prothrombine* menjadi *thrombine*. *Thrombine* bekerja sebagai enzim untuk mengubah *fibrinogen* menjadi benang-benang *fibrin* yang menjaring trombosit, sel darah, dan plasma sehingga terjadilah bekuan darah (Guyton and Hall, 2012).

Fase selanjutnya adalah pembentukan jaringan ikat ke dalam bekuan darah untuk menutup lubang pada pembuluh darah secara



12

permanen, fase ini terjadi setelah bekuan darah terbentuk dan menandai berakhirnya proses hemostasis tubuh.

2.2. Hemostatik Agen

Menurut Ganiswarna 2008, Agen hemostatik adalah zat atau obat yang digunakan untuk menghentikan perdarahan. Agen hemostatik dapat dibedakan menjadi:

1. Hemostatik lokal

Berdasarkan mekanisme hemostasisnya dapat dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu:

a. Hemostatik serap

Hemostatik jenis ini menghentikan perdarahan dengan pembentukan suatu bekuan buatan atau menerima jala serat-serat yang mempermudah pembekuan bila diletakkan langsung pada permukaan yang berdarah. Dengan berkontak pada permukaan asing, trombosit akan pecah dan membebaskan faktor yang memulai proses pembekuan darah. Hemostatik golongan ini berguna untuk mengatasi perdarahan kecil saja misalnya kapiler. Termasuk dalam golongan ini antara lain : Spons gelatin, Oksisel (selulosa oksida), Busa fibrin insani (*human fibrin foam*)

b. Astringen

Zat ini bekerja dengan mengendapkan protein darah sehingga perdarahan dapat dihentikan. Kelompok ini digunakan untuk menghentikan perdarahan kapiler.

c. Koagulan



Koagulan dapat menimbulkan hemostatis dengan dua cara yaitu dengan mempercepat perubahan protrombin menjadi trombin dan secara langsung menggumpalkan fibrinogen.

d. Vasokonstriktor

Epinefrin dan norepinefrin mempunyai efek vasokonstriksi yang dapat digunakan untuk menghentikan perdarahan kapiler suatu permukaan.

2. Hemostatik sistemik

Hemostatik sistemik merupakan terapi obat untuk kekurangan atau kelainan faktor pembekuan darah yang dihasilkan sendiri oleh tubuh dapat meliputi: faktor antihemofilik (factor VIII) dan *cryoprecipitated antihemophilic factor*), kompleks factor IX, desmopresin, fibrinogen Insani, vitamin K, asam aminokaproat, dan asam Traneksamat.

2.2.1 Gelatin

Gelatin merupakan salah satu produk turunan protein yang diperoleh dari hasil hidrolisis kolagen hewan yang terkandung dalam tulang dan kulit. Asam aminonya hampir mirip dengan kolagen, dimana glisin merupakan 2/3 dari seluruh asam amino yang menyusunnya, 1/3 asam amino yang tersisa diisi oleh prolin dan hidroksiprolin (Tazwir dkk, 2007).

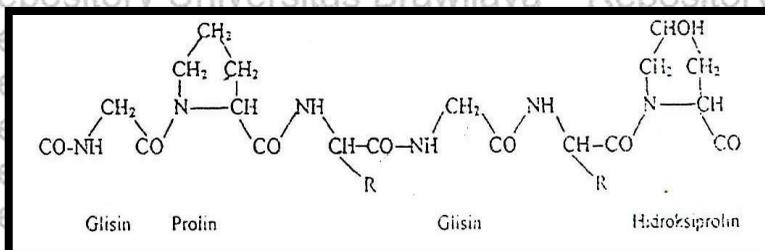
Gelatin dapat dibuat dari bahan yang kaya akan kolagen seperti kulit dan tulang hewan. Selama ini sumber utama gelatin yang banyak dimanfaatkan sapi dan babi. Produksi gelatin dari bahan baku kulit babi mencapai 44%, kulit sapi 28%, tulang sapi 27% dan porsi



14

lainnya 1%, dengan total produksi dunia mencapai 326.000 ton (GME, 2009). Penggunaan tulang dan kulit ikan dapat dijadikan sebagai suatu alternatif untuk mencari sumber gelatin dari kulit dan tulang sapi maupun babi yang dapat menimbulkan masalah sosial pada golongan masyarakat tertentu.

Ikan dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan gelatin. Hal ini dikarenakan pada bagian tertentu dari ikan, misalnya tulang dan kulit, terdapat kolagen yang dengan penambahan perlakuan asam atau alkali serta proses pemanasan menyebabkan kolagen tersebut dapat dikonversi menjadi gelatin. Kandungan kolagen dari ikan keras (Teleostei) berkisar dari 15-17 %, sedangkan pada ikan bertulang rawan (Elasmobranchi) berkisar antara 22-24 % (Nurilmala, 2004)



Gambar 2.1 Struktur Kimia Gelatin (Poppe, 1992)

2.2.1.1 Klasifikasi Gelatin

Gelatin terbagi menjadi dua tipe berdasarkan proses pengolahannya, yaitu tipe A dan tipe B. Dalam pembuatan gelatin tipe A, bahan baku diberi perlakuan perendaman dalam larutan asam sehingga proses ini dikenal dengan sebutan proses asam. Sedangkan dalam pembuatan gelatin tipe B, perlakuan yang diaplikasikan adalah perlakuan basa. Proses ini disebut proses alkali (Utama, 1997).



2.2.1.2 Sifat Fisik dan Kandungan Mineral Gelatin

Gelatin merupakan produk utama dari pemecahan kolagen dengan pemanasan yang dikombinasikan dengan perlakuan asam atau alkali (Bennion, 1980). Jika dipanaskan pada suhu 71°C, gelatin akan larut karena pecahnya agregat molekul dan cairan yang tadinya bebas menjadi terperangkap sehingga larutan menjadi kental. Jumlah gelatin yang dibutuhkan untuk menghasilkan gel yang diinginkan berkisar antara 5-12% tergantung dari kekerasan produk akhir yang diinginkan (Lees dan Jackson, 1983). Mutu gelatin secara umum dapat dinilai dari sifat fisik dan kandungan unsur-unsur mineral tertentu yang terdapat dalam gelatin. Mutu gelatin sangat ditentukan oleh sifat fisik, kimia dan fungsional yang menjadikan gelatin sebagai karakter yang unik. Sifat-sifat fisik gelatin menurut Budavari (1996) antara lain:

1. Tidak berwarna atau agak kuning transparan
2. Rapuh Tidak berbau
3. Tidak memiliki rasa
4. Berbentuk lembaran, serpihan atau tepung
5. Larut dalam air panas, gliserol dan asam asetat
6. Tidak larut dalam pelarut organik

2.3 Luka

Luka adalah kerusakan jaringan tubuh oleh karena jejas fisik ataupun kimia yang mengakibatkan gangguan struktur normal. Luka dapat terjadi akibat kondisi patologis ataupun trauma. Namun luka dapat dibuat untuk tujuan tertentu, seperti luka insisi pada operasi.



Sebagai usaha tubuh untuk menyembuhkan luka maka akan terjadi reaksi inflamasi yang berusaha mengembalikan jaringan luka ke kondisi awal sebelum luka (Peterson, 2004).

2.3.1 Proses Penyembuhan Luka

Penyembuhan jaringan paca terjadinya luka merupakan suatu proses kompleks yang memiliki beberapa tahapan dan terdapat banyak faktor yang berpengaruh di dalamnya baik faktor intrinsic maupun faktor ekstrinsik. Tahapan penyembuhan luka terbagi menjadi 3 tipe yaitu (Mardiyantoro *et al.*, 2018):

a. Penyembuhan Primer

Tipe ini tepi luka akan menyatu sempurna karena tidak ada bagian yang hilang, sehingga penyembuhan akan bergerak dari internal ke eksternal.

b. Penyembuhan Sekunder

Tipe ini terdapat kehilangan sebagian jaringan, sehingga penyembuhan akan dimulai dengan terbentuknya granulasi pada dasar luka hingga ke permukaan. Kasus penyembuhan luka paska ekstraksi gigi akan mengikuti proses penyembuhan tipe ini, dimana terdapat jaringan gigi yang hilang.

c. Penyembuhan Tertier

Tipe ini merupakan penyembuhan luka yang terganggu oleh karena adanya infeksi atau gangguan penyembuhan karena faktor lain, penyembuhan akan berjalan lambat dan lama, bahkan terkadang perlu adanya intervensi bedah untuk melakukan penutupan luka.



Tipe penyembuhan luka yang sekunder dan tertier memiliki risiko terjadinya infeksi lebih besar dibandingkan dengan tipe penyembuhan primer. Hal ini yang memicu berbagai penelitian untuk mendapatkan terapi penunjang agar mempercepat proses penyembuhan.

Proses penyembuhan luka akibat jejas akan melalui beberapa fase. Rangkaian fase penyembuhan luka diawali dengan proses hemostasis, dilanjutkan dengan inflamasi dan proliferasi kemudian diakhiri dengan *remodelling*. Tahapan penyembuhan merupakan rangkaian yang saling tumpang tindih, yaitu memulai proses tana menunggu proses sebelumnya selesai (Mardiyantoro *et al.*, 2018).

2.3.1.1 Fase Inflamasi (*lag phase*)

Pada fase inflamasi terjadi proses hemostasis yang cepat dan dimulainya suatu siklus regenerasi jaringan. Fase inflamasi dimulai segera setelah cidera sampai hari ke-5 pasca cidera. Tujuan utama fase ini adalah hemostasis (Gurtner, 2007).

Makrofag juga akan mengikuti netrofil menuju luka setelah 48-72 jam dan menjadi sel predominan setelah hari ke-3 pasca cidera. Debris dan bakteri akan difagositosis oleh makrofag. Makrofag juga berperan utama memproduksi berbagai *growth factor* yang dibutuhkan dalam produksi matriks ekstraseluler oleh fibroblas dan pembentukan neovaskularisasi. Keberadaan makrofag oleh karenanya sangat penting dalam fase penyembuhan ini (Gurtner, 2007).



18

Limfosit yang muncul dalam jumlah signifikan setelah hari ke-5 setelah cedera, dengan jumlah puncak terjadi sekitar sampai hari ke-7 pasca cedera. Fase ini disebut juga *lag phase* atau fase lamban karena belum ada *tensile strength*, di mana pertautan luka hanya dipertahankan oleh fibrin dan fibronektin. Pada akhir fase inflamasi, mulai terbentuk jaringan granulasi yang berwarna kemerahan, lunak dan granuler. Jaringan granulasi adalah suatu jaringan kaya vaskuler, berumur pendek, kaya fibroblas, kapiler dan sel radang tetapi tidak mengandung ujung saraf (Anderson, 2000).

2.3.1.2 Fase Proliferasi

Fase ini terjadi pada hari ke-3 hingga hari ke-14. Fase ini ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi merupakan kombinasi dari elemen seluler dan sel inflamasi. Fibroblas muncul pertama kali pada hari ke-3 dan mencapai puncaknya pada hari ke-7. Pertumbuhan fibroblas dipacu oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. Fibroblas juga menghasilkan kolagen dalam jumlah yang besar. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ke-3 setelah luka dan meningkat sampai minggu ketiga. Kolagen terus menumpuk sampai 3 bulan (Sudrajat, 2006; Nugroho, 2005).

Pada permukaan luka juga terjadi pembentukan epitel beberapa jam setelah terjadi luka. Epidermis segera mendekati tepi luka dan menebal dalam 24 jam setelah luka. Proses reepitelisasi sempurna terjadi kurang dari 48 jam pada luka sayat yang tepinya



saling berdekatan dan memerlukan waktu lebih panjang pada luka dengan defek yang lebih luas (Nugroho, 2005).

2.3.1.3 Fase Pematangan (*remodeling*)

Proses penyembuhan luka melibatkan remodelling jaringan kulit untuk membentuk daya lentang kulit yang lebih besar. Sel yang terlibat dalam proses ini adalah fibroblas. Remodelling bisa memakan waktu 2 tahun setelah terjadinya luka, sehingga luka yang terlihat telah sembuh dapat rusak kembali dengan cepat bila tidak diperhatikan faktor kausatif awalnya (Keast and Orsted, 2002).

Kontraksi dari luka dan *remodeling* kolagen terjadi pada fase ini. Kontraksi luka terjadi akibat aktivitas miofibroblas, yakni fibroblas yang mengandung komponen mikrofilamen aktin intraseluler. Kolagen tipe III pada fase ini secara gradual digantikan oleh kolagen tipe I dengan bantuan *matrix metalloproteinase* (MMP) yang disekresi oleh fibroblas, makrofag dan sel endotel. Sekitar 80% kolagen pada kulit adalah kolagen tipe I yang memungkinkan terjadinya *tensile strength* pada kulit (Gurtner, 2007).

2.4 Proses Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi

Penyembuhan luka merupakan proses biologis yang penting, termasuk perbaikan jaringan dan regenerasi. Meliputi sel darah, sitokin, dan faktor pertumbuhan yang mengembalikan ke kondisi normal dari jaringan yang terluka (O'Leary, 2007).

Setelah gigi dicabut, darah mulai mengisi soket bekas ekstraksi, kemudian proses pembekuan darah mulai terjadi. Proses ini akan menghasilkan jaringan fibrin yang mengandung sel darah



20

merah yang terjebak dan menutup pembuluh darah yang rusak dan mengecilkan ukuran luka ekstraksi. Pembentukan bekuan darah dimulai saat pertama terjadi luka yaitu sekitar 24 jam sampai 48 jam dengan diikuti dilatasi pembuluh darah, kemudian terjadi migrasi leukosit dan pembentukan lapisan fibrin. Pada minggu pertama, bekuan darah akan membentuk *temporary scaffold* saat sel inflamasi bermigrasi. Epitel pada luka perifer menutupi permukaan bekuan darah, kemudian osteoklas terakumulasi sepanjang *alveolar bone crest*, dan mengatur tahap resorpsi *crest* yang aktif. Proses angiogenesis terjadi pada bekas ligamen periodontal. Pada minggu kedua, bekuan darah berlanjut ke tahap fibroplasia dan pembuluh darah baru berpenetrasi melalui bagian tengah bekuan darah. Trabekula osteoid akan memanjang dari bekuan darah ke alveolus, dan resorpsi osteoklas akan terjadi pada margin kortikal. Pada minggu ketiga, soket bekas ekstraksi akan diisi jaringan granulasi dan pembentukan tulang terjadi pada tepi luka. Permukaan luka mengalami re-epitelisasi dengan pembentukan minimal scar atau bahkan tanpa pembentukan scar. Fase remodeling aktif dengan deposisi dan resorpsi berlangsung selama beberapa minggu (Andersson, 2014).



Gambar 2.2 Proses Penyembuhan Luka Soket Gigi (Salunkhe, 2015)



2.5 Limfosit

Limfosit merupakan suatu famili sel yang berbentuk sferis (bulat) dengan karakteristik morfologi yang sama. Limfosit dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok berdasarkan molekul-molekul permukaan yang mencolok (penanda), yang dapat dikenali dengan metode imunositokimia. Limfosit juga memiliki berbagai peran fungsional, dan semuanya berhubungan dengan reaksi imun dalam pertahanan terhadap serangan mikroorganisme, makro molekul asing, dan sel-sel kanker (Junqueira *et al.*, 2007).

Limfosit merupakan sel utama pada sistem getah bening, memiliki ukuran yang relatif lebih kecil daripada makrofag dan neutrofil. Neutrofil memiliki umur tidak lebih dari 7-10 hari (Ibad, 2008). Limfosit memiliki rentang usia sekitar 100-300 hari. Selama periode ini, sebagian besar dari sel-sel ini secara kontinu beredar diantara jaringan limfoid, limfe, dan darah dengan menghabiskan waktu beberapa jam saja didalam darah. Dengan demikian, hanya sebagian kecil limfosit total yang transit di darah setiap waktu tertentu (Sherwood, 2011).

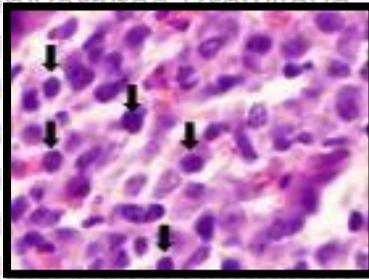
Limfosit merupakan sel-sel bulat didalam darah manusia mempunyai diameter yang bervariasi antara 6 sampai 8 μm , walaupun beberapa diantaranya mungkin lebih besar. Kebanyakan hanya lebih besar sedikit dibandingkan eritrosit. Jumlah limfosit adalah 20 sampai 35 persen dari leukosit darah normal. Pada jaringanikat, limfosit merupakan sel yang paling kecil diantara sel bebas, kebanyakan berukuran hanya 7 sampai 8 μm . Mereka memiliki inti



bulat, gelap yang hampir memenuhi seluruh sel. Disekitar inti terdapat sedikit sitoplasma homogen yang basofil (Leeson *et al.*, 1996).

Limfosit biasanya tidak banyak terdapat dalam jaringan ikat, tetapi banyak pada jaringan ikat dibawah epitel pembatas saluran cerna dan saluran napas. Kebanyakan limfosit dalam jaringan ikat longgar diduga berasal dari sirkulasi darah. Pada biakan jaringan, limfosit terbentuk didalam jaringan ikat dan menetap disana (Leeson *et al.*, 1996).

Gambar 2.3: Limfosit dengan pewarnaan HE (Marques *et al.*, 2016)



2.5.1 Penggolongan Limfosit

1. Limfosit kecil

Limfosit kecil mendominasi dalam darah, memiliki inti sferis yang mana terlihat lekukan kecil pada salah satu intinya yang bulat, kromatinnya padat dan tampak sebagai gumpalan kasar, sehingga inti lebih terlihat gelap pada sajian biasa. Sitoplasmanya sangat sedikit dan pada hapusan darah tampak sebagai tepian tipis disekitar inti. Limfosit hidup bersifat motil dan dapat menyusup diantara sel-sel endotel pembuluh darah. Mereka juga mampu bermigrasi melalui



epitel basal lainnya. Berdasarkan sifat fungsionalnya limfosit kecil digolongkan dalam dua kelompok besar yaitu:

a. Limfosit T

Limfosit-T timbul dari dalam sel induk sumsum tulang yang bermigrasi di timus. Kemudian berdiferensiasi menjadi sel T dewasa dan meninggalkan timus. Sel T matur ikut aliran darah dan aliran limfe torakal dan juga berada di jaringan limfoid perifer. Sel T ini mengarahkan beragam unsur imunitas selular juga penting untuk menginduksi imunitas humoral yang berasal dari sel B terhadap antigen. Sel T berjumlah 60%-70% dari limfosit dalam sirkulasi darah dan juga merupakan tipe limfosit utama dalam selaput periarteriol limpa (Robbins *et al.*, 2007). Limfosit T bertanggung jawab dalam pembentukan limfosit teraktivasi yang dapat membentuk imunitas diperantai sel. Ketika terpapar antigen yang sesuai, limfosit T akan berproliferasi dan melepaskan banyak sel T yang teraktivasi, yang kemudian akan masuk ke dalam sirkulasi dan disebarkan keseluruh tubuh, melewati dinding kapiler masuk ke dalam cairan limfe dan darah, dan bersirkulasi keseluruh tubuh demikian seterusnya, kadang-kadang berlangsung sampai berbulan-bulan atau bahkan bertahun-tahun (Guyton and Hall, 2012). Respon sel T



terhadap antigen sangat bersifat spesifik, sama seperti respon antibodi sel B. Pada kenyataannya respon imun adaptif membutuhkan bantuan sel T untuk memulainya dan sel T berperan penting untuk membantu melenyapkan patogen yang masuk. Ada tiga kelompok utama dari sel T yaitu sel T pembantu, sel T sitotoksik dan sel T supresor (Guyton and Hall, 2012).

b. Limfosit B

Limfosit B merupakan kelompok limfosit yang bertanggung jawab dalam pembentukan antibodi yang memberikan imunitas humoral. Limfosit B ini mula-mula diolah lebih dahulu dalam hati selama masa pertengahan kehidupan janin dan sesudah dilahirkan. Kemudian sel ini bermigrasi ke jaringan limfoid diseluruh tubuh dimana mereka menempati daerah yang sedikit lebih kecil daripada limfosit-T (Guyton and Hall, 2012). Menurut Leeson *et al* (1996), limfosit ini bertugas untuk memproduksi antibodi (humoral antibody response) yang beredar dalam peredaran darah dan mengikat secara khusus dengan antigen asing yang menyebabkan terbentuknya antigen asing terikat antibodi (*Antibody-Coated Foreign Antigen*). Kompleks ini mempertinggi kemampuan fagositosis dan penghancuran oleh sel pembunuh ("*Nature Killer cell* atau *NK cell*") dari organisme yang menyerang. Jumlah



limfosit B dalam total limfosit normal pada manusia adalah sekitar 15 %. Nilai limfosit B mendapat rangsangan yang sesuai, akan membelah diri beberapa kali dan berdiferensiasi menjadi sel plasma dalam jaringan dan menghasilkan immunoglobulin.

2. Limfosit Sedang

Menurut Leeson *et al* (1996) limfosit sedang mempunyai ukuran 10-12 μm , dengan inti besar, eukariotik, sitoplasma lebih banyak dan mengandung retikulum endoplasma.

3. Limfosit Besar

Limfosit besar memiliki inti yang sedikit lebih besar dari limfosit kecil. Intinya bulat atau bengkok kecil pada salah satu sisinya. Pada mulanya sangat sulit membedakan limfosit besar dan monosit yang sepintas agak mirip. Namun pada umumnya limfosit besar pada umumnya lebih sedikit kecil dari monosit dan jumlah sitoplasmanya tidak sebanyak pada monosit, dan meskipun intinya mungkin berlekuk kecil, tidak pernah berbentuk ginjal seperti pada monosit. Dilain pihak, bila dibandingkan dengan limfosit kecil, limfosit besar memiliki lebih banyak sitoplasma dan tinggionkat basofilia sitoplasma yang seimbang (Junqueira *et al.*, 2007).

2.5.2 Peran Limfosit pada Inflamasi dan Penyembuhan Luka

Limfosit merupakan sel yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Jumlah limfosit meningkat pada inflamasi kronis, karena limfosit bermigrasi ke daerah luka pada hari ke-1, kemudian



jumlahnya akan memuncak di hari ke-3 sampai ke-6. Peran limfosit pada inflamasi kronis adalah sebagai respon humoral dan seluler (Kumar *et al.*, 2013). Limfosit yang berperan dalam respon imun humoral adalah limfosit B dan yang berperan dalam respon imun seluler adalah limfosit T. Peran limfosit adalah melepaskan limfokin yang sangat berpengaruh pada proses inflamasi. Limfokin mempengaruhi agregasi dan kemotaksis makrofag dalam proses penyembuhan luka (Miksusanti, 2010).

Sel polimorfonuklear (PMN) merupakan sel inflamasi pertama yang bermigrasi menuju area luka, kemudian digantikan oleh sel mononuklear atau makrofag yang infiltrasinya dipacu oleh limfosit (Miksusanti, 2010). Limfosit mengikat antigen, lalu akan teraktivasi dan mengeluarkan limfokin; salah satunya IFN- γ . Limfokin berperan dalam stimulasi dan aktivasi makrofag dalam melakukan fagositosis. Makrofag bertugas untuk memfagosit jejas dan sel PMN yang sudah mengalami apoptosis. Makrofag yang teraktivasi akan melepaskan sitokin, yaitu IL-1 dan TNF yang akan mengaktivasi limfosit. Limfosit dan makrofag saling merangsang satu sama lain secara persisten untuk mampu menghilangkan agen antigen pemicu dan sel fibroblas telah membentuk jaringan baru yang kuat (Kumar *et al.*, 2013).

2.6 Ikan Patin

Ikan patin merupakan salah satu jenis ikan air tawar asli Indonesia yang tersebar di sebagian wilayah Sumatera dan Kalimantan (Djarjah, 2001). Jenis-jenis ikan patin di Indonesia



sangat banyak, antara lain *Pangasius pangasius* atau *Pangasius jambal*, *Pangasius humeralis*, *Pangasius lithostoma*, *Pangasius nasutus*, *pangasius polyuranodon*, *Pangasius nienwenhuisii*. Sedangkan *Pangasius sutchi* dan *Pangasius hypophthalmus* yang dikenal sebagai jambal siam atau lele Bangkok merupakan ikan introduksi dari Thailand (Kordi, 2005).

2.6.1 Taksonomi

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Sub Phylum : Vertebrata

Kelas : Pisces

Sub-kelas : Teleostei

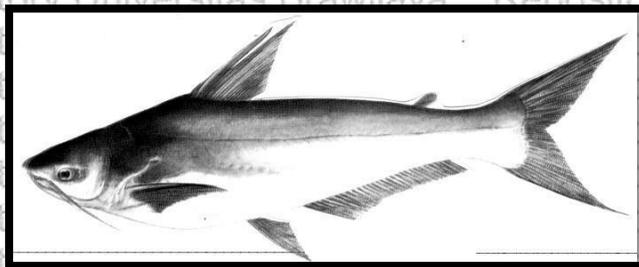
Ordo : Ostariophysi

Sub-ordo : Siluroidae

Famili : Pangasidae

Genus : *Pangasius*

Spisies : *Pangasius djambal* (Kordi, 2005)



Gambar 2.4 Ikan patin (*P. djambal*) (Ghufran, 2010)



2.6.2 Morfologi

Ikan patin mempunyai bentuk tubuh memanjang, berwarna putih perak dengan punggung berwarna kebiruan. Ikan patin tidak memiliki sisik, kepala ikan patin relatif kecil dengan mulut terletak diujung kepala agak ke bawah. Hal ini merupakan ciri khas golongan catfish. Panjang tubuhnya dapat mencapai 120 cm. Sudut mulutnya terdapat dua pasang kumis pendek yang berfungsi sebagai peraba. Sirip punggung memiliki sebuah jari-jari keras yang berubah menjadi patil yang besar dan bergerigi di belakangnya, sedangkan jari-jari lunak pada sirip punggungnya terdapat 6–7 buah (Kordi, 2005).

2.6.3 Habitat dan Penyebaran

Habitat ikan patin adalah di tepi sungai – sungai besar dan di muara – muara sungai serta danau. Dilihat dari bentuk mulut ikan patin yang letaknya sedikit agak kebawah, maka ikan patin termasuk ikan yang hidup di dasar perairan. Ikan patin sangat terkenal dan digemari oleh masyarakat karena daging ikan patin sangat gurih dan lezat untuk dikonsumsi (Ghufran, 2010). Kelangsungan hidup ikan sangat dipengaruhi oleh kualitas air. Karena air sebagai media tumbuh sehingga harus memenuhi syarat dan harus diperhatikan kualitas airnya, seperti: suhu, kandungan oksigen terlarut (DO) dan keasaman (pH). Air yang digunakan dapat membuat ikan melangsungkan hidupnya (Effendi, 2003).

2.6.4 Kandungan





Ikan patin hidup di alam bebas dan biasanya bersembunyi di dalam liang liang di tepi sungai atau kali. Ikan ini baru keluar dari liang persembunyiannya pada malam hari atau ketika hari mulai gelap. Hal ini sesuai dengan sifat hidupnya yang *nocturnal* (aktif pada malam hari). Dari segi rasa, daging ikan patin memiliki karakteristik yang khas. Dari semua jenis ikan keluarga lele-lelean, ikan patin merupakan jenis unggulan dan paling dicari. Dari segi kandungan gizi, nilai protein daging ikan patin cukup tinggi yaitu mengandung 68,6% kandungan lemak sekitar 5,85%, abu 3,5% dan air 59,3% (Dewi, 2011).

2.6.5 Gelatin dalam Ikan Patin

Ratnasari *et al.*, (2013) dalam penelitiannya membandingkan gelatin yang di ekstrak dari beberapa jenis ikan air tawar antara lain ikan patin (*pangas catfish*), ikan lele Asia ekor merah (*Asian redtail catfish*), ikan nila (*nile tilapia*), ikan *snakehead murrel* (*striped snakehead*) dengan gelatin komersial atau gelatin di pasaran yang tertera pada tabel berikut.

Tabel 2.1 Komposisi Gelatin (Ratnasari, et.al., 2013)

Komposisi	<i>Gelatin Ikan Patin</i>	Gelatin Komersial
Kelembaban (RH)	2,840±0,003	4,543±0,07
Protein (%)	87.10±0,99	78.79±0,85
Abu (%)	0.055±0.02	0.377±0.12



30

Lemak (%)	0.002 ^{ns} ± 0.03	0.000 ^{ns} ± 0.00
Penampakan warna	Putih	Kuning pucat
Nilai warna (b*)	64,67 ± 0,06	61,73 ± 0,06

*ns = *not spesific* (tidak spesifik)

Hasil dari penelitian Ratnasari *et al.*, (2013) didapatkan bahwa gelatin yang diekstrak dari ikan patin (*Pangasius sp*) menunjukkan sifat fisika-kimia serta kandungan asam amino yang tinggi, hampir mendekati kandungan gelatin komersial. Selain itu gelatin ikan patin memiliki kandungan protein paling tinggi dibandingkan dengan ketiga jenis gelatin ikan tawar lainnya dangelatin komersial. Hal ini menunjukkan bahwa ikan patin berpotensi menghasilkan gelatin berkualitas tinggi yang dapat digunakan untuk menggantikan gelatin yang berasal dari mamalia.

Tabel 2.2 Sifat Fisika-Kimia Gelatin Ikan Patin (Ratnasari, et.al., 2013)

Sifat	Ikan Patin	Gelatin Komersial
Kekuatan gel (g)	273,58 ± 3,54	283,79 ± 3,54
Viskositas (cP)	36,5 ± 0,21	39,5 ± 0,1
Titik isoelektrik (Ip)	5,1 ± 0,06	5,0 ± 0,006
pH	5,8 ± 0,0	6,2 ± 0,06
Titik leleh (°C)	32,0 ± 00	35,0 ± 0,0



Titik gel ($^{\circ}\text{C}$)	12,0 \pm 0,0	16,0 \pm 0,0
Temperatur leleh ($^{\circ}\text{C}$)	29,0 \pm 0,0	34,0 \pm 0,0
Kelarutan (%)	99,4 \pm 0,003	99,6 \pm 0,002

Berikut adalah tabel kandungan asam amino dalam gelatin ikat patin dan gelatin komersial.

Tabel. 2.3 Asam Amino Gelatin Ikan Patin (Ratnasari dkk, 2013)

Asam Amino (mg/g gelatin)	Ikan Patin	Gelatin Komersial
Glutamin	83,81	70,51
Glisin	167,31	147,75
Arginin	70,19	65,13

Asam amino yang berpengaruh dalam penyembuhan luka adalah arginin, glutamin dan glisin. Arginin adalah asam amino non- esensial yang berperan dalam mengatur jalur untuk pertumbuhan sel jaringan, replikasi dan perbaikan. Arginin merupakan protein yang baik untuk fungsi imun karena meningkatkan fungsi dari limfosit-T. Sedangkan glutamin adalah asam amino non-esensial yang digunakan sel inflamasi dalam luka untuk proliferasi sel dan dapat menstimulasi kolagen. Sel fibroblas menggunakan glutamin untuk membantu proses proliferasi dan sumber energi serta sintesis asam nukleat (Amstrong *et al*, 2014). Glisin dalam protein memiliki peran sebagai bahan pembentuk sel darah dan kolagen (Reksoprojo dkk, 2010).



32

2.7 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih yang memiliki nama ilmiah *Rattus norvegicus* adalah hewan coba yang sering dipakai untuk penelitian. Hewan ini termasuk hewan nokturnal dan sosial. Salah satu faktor yang mendukung kelangsungan hidup tikus putih dengan baik ditinjau dari segi lingkungan adalah temperatur dan kelembaban. Temperatur yang baik untuk tikus putih yaitu 19°C – 23°C, sedangkan kelembaban udara yang baik yaitu 40-70 % (Wolfenshon dan Lloyd, 2013).

Klasifikasi dari tikus putih:

Kingdom : *Animalia*

Phylum : *Chordata*

Subphylum : *Vertebrata*

Class : *Mammalia*

Ordo : *Rodentia*

Family : *Murida*

Genus : *Rattus*

Species : *Norvegicus*



Gambar 2.5 Tikus Putih (Robirukmana 2012)



Tikus laboratorium adalah spesies tikus *rattus norvegicus* yang³³ dibesarkan dan disimpan untuk penelitian ilmiah. Tikus laboratorium telah digunakan sebagai model hewan yang penting untuk penelitian dibidang psikologi, kedokteran dan bidang lainnya. Selama bertahun-tahun, tikus telah digunakan dalam banyak penelitian eksperimen yang telah menambah pemahaman kita tentang genetika, penyakit, pengaruh obat-obatan, dan topik lain dalam kesehatan dan kedokteran. Para ilmuwan telah memunculkan banyak strain atau galur tikus khusus untuk eksperimen. Sebagian besar berasal dari tikus *Wistar albino*, yang masih digunakan secara luas.

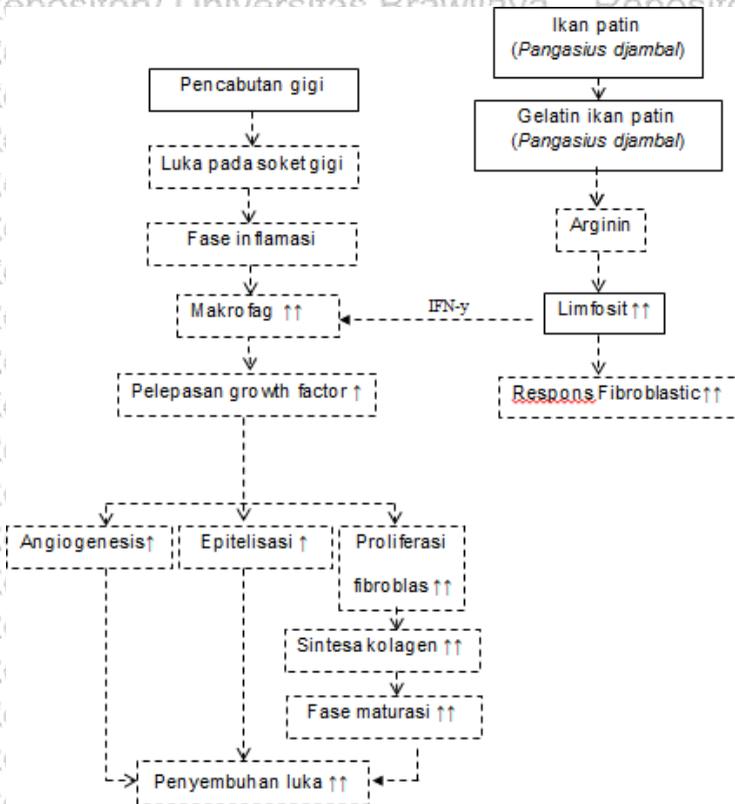


34

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Keterangan :



: Proses yang diteliti



: Proses yang tidak diteliti

: Tahapan proses



Proses pencabutan gigi akan menyebabkan luka pada soket gigi. Respon seluler berupa peradangan, pada fase inflamasi terjadi infiltrasi makrofag, limfosit dan neutrofil menuju luka. Gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) merupakan protein dari hidrolisis kolagen ikan patin. Gelatin ikan patin mengandung berbagai asam amino yang berperan dalam proses penyembuhan luka. Arginin adalah asam amino basa yang berperan penting dalam fisiologi seluler sangat penting pertumbuhan berbagai sel yang dapat meningkatkan sistem imun, meningkatkan aktivitas mitogenik limfosit darah perifer dan sangat mengurangi kerusakan pasca-trauma pada blastogenesis limfosit. Limfosit melepaskan IFN- γ (*interferon- γ*) yang berpengaruh terhadap agregasi makrofag. Makrofag menuju tempat terjadinya luka dan berperan dalam memproduksi sitokin untuk mengaktifkan growth factor. Selanjutnya fase maturase, terjadi akumulasi kolagen serta remodeling jaringan. Kolagen merupakan cikal bakal jaringan yang baru, peningkatan kolagen disertai dengan proses angiogenesis (regenerasi pembuluh darah) dan pembentukan epitel baru sehingga terjadi penyembuhan luka.

Arginin telah terbukti penting untuk diferensiasi limfosit sumsum tulang. Tikus yang memiliki respons penyembuhan luka yang secara signifikan terganggu dibandingkan dengan hewan normal. Oleh karena itu dimungkinkan bahwa arginin meningkatkan respons penyembuhan luka dengan merangsang respon sel inang dan sel T yang kemudian meningkatkan respons fibroblastik yaitu fungsi



Repository Universitas Brawijaya
limfosit sehingga dapat berperan untuk mempercepat penyembuhan luka (Witte and Barbul, 2018).

3.2 Hipotesis Penelitian

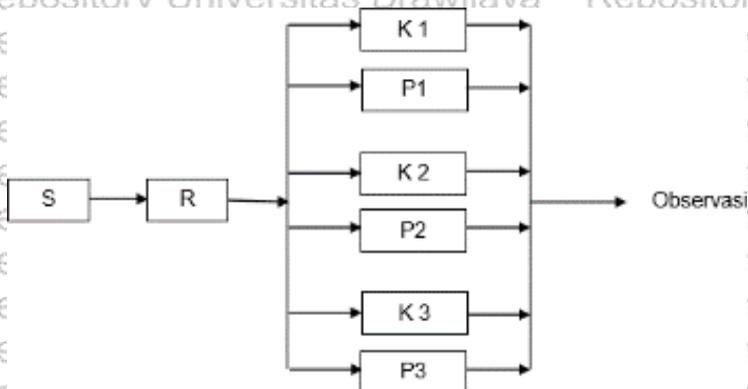
Terdapat pengaruh gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap jumlah limfosit pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental murni (*True Eksperimental Design*) dengan *post test only control group* atau *Post Test Only Randomized Control Group Design* secara *in-vivo*. Jenis penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap peningkatan jumlah limfosit pada proses penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi tikus wistar putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian akan dibagi dalam 2 kelompok dengan 3 *time series*. Sampel dipilih dengan menggunakan teknik "*Simple Random Sampling*". Berikut merupakan desain penelitian:



Keterangan:

S = *Sample*

R = *Random*



K 1 = Kelompok kontrol 1 tanpa diberi perlakuan berupa pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100mg/ml pada soket gigi pasca pencabutan gigi pada hari ke-3.

P 1 = Kelompok perlakuan 1 diberi perlakuan berupa pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100mg/ml pada soket gigi pasca pencabutan gigi pada hari ke-3.

K 2 = Kelompok kontrol 2 tanpa diberi perlakuan berupa pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100mg/ml pada soket gigi pasca pencabutan gigi pada hari ke-5.

P 2 = Kelompok perlakuan 2 diberi perlakuan berupa pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100mg/ml pada soket gigi pasca pencabutan gigi pada hari ke-5.

K 3 = Kelompok kontrol 3 tanpa diberi perlakuan berupa pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100mg/ml pada soket gigi pasca pencabutan gigi pada hari ke-7.

P 3 = Kelompok perlakuan 3 diberi perlakuan berupa pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100mg/ml pada soket gigi pasca pencabutan gigi pada hari ke-7.



4.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah hewan percobaan berupa tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur wistar jantan yang dipelihara di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Tikus galur Wistar dipilih sebagai populasi karena merupakan hewan coba yang tergolong jinak, mudah perawatannya, fungsi metabolismenya mirip dengan manusia, dan dapat diperoleh dalam jumlah banyak.

4.2.1 Kriteria Sampel Penelitian

Kriteria inklusi sampel penelitian yang digunakan yaitu:

1. Jenis kelamin jantan (untuk menghindari efek hormonal yang lebih dominan pada tikus betina)
2. Berat badan tikus 200-300 gram
3. Usia 2-3 Bulan
4. Keadaan umum tikus sehat yang ditandai dengan gerakannya yang aktif, mata jernih dan bulu mata yang tebal dan berwarna putih mengkilap
5. Diadaptasikan 7 hari

Kriteria eksklusi sampel penelitian yang digunakan, yaitu:

1. Tikus yang mengalami infeksi selama penelitian berlangsung
2. Tikus yang mengalami penurunan berat badan secara drastis jika dibandingkan dari awal penelitian hingga saat akan didekaputasi (<200-300 gr)



3. Tikus dengan pencabutan gigi tidak sempurna
4. Tikus yang mati selama penelitian berlangsung.

4.2.2 Jumlah Sampel Penelitian

Teknik randomisasi untuk pengelompokan perlakuan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) mengingat baik hewan coba, bahan pakan dan bahan penelitian lainnya adalah homogen. Pada rancangan ini dimungkinkan setiap hewan coba mempunyai kesempatan menjadi sampel dalam kelompok perlakuan atau kelompok kontrol.

Besar sampel yang digunakan pada penelitian berdasarkan rumus Federer (1963), yaitu :

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

Keterangan:

n = jumlah pengulangan penelitian

t = jumlah kelompok

Penelitian ini memiliki jumlah kelompok yang akan diuji adalah 6 (t=6), oleh karena itu perhitungan menjadi:

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

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

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

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Jadi dalam penelitian ini digunakan minimal 5 sampel untuk masing-masing kelompok. Penelitian ini menggunakan 4 ekor tikus dengan 1 ekor tikus cadangan pada setiap kelompoknya untuk



42

mengurangi kehilangan sampel di tengah penelitian karena tikus mati.

Terdapat 6 kelompok yang akan di dekapitulasi dan diambil sampel rahang pada waktu yang berbeda, maka jumlah sampel menjadi 30 ekor tikus putih.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas atau Independen

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*).

4.3.2 Variabel Terikat atau Dependen

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah limfosit pada luka soket gigi pasca pencabutan gigi tikus.

4.3.3 Variabel Terkendali

a. Hewan coba (Tikus Wistar)

Jenis kelamin coba, berat badan hewan coba, usia hewan coba, makan dan minum hewan coba

b. Teknik pencabutan gigi hewan coba

c. Pemilihan dan pengambilan gelatin ikan patin

d. Jumlah sampel bahan percobaan yang dimasukkan kedalam soket gigi tikus pasca ekstraksi gigi

e. Pengambilan preparat jaringan

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Patologi Anatomi, Laboratorium FTP, dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini akan dilakukan selama kurang lebih 3 bulan.



4.5 Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat dan bahan pembuatan gelatin ikan patin

Kulit ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100%, masker, sarung tangan, timbangan analitik (neraca Ohaus), glass beaker, glass erlenmeyer, glass ukur, kantong plastik jenis PE (Poly Ether), telenan, loyang, pisau/gunting, baskom, wadah tertutup, termometer, shaker water bath, air suling, kain saring Whatman no. 1, kulkas, air lemon, larutan asam sitrat 1%, kertas lakmus dan aquadest.

2. Alat dan Bahan untuk Pencabutan Gigi

Tikus putih jantan galur Wistar umur 2-3 bulan dengan berat badan 250-300 gram, masker, sarung tangan, *needle holder* modifikasi, *lecron* modifikasi, dan anastesi ketamine dengan dosis 1000 mg/10 mL.

3. Alat dan bahan perlakuan

Tikus putih galur Wistar (*Rattus norvegicus*) umur 2-3 bulan dengan berat 250-300 gram, gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100%, jarum jahit, benang jahit, gunting bedah, pinset bedah, sonde gastrik, cotton bud, *scalpel* no. 11, toples kaca yang sudah diberi label untuk fiksasi, masker, dan sarung tangan.

4. Alat dan bahan pengambilan jaringan dan pembuatan preparat



Masker, sarung tangan, eter, *scalpel* no. 11, *microtom*, kaca obyek dan penutup, blok *paraffin*, *waterbath*, tempat pewarnaan dan cucian, kertas saring, timer, formalin 10%, *acetone*, *xylol*, kuas kecil, gelatin, alkohol 96%, pewarna *Haematoxylin* dan *Eosin Lithium carbonat*.

4.6 Definisi Operasional

1. Gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*)

Gelatin ikan patin adalah gelatin yang didapat dari kulit ikan patin (*Pangasius djambal*) konsentrasi 100%, dibuat dengan metode modifikasi tanpa proses pengeringan (Ratnasari, 2013).

2. Sel Limfosit

Limfosit merupakan sel-sel bulat didalam darah manusia mempunyai diameter yang bervariasi antara 6 sampai 8 μm , walaupun beberapa diantaranya mungkin lebih besar. Kebanyakan hanya lebih besar sedikit dibandingkan eritrosit. Jumlah limfosit adalah 20 sampai 35 persen dari leukosit darah normal. Identifikasi sel limfosit dengan pewarnaan HE yaitu, inti berbentuk bulat dan besar dibandingkan dengan sel hampir memenuhi sitoplasma. Limfosit berwarna ungu gelap yang hampir memenuhi seluruh sel. Limfosit merupakan sel-sel mononuklear yang sitoplasmanya tidak mengandung granula-granula terwarnai spesifik (Leeson *et al.*, 1996).



3. Penghitungan sel imfosit

Jumlah sel limfosit dihitung secara manual menggunakan mikroskop digital dengan perbesaran 400x untuk setiap 5 lapang pandang yang didapat dari preparat soket alveolar tikus Wistar (Leeson *et al.*, 1996).

4. Pencabutan gigi

Gigi tikus yang dicabut adalah gigi insisivus kiri rahang bawah tikus putih. Pemisahan akar gigi tikus dari gingiva menggunakan lecron modifikasi dan pengambilan gigi tikus dari gingiva menggunakan needle holder modifikasi. Prosedur pencabutan didahului dengan anestesi secara intra peritoneal menggunakan alcohol 70%. Kemudian diberikan injeksi anestesi dengan menggunakan ketamine 1000 mg/10 mL agar tikus tidak merasa sakit dan mudah penanganannya. Anestesi akan bekerja kurang lebih 3 menit setelah injeksi dan efek akan hilang kurang lebih setelah satu jam. Pencabutan gigi dilakukan searah dengan soket gigi dan dilakukan secara hati-hati dengan kekuatan yang sama untuk meminimalisir patahnya gigi. (Widyastomo, 2013).

5. Soket gigi

Soket gigi adalah lubang pada tulang alveolar rahang bawah tempat melekatnya akar gigi insisivus kiri rahang



bawah tikus Wistar jantan. Bagian tengah dari soket mandibula dipotong untuk pembuatan sediaan histologi.

4.7 Prosedur Penelitian

1. Persiapan Hewan Coba

- a. Hewan coba (tikus) diseleksi sesuai dengan kriteria sampel.
- b. Tikus dipelihara dan diadaptasikan dalam kandang selama 7 hari dalam box plastik berukuran $15 \times 30 \times 42 \text{ cm}^2$ dengan suhu ruang ($22-25^\circ\text{C}$) pada temperatur konstan ($20-25^\circ\text{C}$) dengan 12 jam siklus terang gelap dan ditutup dengan kawat kassa dengan dasar sekam yang diganti setiap minggu.
- c. Kebutuhan makan dan air putih PDAM harus terpenuhi. Kebutuhan makan tikus dewasa adalah 10-20gr/hari dengan pellet, sedangkan kebutuhan minuman tikus yaitu 20-45 ml/hari/ekor dua kali sehari setiap jam 08.00 dan 15.00 WIB.
- d. Tikus dipuaskan selama 12-18 jam sebelum perlakuan, namun air putih mentah tetap diberikan. Berat badan tikus ditimbang dan dikelompokkan menjadi 6 kelompok secara acak dengan jumlah masing-masing kelompok adalah 4 ekor tikus kemudian berat tikus ditimbang lagi sebelum



dilakukan pencabutan, dimana berat yang dibutuhkan adalah 250-300 gram.

2. Prosedur Pembuatan Gelatin Ikan Patin

- a. Kulit ikan patin diambil dan dipisahkan dari daging dan lemak yang menempel pada kulit kemudian disimpan dalam suhu -20°C .
- b. Ikan patin yang telah disimpan dicairkan dalam suhu ruangan dan dipotong menjadi ukuran sekitar 1cm^3 .
- c. Kulit ikan patin dibilas dengan air lemon untuk menghilangkan material selain kulit ikan.
- d. Sampel 100 gram ikan patin dibilas dan direndam dalam larutan asam sitrat selama 12 jam untuk mencairkan serabut kolagen menjadi serat-serat/fibril sehingga mudah diekstraksi.
- e. Sampel dinetralkan dengan cara pencucian beberapa kali hingga air cucian berada pada pH netral (6-7).
- f. Kulit patin diekstraksi menggunakan shaker water bath dengan air suling dalam suhu 60°C selama 6 jam.
- g. Larutan gelatin dipisahkan dari kulit sisa dengan menggunakan kain saring Wathman no.1.
- h. Larutan gelatin didinginkan pada suhu ruang hingga gel gelatin terbentuk.



3. Pencabutan Gigi Tikus

Sebelum dilakukan pencabutan gigi insisivus kiri rahang bawah tikus putih, dilakukan anestesi dilakukan secara intra peritoneal pada tikus dengan didahului desinfeksi jaringan pada daerah perut yang akan dianestesi intra peritoneal menggunakan alcohol 70%. Kemudian diberikan injeksi anestesi dengan menggunakan ketamine 1000 mg/10 mL agar tikus tidak merasa sakit dan mudah penanganannya. Anestesi diinjeksikan secara intra peritoneal pada perut dan diaspirasi. Jika jarum sudah ditempatkan di tempat yang benar kemudian dideponirkan. Anestesi akan bekerja kurang lebih 3 menit setelah injeksi dan efek akan hilang kurang lebih setelah satu jam. Pemisahan akar gigi tikus dari gingiva menggunakan lecron modifikasi dan pengambilan gigi tikus dari gingiva menggunakan needle holder modifikasi. Pencabutan gigi dilakukan searah dengan soket gigi dan dilakukan secara hati-hati dengan kekuatan yang sama untuk meminimalisir patahnya gigi. (Widyastomo, 2013).

4. Pemberian Analgetik

Tikus diberikan Novalgin 500mg/ml sebanyak 1 kali dengan dosis 0,3 ml secara intra peritoneal setelah pencabutan gigi dilakukan untuk menghindari komplikasi berupa rasa nyeri.



5. Pemberian Gelatin Ikan Patin

Sebelum dilakukan pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*). Pendarahan dihentikan dengan menggunakan kasa setelah dilakukan pencabutan agar mendapatkan ruang untuk mengaplikasikan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*). Pemberian Gelatin Ikan patin dilakukan dengan menggunakan *pipet*, gel diulaskan pelan-pelan sebanyak 0,1 ml pada soket sebanyak satu kali setelah pencabutan dan setelah berhentinya perdarahan. Sedangkan kelompok kontrol tidak diberi perlakuan. Seluruh tikus diberikan analgetik berupa novalgin 500mg/ml sebanyak 1 kali dengan dosis 0,3 ml secara intra peritoneal untuk mengurangi rasa nyeri.

6. Perawatan Hewan Coba Pasca Pencabutan

Pakan tikus pasca pencabutan gigi dilakukan dengan mengencerkan makanan. Memberikan makan tikus dengan melakukan sondasi menggunakan sonde gastrik agar langsung menuju lambung tanpa melewati mulut untuk mencegah gangguan penyembuhan pada soket gigi.

Pemberian makanan dilakukan 2 kali sehari setiap pagi dan sore agar asupan makanan bagi tikus terpenuhi, asupan cairan bagi tikus tetap diberikan air PDAM secukupnya.



7. Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba

Sebanyak 30 ekor tikus dengan berat badan 200 – 350 gram dibagi ke dalam 6 kelompok sebagai berikut :

a. Kelompok Kontrol

Kelompok kontrol terdiri dari 15 ekor tikus dilakukan pencabutan gigi insisivus satu bawah kirinya pada hari ke satu tetapi tidak diberi perlakuan berupa pemberian gelatin ikan patin pada soket giginya sebagai berikut:

i. Kelompok K1 hari ke-3 : Pada hari ke-3, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.

ii. Kelompok K2 hari ke-5 : Pada hari ke-5, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.

iii. Kelompok K3 hari ke-7 : Pada hari ke-7, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.

b. Kelompok Perlakuan

Kelompok perlakuan terdiri dari 15 ekor tikus kemudian dilakukan pencabutan gigi insisivus kiri bawah pada hari ke satu dan diberi perlakuan berupa pemberian gelatin ikan patin kedalam soket gigi sebanyak 1cc dengan menggunakan spuit yang dimasukkan sampai ke dasar soket untuk mencegah adanya gelembung udara yang terperangkap didalam soket gigi dengan pembagian kelompok sebagai berikut :



- i. Kelompok P1 hari ke-3 : Pada hari ke-3, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.
- ii. Kelompok P2 hari ke-5 : Pada hari ke-5, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.
- iii. Kelompok P3 hari ke-7 : Pada hari ke-7, 5 ekor tikus didekaputasi dan diambil sampel rahangnya.

8. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-3, ke-5 dan ke-7 untuk melihat peningkatan jumlah sel limfosit pada jaringan di soket gigi hewan coba. Dilakukan anestesi dengan menggunakan inhalasi eter dosis lethal. Sebelum dekapitulasi dan diambil rahang bawahnya, konfirmasi kematian tikus harus dilakukan dengan cara melihat aspirasinya, apabila sudah tidak terlihat aspirasinya maka dapat dilakukan dekapitulasi rahang bawah menggunakan scalpel no.11 dimana terdapat soket bekas pencabutan gigi. Rahang bawah kemudian dimasukkan ke dalam tabung berisi formalin 10% untuk fiksasi jaringan dan diberi label. Tikus kemudian dikuburkan dalam tanah dengan bantuan tenaga ahli dari laboratorium.

9. Pembuatan Sediaan Histologi

- a. Fiksasi jaringan dengan cara perendaman jaringan pada larutan formalin 10% selama 18-24 jam,



kemudian jaringan dicuci dengan aquadest selama 15 menit.

b. *Embedding* jaringan dengan cara jaringan dimasukkan pada cairan yaitu *acetone* selama 1 jam x 4, *Xylo* selama ½ jam x 4, *paraffin* cair selama 1 jam x 3 dan penanaman jaringan kulit pada *paraffin* blok.

c. *Slicing* jaringan dengan cara blok yang sudah tertanam jaringan diletakkan pada balok es selama kurang lebih 15 menit kemudian blok ditempelkan pada *cakram microtom rotary* kemudian sayat jaringan ulkus secara vertikal dengan ukuran 4 mikron. Sayatan jaringan yang dibentuk pita diambil dengan menggunakan kuas kecil, kemudian letakkan pada *water bath* yang dengan suhu 36°C. Sayatan diambil dengan menggunakan *object glass* dan didiamkan selama 24 jam.

d. Pewarnaan *object glass* dengan cara *object glass* dimasukkan dalam *Xylo* selama 15 menit x 3, alkohol 96% selama 15 menit x 3, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. Setelah itu *object glass* dimasukkan pada pewarna *Haematoxylin* selama 15 menit dan dicuci dengan air mengalir selama 15 menit.

Object glass dimasukkan pada *Litium carbonat* selama 20 detik dan dicuci



dengan air mengalir selama 15 menit. Selanjutnya *object glass* dimasukkan pada pewarnaan *Eosin* selama 15 menit, alkohol 96% selama 15 menit x 3 dan *Xylo* selama 15 menit x 3. Dan yang terakhir, preparat ditutup dengan menggunakan *deck glass Entellan*.

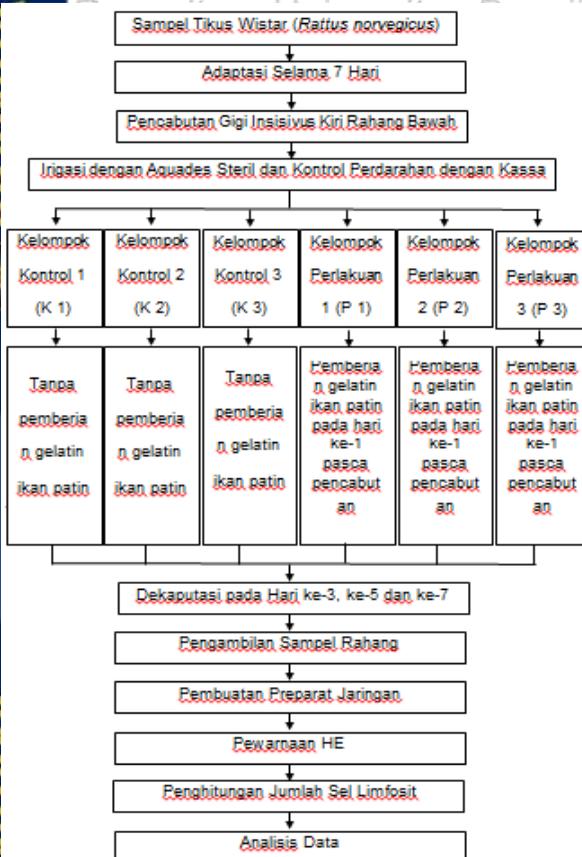
10. Perhitungan Jumlah Limfosit

- a. Sampel dengan replikasi 2 potongan jaringan daerah luka diletakkan dalam *object glass*.
- b. Sediaan preparat jaringan dilihat menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x untuk memastikan letak preparat yang akan dihitung.
- c. Sediaan preparat jaringan dilihat menggunakan mikroskop digital Olympus dengan perbesaran 400x kemudian dibuat foto preparat.
- d. Sampel pada sediaan dibagi menjadi 5 lapang pandang dengan ukuran yang sama.
- e. Tiap potongan jaringan dihitung jumlah limfosit secara sistematis mulai dari pojok kiri bawah kemudian digeser ke kanan dan ditarik keatas demikian seterusnya sehingga semua lapang pandang terbaca.
- f. Dihitung hasil rata-rata limfosit dari kelimpapotongan jaringan tersebut.

4.8 Analisis Data

Analisis ditentukan terhadap jumlah limfosit pada tikus Wistar. Proses analisis data yang terlebih dahulu dilakukan adalah uji normalitas (*Shapiro-Wilk*) dan uji homogenitas ragam (*Levene*). Untuk melihat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan digunakan uji statistik *One Way ANOVA*. Apabila hasil uji terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc Tukey* (HSD) dan Uji Korelasi *Pearson* untuk menguji sejauh mana hubungan antara variabel tersebut.

4.9 Alur Penelitian

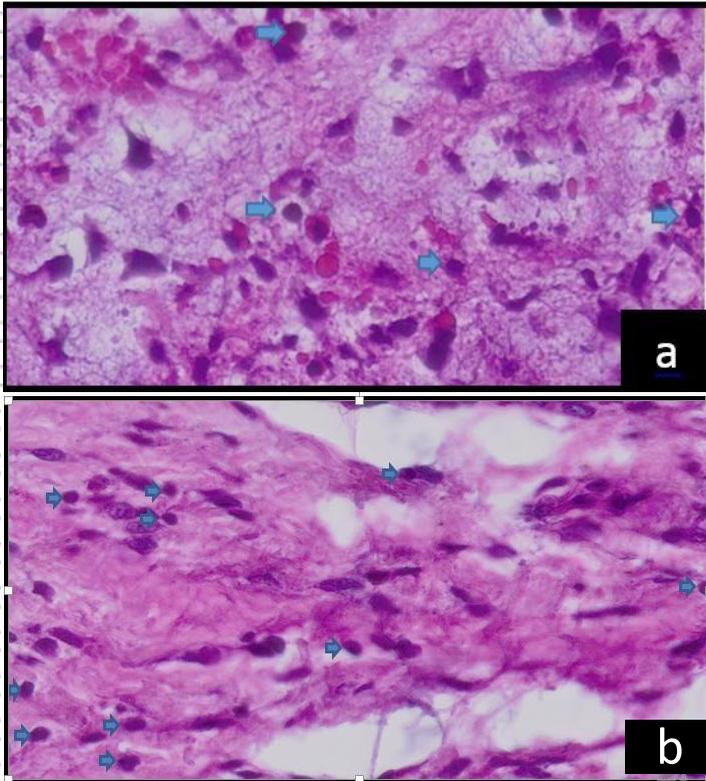


**BAB 5****HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA****5.1. Hasil Penelitian**

Sampel didapatkan dengan mengambil jaringan soket yang dicabut giginya tikus wistar (*Rattus novvergicus*) yang dikorbankan pada hari ke 3, ke 5 dan ke 7 pasca pencabutan gigi, kemudian dilakukan pembuatan preparat dengan pengecatan *Haematoxylin-Eosin* yang diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali, didapatkan bentukan sel limfosit dengan bentuk sferis (bulat) berwarna ungu dan inti selnya bulat gelap hampir memenuhi seluruh sel. Ukuran sel limfosit yang ditemui bervariasi dari kecil hingga sedang.

Pada kelompok kontrol 1 (K1) tanpa diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada soket gigi pasca pencabutan gigi tikus dan didekaputasi pada hari ke 3, hasil perhitungan rerata limfosit setiap preparat berjumlah 34. Pada kelompok perlakuan 1 (P1) diberi gelatin ikan patin pada soket gigi pasca pencabutan gigi tikus dan didekaputasi pada hari ke 3 memiliki rerata jumlah limfosit sebanyak 92,3. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah limfosit pada kelompok K1 memiliki jumlah yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok P1.

Berikut adalah gambaran histologi hasil penelitian dari setiap kelompok penelitian yang telah dilakukan :



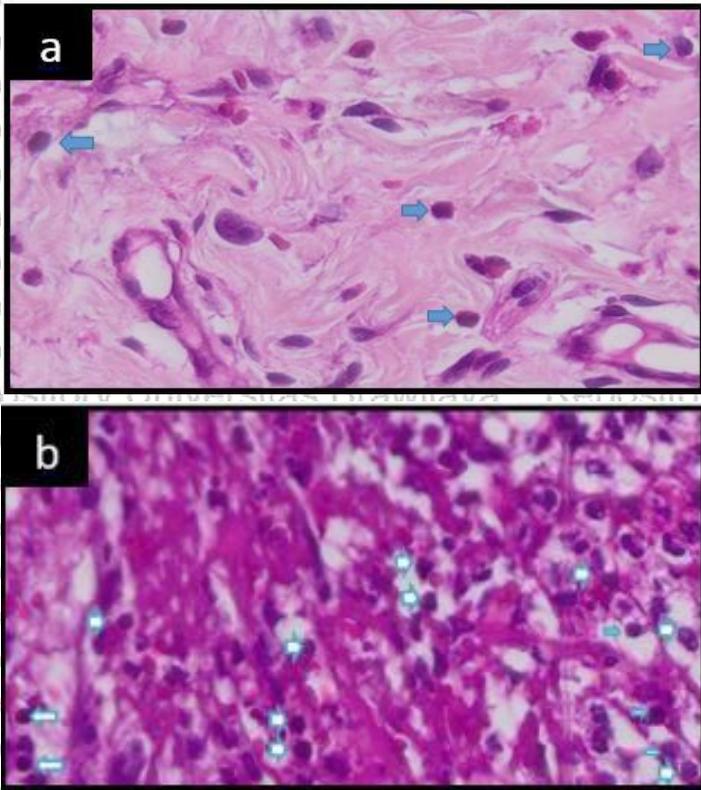
Gambar 5.1 Perbandingan Gambaran Histologi pada hari ke 3

Pewarnaan HE, perbesaran 400x & panah biru menunjukkan limfosit (a) kelompok K1 (b) kelompok P1

Pada kelompok kontrol 2 (K2) tanpa diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada soket gigi pasca pencabutan gigi tikus dan didekaputasi pada hari ke 5, hasil perhitungan rerata jumlah limfosit setiap preparat berjumlah 19,3. Pada kelompok perlakuan 2 (P2) diberi gelatin ikan patin pada soket gigi pasca pencabutan gigi tikus dan didekaputasi pada hari ke 5 memiliki rerata jumlah limfosit



adalah 106, 6. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah limfosit pada kelompok K2 memiliki jumlah yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok P2. Hasil *scan* preparat histologi pada kelompok K2 dan P2 tampak pada gambar 5.2 berikut.

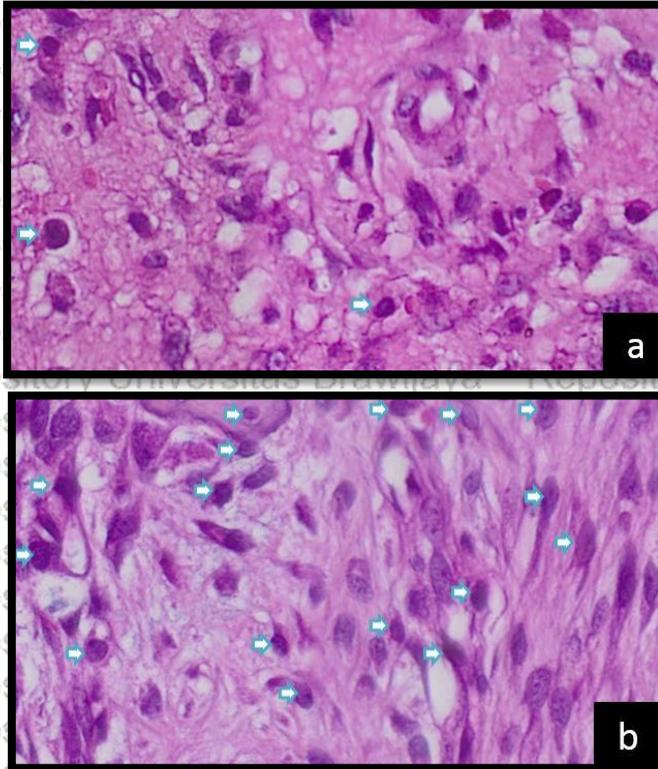


Gambar 5.2 Perbandingan Gambaran Histologi pada hari ke 5

Pewarnaan HE, perbesaran 400x & panah biru menunjukkan limfosit (a) kelompok K2 (b) kelompok P2



58



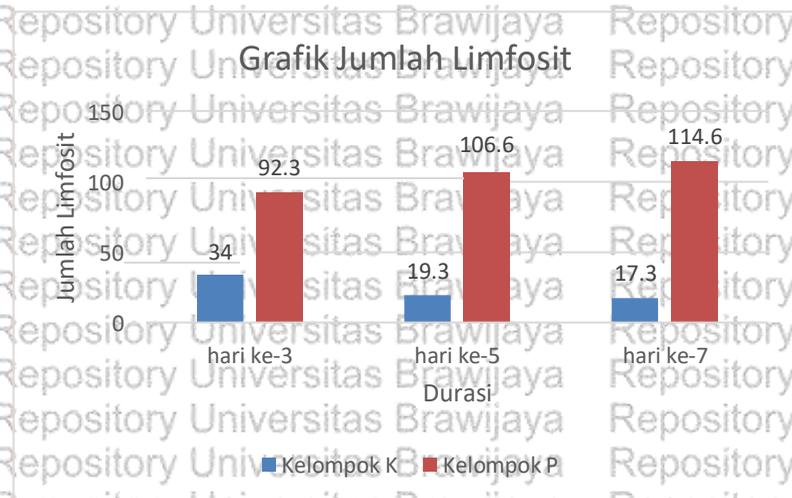
Gambar 5.3 Perbandingan Gambaran Histologi pada hari ke 7

Pewarnaan HE, perbesaran 400x & panah biru menunjukkan limfosit (a) kelompok K3 (b) kelompok P3

Pada kelompok kontrol 3 (K3) tanpa diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada soket gigi pasca pencabutan gigi tikus dan didekaputasi pada hari ke 7, hasil perhitungan rerata limfosit setiap preparat berjumlah 17,3. Pada kelompok perlakuan 3 (P3) diberi gelatin ikan patin pada soket gigi pasca pencabutan gigi tikus dan didekaputasi pada hari ke 7 memiliki rerata jumlah limfosit adalah 114,6. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah limfosit pada kelompok K3 memiliki jumlah yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok P3. Hasil *scan* preparat histologi pada kelompok K3 dan P3 tampak



pada gambar 5.3 dan gambar untuk penyajian data hasil perhitungan sel limfosit dapat dilihat pada grafik berikut.



Grafik 5.4 Rerata Jumlah Limfosit pada Hari yang Sama

Berdasarkan grafik data rerata diatas menunjukkan bahwa jumlah sel limfosit yang terbanyak pada kelompok kontrol jatuh pada hari ke-3, sementara pada kelompok perlakuan sel limfosit terbanyak terdapat pada hari ke-7. Pada kelompok kontrol 2 yaitu pada hari ke-5, jumlah sel limfosit semakin menurun, dan penurunan tersebut terjadi hingga hari ke-7. Sedangkan jumlah sel limfosit pada hari ke-5 lebih banyak daripada hari ke-3 dan pada hari ke-7 juga lebih banyak daripada hari ke-5. Hal ini sesuai dengan teori bahwa limfosit muncul dalam jumlah signifikan setelah hari ke 5 pasca cedera, dengan jumlah mencapai puncaknya terjadi sampai hari ke-7 pasca cidera.



5.1 Analisa Data

Data hasil penelitian berupa jumlah sel limfosit dianalisis menggunakan metode *one way* ANOVA. Sebelum dilakukan pengujian dengan *one way* ANOVA, dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas ragam. Pada uji *one way* ANOVA, hipotesa ditentukan melalui suatu rumusan masalah, yaitu H_0 diterima jika nilai signifikansi yang diperoleh $> 0,05$. H_0 dari penelitian ini adalah terdapat pengaruh gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap jumlah limfosit pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*), sedangkan H_1 dari penelitian ini adalah tidak terdapat pengaruh gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap jumlah limfosit pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*).

5.1.1 Uji Normalitas Data

Pengujian normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Uji normalitas terpenuhi jika nilai signifikansi hasil perhitungan $p = 0,05$. Didapatkan hasil pengujian normalitas sebagai berikut. Berdasarkan tabel pada Lampiran 4 tabel 1, didapatkan nilai signifikansi $> 0,05$, sehingga distribusi data dinyatakan memenuhi asumsi normalitas, maka data terdistribusi normal. Data dari penelitian ini kurang dari 50 data, sehingga menggunakan *Shapiro- Wilk* test.

5.1.2 Uji Homogenitas Ragam

Pengujian homogenitas ragam dilakukan dengan menggunakan *Levene's Test*. Tujuan dilakukannya uji homogenitas



ragam adalah untuk apakah varien dari populasi tikus adalah sama (homogen). Uji homogenitas ragam dikatakan terpenuhi jika signifikansi hasil perhitungan $p > 0,05$. Berdasarkan tabel pada Lampiran 4 tabel 2, didapatkan koefisien *levene* statistik sebesar 0,051, maka dapat disimpulkan bahwa nilai signifikansi lebih besar daripada 0,05. Sehingga dari pengujian ini dapat diketahui bahwa uji homogenitas ragam telah terpenuhi. Dengan demikian, maka analisa data dapat dilakukan dengan menggunakan uji *one way* ANOVA, karena seluruh syaratnya telah terpenuhi.

5.1.3 Uji *One way* ANOVA

Analisis dengan menggunakan uji *one way* ANOVA bertujuan untuk mengevaluasi perbedaan nilai jumlah sel limfosit antar kelompok secara keseluruhan. Sebagaimana telah dijelaskan dalam metode penelitian, hewan coba diberikan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pada kelompok perlakuan I, II, dan III, sedangkan untuk kelompok kontrol tidak diberikan perlakuan apa-apa. Berikut hasil penghitungan uji *one way* anova. Berdasarkan tabel pada Lampiran 4 tabel 3, nilai signifikansi yang didapatkan adalah sebesar 0,000. Sehingga dari pengujian ini dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil hitung limfosit antara kelompok perlakuan yang menggunakan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) dengan kelompok kontrol yang tidak menggunakan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*). Kemudian untuk mengetahui di mana letak perbedaannya, maka dilakukan uji lanjutan yaitu uji post hoc Tukey HSD.



5.1.4 Uji *Post Hoc* Tukey

Uji ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan dan kesamaan rata-rata dari keenam kelompok. Metode *Post-Hoc* yang digunakan adalah Uji HSD. Pengujian Tukey HSD adalah pengujian perbandingan untuk mengetahui apakah seluruh kelompok merupakan rata-rata atau berbeda secara signifikan. Pada uji ini, suatu data dikatakan berbeda secara bermakna apabila nilai signifikansi $p < 0,05$ serta pada interval kepercayaan 95%. Berdasarkan uji tersebut didapatkan hasil yang dapat dilihat pada tabel pada Lampiran 4 tabel 4.

Berdasarkan hasil pada tabel pada Lampiran 4 tabel 4 tersebut, diketahui bahwa terdapat perbedaan ditunjukkan dengan adanya tanda (*) pada kolom Mean Difference (I-J) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap jumlah limfosit pada luka pasca pencabutan gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*), dengan rincian sebagai berikut :

- Kelompok K1 berbeda secara signifikan dengan kelompok P1, P2 dan P3.
- Kelompok K2 berbeda secara signifikan dengan kelompok P1, P2 dan P3.
- Kelompok K3 berbeda secara signifikan dengan kelompok P1, P2 dan P3.
- Kelompok P1 berbeda secara signifikan dengan kelompok K1, K2 dan K3.



Kelompok P2 berbeda secara signifikan dengan kelompok K1,

K2 dan K3.

Kelompok P3 berbeda secara signifikan dengan kelompok K1,

K2 dan K3.

Kemudian selain perbedaan, uji *Post-Hoc Tukey HSD* juga dapat menunjukkan kesamaan rata-rata yang dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5.1 Uji Post Hoc – Homogeneous Subsets

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K3	3	3.4667	
K2	3	3.8667	
K1	3	6.8000	
P1	3		18.4667
P2	3		21.3333
P3	3		22.9333
Sig.		.914	.770

Penjelasan hasil table di atas adalah sebagai berikut:

- Pada subset 1 terdapat data kelompok K1, K2 dan K3. Artinya rata-rata hasil hitung limfosit pada kelompok ini berbeda dengan ketiga kelompok lainnya.
- Pada subset 2 terdapat data kelompok P1, P2 dan P3. Artinya rata-rata hasil hitung limfosit pada kelompok ini berbeda dengan ketiga kelompok lainnya.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan sama-sama berbeda secara signifikan dibandingkan dengan



kelompok kontrol, maka berarti jumlah limfosit pada kelompok perlakuan berbeda secara signifikan dengan jumlah limfosit pada kelompok kontrol. Artinya, pemberian gelatin ikan patin (*pangasius djambal*) pada kelompok perlakuan menunjukkan perubahan jumlah limfosit yang signifikan, dan jumlah limfosit pada seluruh kelompok perlakuan lebih tinggi daripada kelompok kontrol.

5.1.5 Korelasi Pearson

Uji Korelasi *Pearson* digunakan untuk menguji sejauh mana hubungan antara variabel. Pada penelitian ini, variabel yang dimaksud adalah pemberian gelatin ikan patin (*pangasius djambal*) pada kelompok perlakuan dan tanpa pemberian gelatin ikan patin (*pangasius djambal*) pada kelompok kontrol. Pada uji ini, suatu data dikatakan memiliki korelasi apabila nilai korelasi $p > 0,05$ dan tanda “-“ menunjukkan korelasi negatif sementara tanda “+” menunjukkan korelasi positif. Kemudian untuk dapat menyimpulkan korelasi kedua variabel tersebut signifikan atau tidak, maka harus melihat nilai signifikansi, apabila nilai signifikansi (p -value) sebesar $< 0,05$ maka disimpulkan terdapat korelasi yang signifikan.

Tabel 5.2 Uji Korelasi Perason

		Hasil Hitung Limfosit (K)	Hasil Hitung Limfosit (P)
Hasil Hitung Limfosit (K)	Pearson Correlation	1	-.733*
	Sig. (2-tailed)		.025
	N		9
Hasil Hitung Limfosit (P)	Pearson Correlation	-.733*	1
	Sig. (2-tailed)	.025	
	N	9	9

antara hasil hitung limfosit (K) dan hasil hitung limfosit (P)



menghasilkan angka $-0,733$. Angka tersebut menunjukkan kuatnya korelasi antara hasil hitung limfosit (K) dengan hasil hitung limfosit

(P) karena nilai korelasi $> 0,5$. Sedangkan tanda "-" menunjukkan adanya korelasi yang bersifat negative. Artinya, semakin tinggi hasil hitung limfosit pada kelompok kontrol (K) maka akan semakin rendah hasil hitung limfosit pada kelompok perlakuan (P) dan begitu sebaliknya. Pada penelitian ini hasilnya adalah semakin rendah hasil hitung limfosit pada kelompok kontrol (K), semakin tinggi hasil hitung limfosit pada kelompok perlakuan (P).

Kemudian, berdasarkan nilai signifikansi (p-value) sebesar $0,025 < 0,05$ menunjukkan adanya korelasi yang signifikan antara hasil hitung limfosit pada kelompok kontrol (K) dan hasil hitung limfosit pada kelompok perlakuan (P). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada selama hari ke-3 hingga hari ke-7 pada pemberian gelatin ikan patin (*pangasius djambal*) terhadap kelompok perlakuan meningkatkan jumlah sel limfosit, namun pada kelompok kontrol tanpa pemberian gelatin ikan patin (*pangasius djambal*) justru terjadi penurunan jumlah sel limfosit sejak hari ke-3 hingga hari ke-7. Sehingga dapat diambil kesimpulan yaitu, terdapat pengaruh pemberian gelatin ikan patin (*Pangasiusus djambal*) terhadap jumlah limfosit pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus wistar putih (*Rattus norvegicus*).



BAB 6 PEMBAHASAN

Limfosit merupakan sel yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Peran limfosit pada inflamasi kronis adalah sebagai respon humoral dan seluler (Kumar *et al.*, 2013). Limfosit mengikat antigen, lalu akan teraktivasi dan mengeluarkan limfokin. Limfokin berperan dalam stimulasi dan aktivasi makrofag dalam melakukan fagositosis (Guyton and Hall, 2012). Peran limfosit dalam melepaskan limfokin sangat berpengaruh pada proses inflamasi. Limfokin mempengaruhi agregasi dan kemotaksis makrofag dalam proses penyembuhan luka (Miksusanti, 2010). Limfokin, protein terlarut yang diproduksi oleh limfosit yang distimulasi antigen memengaruhi aktivitas fibroblast dan sintesis kolagen (Keen, 2008).

Guyton dan Hall (2012) menyatakan jika pada daerah luka banyak terdapat antigen, menyebabkan tubuh akan merespon dengan cara sel limfosit keluar untuk menghasilkan antibodi dan membentuk limfokin yang berfungsi mengaktifkan makrofag. Limfosit umumnya terdapat pada eksudat dalam jumlah yang sangat kecil untuk waktu yang cukup lama yaitu sampai reaksi peradangan menjadi kronik (Price dan Wilson, 2005). Menurut Anderson (2000), limfosit muncul dalam jumlah signifikan setelah hari ke 5 pasca cedera, dengan jumlah puncak terjadi pada sekitar hari ke-7 pasca cidera.



Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah limfosit terus meningkat sejak hari ke-3 (92,3), hingga hari ke-5 (106,6), dan mencapai jumlah tertinggi pada hari ke-7 (114,6) pada kelompok perlakuan (P) sementara itu pada kelompok kontrol (K) sebaliknya, jumlah limfosit mengalami penurunan sejak hari ke-3 (34) hingga hari ke-5 (19,3), dan hari ke-7 (17,3). Berdasarkan uji ANOVA, diketahui terdapat perbedaan yang signifikan pada hasil hitung limfosit antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol tersebut. Hal tersebut dikarenakan pada kelompok kontrol (K) tidak dilakukan pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pasca pencabutan gigi tikus wistar putih (*Rattus norvegicus*), sehingga jumlah limfosit lebih rendah.

Penelitian ini menunjukkan bahwa, jumlah limfosit terus meningkat dari hari ke 3 hingga ke 7, dimana hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa limfosit muncul dalam luka dan mencapai angka puncak pada 7 hari pasca luka, kemudian semakin menurun. Hal ini bagus karena limfosit diperlukan untuk penyembuhan luka optimal pada tikus dan limfosit merupakan pengatur penting pada aktivitas fibroblast baik secara langsung maupun tidak langsung melalui perantara makrofag selama proses penyembuhan luka (Barbul, 1988).

Kemudian dilakukan uji lanjutan yaitu uji post hoc Tukey HSD untuk mengetahui di mana letak perbedaan tersebut. Hasil uji Tukey HSD adalah sebagai berikut, kelompok kontrol hari pertama (K1) berbeda secara signifikan dengan kelompok perlakuan hari



pertama (P1), kelompok kontrol hari ke-3 (K2) berbeda secara signifikan dengan kelompok perlakuan hari ke-3 (P2), dan kelompok kontrol hari ke-7 (K3) berbeda secara signifikan dengan kelompok perlakuan hari ke-7 (P3). Kelompok perlakuan menunjukkan peningkatan jumlah limfosit dibandingkan dengan kelompok kontrol karena dilakukan pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) pasca pencabutan gigi tikus wistar putih (*Rattus norvegicus*).

Menurut teori bahwa pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) yang mengandung berbagai asam amino yaitu arginin, glutamin dan glisin yang dapat mempercepat penyembuhan luka. Arginin adalah asam amino yang memiliki peran untuk memperkuat sistem imun, dengan cara meningkatkan fungsi limfosit T (Ratnasari, 2013; Novriansyah, 2008). Dari hasil penelitian yang didapat dengan pemberian gelatin ikan patin pada luka dapat meningkatkan jumlah limfosit sejak hari ke-5 hingga hari ke-7 pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol, dimana peningkatan jumlah limfosit ini menandakan peningkatan proses penyembuhan luka. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan gelatin ikan patin berperan dalam meningkatkan proses penyembuhan luka.

Secara *in vitro*, arginin sangat penting untuk pertumbuhan optimal berbagai sel, termasuk limfosit. Efek biologik penting lainnya dari arginin tambahan adalah efek uniknya pada fungsi sel-T. Arginin bertindak sebagai agen thymotropic dan menstimulasi responsel T *in vitro* dan *in vivo*. Arginin juga mengurangi atau menghilangkan efek negatif dari cedera pada fungsi sel-T. Pada



manusia yang sehat, arginin meningkatkan aktivitas mitogenik limfosit darah tepi dan sangat mengurangi gangguan pasca-trauma pada blastogenesis limfosit. Lebih lanjut, arginin telah terbukti penting untuk diferensiasi limfosit B pada sumsum tulang (Witte and Barbul, 2018). Arginin meningkatkan penyembuhan luka ketika diberikan kepada hewan yang kehabisan arginin dan ketika diberikan sebagai suplemen untuk tikus yang menerima asupan arginin yang direkomendasikan (Witte and Barbul, 2018).

Asam amino arginin akan meningkatkan fungsi dari limfosit T. Limfosit T memiliki fungsi dalam membunuh benda asing terutama yang pathogen untuk tubuh, sehingga benda-benda pathogen tidak akan mengganggu proses penyembuhan luka pada tikus yang diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) (Regan, 2011).

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat ditarik kesimpulan bahwa hipotesis penelitian dapat diterima karena pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) berpengaruh terhadap peningkatan jumlah limfosit pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus wistar putih (*Rattus novergicus*).



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap peningkatan jumlah sel limfosit pada luka pasca pencabutan gigitikus Wistar putih (*Rattus novergicus*), maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat pengaruh yang signifikan pada pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) terhadap peningkatan jumlah sel limfosit pada luka pasca pencabutan gigi tikus Wistar putih (*Rattus novergicus*).
2. Jumlah perhitungan limfosit pada luka pasca pencabutan gigi tikus Wistar putih (*Rattus novergicus*) yang tidak diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) sebesar 34 pada hari ke-3; 19,3 pada hari ke-5; dan 17,3 pada hari ke-7. Sedangkan jumlah perhitungan limfosit pada luka pasca pencabutan gigi tikus Wistar putih (*Rattus novergicus*) yang diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) sebesar 92,3 pada hari ke-3; 106,6 pada hari ke-5; dan 114,6 pada hari ke-7.
3. Terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah sel limfosit pada luka pasca pencabutan gigi tikus Wistar putih (*Rattus novergicus*) yang tidak diberi gelatin ikan



patin (*Pangasius djambal*) dengan jumlah sel limfosit pada luka pasca pencabutan gigi tikus Wistar putih (*Rattus novergicus*) yang diberi gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*).

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek samping dan toksisitas dalam pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) sebagai terapi penyembuhan pada soket pasca pencabutan gigi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis efektif dalam pemberian gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*) sebagai terapi penyembuhan pada soket pasca pencabutan gigi.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengaruh gelatin ikan patin (*Pangasius Djambal*) terhadap limfosit setelah hari ke 7.

**DAFTAR
PUSTAKA**

- Anderson, J.M. 2000. The cellular cascades of wound healing. In J. E. Davies (Ed.), *Bone Engineering*. Toronto:em squared inc.,p:81-93.
- Aspinall V, O'Reilly. 2004. *Introduction to Veterinary Anatomy and Physiology*. China: Butterworth Heinemann an Imprint of Elsevier.
- Ayudiarti, D. L., Suryanti, Tazwir, dan R. Paranginangin. 2007. Pengaruh konsentrasi gelatin ikan sebagai bahan pengikat terhadap kualitas dan penerimaan sirup. *Jurnal Perikanan*. IX(1): 134-141.
- Bisono, Puspongoro, A.P. 1997. Luka, syok, bencana. Dalam Buku ajar bedah. Jakarta: EGC, p:73-75.
- Celloti, F. dan Laufer, S. 2001. Inflammation, Healing and Repair Synopsis: *Vol 43 No 5*.
- Chandra HM, 2014: *Buku Petunjuk Praktis Pencabutan Gigi (1st ed)*. Sagung Seto, Makassar.
- Dellmann HD, Jo Ann Eurell. 1998. Textbook of Veterinary Histology. Carrol Cann, editor. Lippincott Williams & Wilkins.
- Dellmann HD, Brown EM. 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner I*. Jakarta: UI Press.



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

de Man, J.M., 1989, *Kimia Makanan*, Edisi Kedua, 43-47, Penerjemah: Padmawinata K., ITB Press, Bandung.

Eastoe, J.E. dan A.A. Leach. 1977. *Chemical Constitution of Gelatin*. In:

Ward AG, Courts A, editors. *The Science and Technology of Gelatin*. Academic Press, New York.

Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Kanisius. Yogyakarta. Hlm 258.

Goldsby, R.A., Kindt, T.J. dan Osborne, B.A. 2003. *Immunology Fifth Edition*. W.H. Freeman and company, New York.

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

Guyton A.C., and Hall J.E. 2012. *Buku ajar fisiologi kedokteran*. Edisi 11. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Gurtner, G.C. 2007. Wound healing, normal and abnormal. In: Thorne CH, Beasley, R.W., Aston, S.J., Bartlett, S.P., Gurtner, G.C., Spear, S.L. (Eds). *Grabb and Smith's plastic surgery*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; p:15-22.

Howe. G.L. 1997. "The Extraction of Teeth". Disadur Kurniawan, S.

Pencabutan Gigi Geligi. Edisi Kedua. Jakarta: EGC.



Karim, A. A. dan Bhat, R. 2009. Ulasan Gelatin Ikan: Properti, Tantangan, dan Prospek Sebagai Sebuah Alternatif Untuk Mamalia Gelatin. *Tren Ilmu Pangan dan Teknologi*, 19: 644- 656.

Keen, D. A review of research examining the regulatory role of lymphocytes in normal wound healing. *J. Wound Care*. 2008, 17, 218-222.

Kordi, K.M.G.H., 2005. *Budidaya Ikan Patin Biologi, Pembenihandan Pembesaran*. Yayasan Pustaka Nusatama. Yogyakarta.

Kordi, M. G. H. 2005. *Budidaya Ikan Patin: Biologi, Pembenihan dan Pembesaran*. Yayasan Pustaka Nusatama, Yogyakarta.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins buku ajar patologi. Edisi 7. Jakarta: EGC; 2013. h.35-66.

Kumar, V., Cotran, R. S., dan Robbins S. L. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Edisi 7. Jakarta: EGC.

Lorentz, H. P., Longaker, M. T. 2006. Wound Healing: Repair Biology and Wound and Scar Treatment. In: Mathes, S. J. and Hentz, V. R.

Lehninger, A.L. 1997. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jilid I. Jakarta: Erlangga.

Marzoeki, D. 1993. Ilmu bedah luka dan perawatannya (luka, asepsis/antisepsis dan desinfektan, luka bakar). Surabaya: Airlangga University Press, p:3-9.





Miksusanti. Proliferasi sel limfosit secara in vitro oleh minyak atsiri temu kunci dan film edibel anti bakteri. J Penelitian Sains 2010; 10: 6-7

Mohamad Loekman. Teknik dasar pencabutan gigi, Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi; 2006: 3: 82-4.

Nurilmala M. 2004. Kajian potensi limbah tulang ikan keras (Teleostei) sebagai sumber gelatin dan analisis karakteristiknya. [Tesis]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.

Poppe, J. 1992. Gelatin. Dalam: Imeson (ed). 1992. Thickening and Gelling Agents. Academic Press, New York.

Robinson D. Paul. Tooth Extraction. Wright, Oxford Aucland Boston Johannes Burg Melbourne New Delhi. 2005, pp: 2.

Seifter E, Rettura G, Barbul A, Levenson SM. Arginine: an essential amino acid for injured rats. Surgery 1978; 84:224-30.

Srigupta, A. A., 2004, *Perawatan Gigi dan Mulut*, Jakarta.

Torre J. Wound Healing, Chronic Wounds. E Medicine. 2006.

Utama,H. 1997. Gelatin Jurnal Hala LPPOM - MUI No.18: 10-12.

Winarno FG 1997. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.

Witte Maria B. and Barbul Adrian. Arginine Physiology and Its Implication for Wound Healing, Wound Repair and Regeneration. 2018, Vol. 11, No. 6.



Wolfensohn, S., dan Lloyd, M. 2013. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*. 4th ed., Wiley-Blackwell, West Sussex. 234.

Xiong, Y.L. 2000. Meat Processing. In: Nakai, S and H.W. Modler. Food Protein, Processing Applications. Wiley VCH. New York.



Lampiran 1

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ibnu Putra Nugraha

NIM 145070407111002

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Malang, Juni 2019

yang membuat pernyataan,

Ibnu Putra Nugraha

145070407111002



Lampiran 2

Keterangan Kelayakan Etik

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 399A / EC / KEPK – FKG / 12 / 2017

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,
SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,
DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Pengaruh Gelatin Ikan Patin (*Pangasius djambal*) terhadap Jumlah Sel Makrofag, Limfosit Fibroblas, Kolagen, Epitelisasi, dan Angiogenesis pada Luka Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*).

PENELITI : Denni Kartika Nurmayastuti
Dena Savira Andriani
Hani Tri Rahmastuti
Bicky Satrya Indrawan
Ibnu Putra N.
Vicanuary Pirade

UNIT / LEMBAGA : Fakultas Kedokteran Gigi – Universitas Brawijaya Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.



Prof. Dr. dr. Moch. Istiadji ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr.H.
NIK. 160746683

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan
Pada Akhir Penelitian, Laporan Hasil Penelitian Wajib Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amendemen Protokol).



Lampiran 3

Surat keterangan identifikasi ikan Patin (*Pangasius djambal*)KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
LABORATORIUM HIDROBIOLOGI
DIVISI SUMBERDAYA IKAN

Jalan Veteran, Malang, 65145, Indonesia

Telp. : +62-341-553512 ; Fax . +62-341-557837

E-mail : faperik@ub.ac.id

<http://www.fjik.ub.ac.id>SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI
NO. 01.02.18/UN10.F06/40.C/2018

1. Data Konsumen
Nama : Denni Kartika Nurmadyastuti (145070400111012)
Dena Safira Andriani (145070400111014)
Hani Tri Rahmastuti (145070400111019)
Bicky Satrya Indrawan (145070401111030)
Ibnu Putra N (145070407111002)
Vicantury Pirade ((145070407111011)
Instansi : FKG, UB
Alamat : -
Telp : 082331575840
2. Sampling dilakukan : Dikirim oleh konsumen ke laboratorium
3. Tanggal terima sampel : 26 Februari 2107
4. No. Pengujian : 05/02/2018
5. Hasil Identifikasi morfologi :
Spesies : *Pangasius djambal* (Bleeker, 1846)
Sinonim : -
Nama Lokal : Patin

Malang, 28 Februari 2018

Kepala Laboratorium Hidrobiologi



Dr. Ir. Lani Zakiyah, M.Si

NIP. 196310303 198602 2 001



80

Lampiran 4**Tabel Uji Statistika****Tabel 1 Uji Normalitas****Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil Hitung Limfosit	K1	.227	3	.983	3	.747
	K2	.282	3	.936	3	.510
	K3	.253	3	.964	3	.637
	P1	.365	3	.798	3	.109
	P2	.271	3	.948	3	.560
	P3	.361	3	.806	3	.129

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 2 Uji Homogenitas**Test of Homogeneity of Variances**

Hasil Hitung Limfosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.074	5	12	.051

Tabel 3 Uji One Way Anova**ANOVA**

Hasil Hitung Limfosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1231.584	5	246.317	14.323	.000
Within Groups	206.373	12	17.198		
Total	1437.958	17			



Lampiran 5

DOKUMENTASI PENELITIAN



Pemilihan ikan patin (*Pangasius djambal*) di swalayan ikan malang



Persiapan pembuatan alat dan bahan gelatin ikan patin (*Pangasius djambal*)



Pengambilan kulit ikan patin (*Pangasius djambal*)



Hasil pemotongan kulit ikan patin (*Pangasius djambal*)



Pemotongan kulit ikan patin sebesar 1 cm²



Pemberian lemon untuk menghilangkan sisa lemak



Lampiran 5

DOKUMENTASI PENELITIAN



Pemberian dan perendaman kulit ikan patin dengan larutan asam sirrat



Pengukuran Ph



Ekstraksi dengan menggunakan shaker water bath selama 6 jam



Penyaringan dengan kertas saring wathman no.1



Pembentukan gelatin



Hasil akhir gelatin ikan patin