



PENGARUH GEL EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) TERHADAP JUMLAH PEMBULUH DARAH KAPILER DALAM PROSES PENYEMBUHAN LUKA PASCA GINGIVEKTOMI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

**SKRIPSI
UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

oleh :

**NURRAHMAWATI FITRIYANI
145070401111021**

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

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
 BAB	
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Manfaat Akademik.....	3
1.4.2 Manfaat Praktis	4
 II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Gingiva	5
2.2 Pembesaran Gingiva.....	5
2.2.1 Definisi.....	5
2.2.2 Etiologi.....	5
2.2.3 Gambaran Klinis	6
2.3 Gingivektomi.....	7
2.3.1 Definisi.....	7
2.3.2 Indikasi dan Kontraindikasi	7
2.3.3 Prosedur	7
2.4 Luka.....	8
2.4.1 Definisi Luka.....	8
2.4.2 Proses Penyembuhan Luka	8

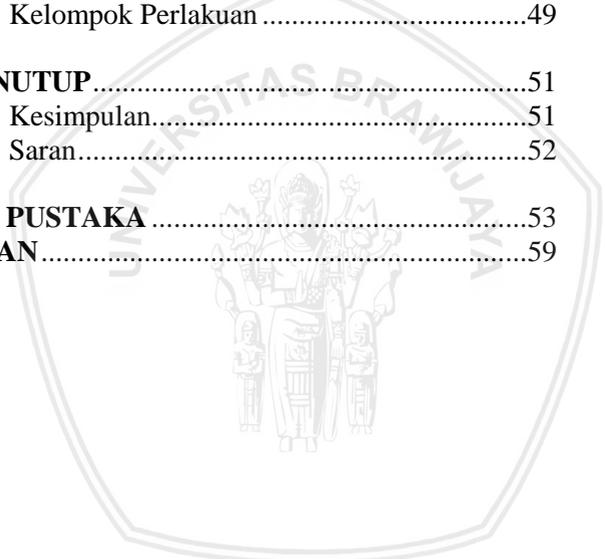
2.4.3	Faktor yang Mempengaruhi Penyembuhan Luka.....	13
2.5	Angiogenesis	13
2.6	Daun Salam	14
2.6.1	Taksonomi.....	14
2.6.2	Morfologi	15
2.6.3	Zat Aktif dalam Daun Salam dan Efeknya.....	15
2.6.4	Aktivitas Farmakologi.....	17
2.7	Tikus Putih	18
2.8	Ekstraksi	19
2.8.1	Definisi.....	19
2.8.2	Tujuan	19
2.8.3	Teknik Ekstraksi Maserasi	19
2.9	Gel.....	20

III.	KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	21
3.1	Kerangka Konsep Penelitian	21
3.2	Hipotesis Penelitian.....	23
IV.	METODE PENELITIAN	25
4.1	Rancangan Penelitian	25
4.2	Sampel	26
4.3	Variabel Penelitian	27
4.3.1	Variabel Bebas	27
4.3.2	Variabel Terikat	27
4.3.3	Variabel Kendali	27
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	27
4.5	Bahan dan Alat Penelitian	27
4.5.1	Perawatan dan Pembuatan Makanan Hewan Coba.....	27
4.5.2	Pembuatan Ekstrak Daun Salam	28
4.5.3	Gel Ekstrak Daun Salam	28
4.5.4	Prosedur Gingivektomi	28
4.5.5	Penghitung Luas Penampang	28
4.5.6	Pembedahan Tikus	28

4.5.7	Pembuatan Preparat Jaringan	28
4.5.8	Penghitungan Jumlah Pembuluh Darah Kapiler	29
4.6	Definisi Operasional	29
4.6.1	Gel Ekstrak Daun Salam	29
4.6.2	Penghitungan Jumlah Pembuluh Darah Kapiler	29
4.6.3	Pembuatan Luka Gingivektomi pada Gingiva	29
4.7	Prosedur Penelitian	30
4.7.1	Perawatan Hewan Coba	30
4.7.2	Pembuatan Gel Ekstrak Daun Salam	31
4.7.3	Tindakan Gingivektomi	32
4.7.4	Pengaplikasian Gel Ekstrak Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	33
4.7.5	Pembedahan Hewan Coba	33
4.7.6	Pembuatan Preparat dan Pengamatan Histologi Luka Gingiva	34
4.7.7	Penghitungan Jumlah Pembuluh Darah Kapiler pada Daerah Luka dan Persentase Penyembuhan Luka	36
4.7.8	Sanitasi Hewan Coba	36
4.8	Analisis Data	36
4.9	Skema Prosedur Penelitian	38

V.	HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	39
5.1	Hasil Penelitian	39
5.2	Analisis Data	43
5.2.1	Uji Normalitas Data	43
5.2.2	Uji Homogenitas Varian	44
5.2.3	Uji <i>One Way Anova</i>	44
5.2.4	Uji <i>Post-Hoc Multiple Comparison</i>	45

VI. PEMBAHASAN	47
6.1 Perbandingan Jumlah Pembuluh Darah Kapiler pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Pasca Gingivektomi Tanpa Pemberian Gel Ekstrak Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	48
6.2 Perbandingan Jumlah Pembuluh Darah Kapiler pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Pasca Gingivektomi dengan Pemberian Gel Ekstrak Daun Salam (<i>Syzygium polyanthum</i>)	48
6.3 Perbandingan Jumlah Pembuluh Darah Kapiler antara Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan	49
VII. PENUTUP	51
7.1 Kesimpulan.....	51
7.2 Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	59



ABSTRAK

Nurrahmawati Fitriyani, 145070401111021, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang, 2 Juli 2018, “**Pengaruh Gel Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap Jumlah Pembuluh Darah Kapiler dalam Proses Penyembuhan Luka Pasca Gingivektomi pada tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**”, Tim Pembimbing: (1) drg. Nenny Prasetyaningrum, M. Ked. (2) drg. Khusnul Munika Listari, Sp. Perio.

Gingivektomi merupakan perawatan yang dilakukan untuk mengatasi hiperplasi gingiva. Penggunaan *periodontal dressing* di akhir tindakan gingivektomi hanya berfungsi untuk melindungi bukan menyembuhkan luka pasca gingivektomi. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) sudah banyak digunakan sebagai obat tradisional karena mengandung zat aktif, seperti saponin, flavonoid, tanin yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dalam proses penyembuhan luka pasca gingivektomi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 24 ekor tikus jantan yang dibagi 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol hari ke-3 (K3), 5 (K5), dan 7 (K7) serta kelompok perlakuan gel ekstrak hari ke-3 (P3), 5 (P5), dan 7 (P7). Variabel penelitian ini adalah jumlah pembuluh darah kapiler dari sediaan HPA dengan pengecatan HE. Analisis menggunakan uji *Post-Hoc HSD test* menunjukkan bahwa perbedaan peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler antar kelompok pada hari yang sama tidak signifikan. Kesimpulan pada penelitian ini adalah gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) tidak berpengaruh secara signifikan dalam proses penyembuhan luka pasca gingivektomi pada tikus putih.

Kata Kunci : Gingivektomi, gel ekstrak daun salam, *Syzygium polyanthum*, pembuluh darah kapiler

ABSTRACT

Nurrahmawati Fitriyani, 145070401111021, Dentistry Undergraduate Program Faculty of Dentistry Brawijaya University Malang, July 2nd 2018, “**The Effect of Gel Extract from Bay Leaf (*Syzygium polyanthum*) to Number of Capillary Blood Vessel in Wound Healing Process Post Gingivectomy in White Rat (*Rattus norvegicus*)**”, Supervisors: (1) drg. Nenny Prasetyaningrum, M. Ked. (2) drg. Khusnul Munika Listari, Sp. Perio.

Gingivectomy is a treatment performed to treat gingival hyperplasia. A common periodontal disease is the enlargement of gingival size (gingival hyperplasia). The use of periodontal dressing at the end of gingivectomy action only serves to protect rather than heal post-gingivectomy wounds. The bay leaf is widely used as a traditional medicine because it contains active substances, such as saponins, flavonoids, tannins that can accelerate the process of wound healing. The purpose of this research is to know the effect of gel extract from bay leaf (*Syzygium polyanthum*) on wound healing post gingivectomy in white rat (*Rattus norvegicus*). This research was conducted by using 24 male rats divided into 6 groups, 3-day control groups (K3), 5 (K5) and 7 (K7) and 3-day treatment groups (P3), 5 (P5), and 7 (P7). The variable of this study is the angiogenesis from HPA preparations with HE painting. Analysis using Post-Hoc HSD test showed that differences in the number of capillary blood vessels between groups on the same day were insignificant. The conclusion of this research is that gel extract from bay leaves didn't significantly affect the process of wound healing post gingivectomy in white rat.

Keywords: Gingivectomy, gel extract from bay leaf, *Syzygium polyanthum*, capillary blood vessel

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Prevalensi penyakit periodontal di masyarakat Indonesia terbilang tinggi, dengan prevalensi penyakit periodontal pada semua kelompok umur sebesar 96,58% dan hanya 3,42% yang tidak membutuhkan perawatan periodontal (Tampubolon, 2005). Penyakit periodontal yang umum terjadi adalah pembesaran ukuran dari gingiva. Kondisi ini disebut dengan hiperplasi gingiva. Hiperplasi gingiva dapat disebabkan oleh beberapa hal, seperti konsumsi obat antikonvulsan, kondisi hormon saat hamil dan leukemia (Carranza, 2015). Selain itu, penyakit periodontal disebabkan karena adanya interaksi antara bakteri dan plak, tanpa adanya penumpukan plak maka tidak akan ada timbulnya penyakit periodontal (Fatimah, 2017)

Salah satu perawatan yang dapat dilakukan untuk mengatasi hiperplasi gingiva adalah dengan gingivektomi. Gingivektomi merupakan tindakan menghilangkan dinding poket gingiva agar mendapatkan visibilitas dan aksesibilitas selama pembuangan kalkulus dan penghalusan akar. Tahapan terakhir dari prosedur gingivektomi adalah pengaplikasian *periodontal dressing* di atas luka pada gingiva pasca gingivektomi (Carranza, 2015).

Proses penyembuhan luka merupakan tahapan dinamis yang meliputi fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi. Proses mekanisme seluler yang penting pada fase proliferasi adalah perbaikan dan penyembuhan luka yang ditandai dengan proliferasi sel. Pada fase proliferasi terjadi pembentukan jaringan granulasi yang merupakan inti dari fase proliferasi. Jaringan granulasi ini terdiri dari makrofag, fibroblas, dan pembuluh darah (Fitria dkk., 2014). Sel fibroblas memiliki peran yang sangat besar pada fase ini, fibroblas mengeluarkan beberapa substansi seperti kolagen, elastin, hyaluronic acid, fibronectin, dan proteoglikan yang berperan dalam membangun jaringan baru. Sejumlah sel dan pembuluh darah baru yang terdapat di dalam jaringan baru tersebut disebut sebagai jaringan granulasi (Tawi, 2008). Pembentukan jaringan granulasi ini dimulai empat hari setelah luka (Fitria dkk., 2014). Proses pembentukan pembuluh kapiler baru (angiogenesis) memiliki arti penting pada tahap proliferasi proses penyembuhan luka, karena

jaringan vaskuler yang menginvasi luka merupakan suatu respons untuk memberikan oksigen dan nutrisi yang cukup di daerah luka (Tawi, 2008).

Mempercepat penyembuhan luka akan sangat efektif dengan penggunaan bahan yang memiliki efek antiinflamasi, antibakteri, dan sekaligus kemampuan regenerasi sel (Pradita dkk., 2013). Menurut Sampurno (2004) Indonesia yang merupakan negara agraris memiliki spesies tanaman lebih dari 30.000, namun baru 1.000 spesies yang diketahui dapat digunakan sebagai obat (Fauziyah, 2008). Salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia adalah daun salam. Menurut Winarto dan Karyasari (2003) seiring perkembangan zaman, daun salam dimanfaatkan sebagai bahan ramuan obat tradisional. Daun salam tumbuh subur di pulau Jawa, dari di atas dataran rendah sampai 1400 meter di atas permukaan laut (Rizki dan Hariandja, 2015).

Berdasarkan penelitian Liliwirianis et al., (2001) daun salam mengandung alkaloid, saponin, steroid, fenolik, dan flavonoid (Rizki, 2015). Berdasarkan penelitian Wientarsih dkk. (2007), infusa daun salam diketahui memiliki efek antiinflamasi. Kemampuan antiinflamasi daun salam dipengaruhi senyawa golongan flavonoid yang terkandung di dalamnya. Flavonoid juga dapat berfungsi sebagai vasodilator yang dapat memperlancar aliran darah. Kandungan fitokimia terbanyak daun salam terdapat pada flavonoid (Dewi, 2012). Flavonoid mempunyai peran penting dalam proses penyembuhan luka (Kusmarasamyraja *et al.*, 2015), efek antiinflamasi flavonoid pada biosintesis protein yang memediasi leukosit (Kumar *et al.*, 2013).

Saponin yang terkandung dalam daun salam juga dapat menstimulasi pembentukan pembuluh darah dengan memicu pelepasan VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) dalam proses angiogenesis. Kandungan tannin yang juga terdapat dalam daun salam telah terbukti dapat menghindarkan luka dari infeksi bakteri dan dapat memicu translasi serta transkripsi dari VEGF (Fatimatussahroh, dkk. 2015). Berdasarkan uraian di atas, peneliti ingin melakukan penelitian tentang pengaruh gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler dalam mempercepat proses penyembuhan luka pasca gingivektomi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) berpengaruh terhadap jumlah pembuluh darah kapiler dalam proses penyembuhan luka pasca gingivektomi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap jumlah pembuluh darah kapiler dalam proses penyembuhan luka pasca gingivektomi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menghitung dan membandingkan jumlah pembuluh darah kapiler pada proses penyembuhan luka pasca gingivektomi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan yang diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada kelompok hari ke-3, ke-5, dan ke-7.
2. Menganalisa perbedaan jumlah pembuluh darah kapiler pada kelompok yang tidak diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan kelompok yang diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada hari ke-3, 5 dan 7.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Menambah ilmu pengetahuan dan informasi di bidang kesehatan terutama tentang pemanfaatan dari daun salam dalam kedokteran gigi terhadap penyembuhan luka pada gingiva *Rattus norvegicus* pasca gingivektomi.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Menambah informasi kepada masyarakat bahwa daun salam merupakan obat herbal sebagai alternatif penyembuh luka yang dapat digunakan untuk mendukung penggunaan *periodontal dressing* pasca gingivektomi.

2. Sebagai dasar teori dalam pengembangan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai pendukung *periodontal dressing* untuk penyembuhan luka di bidang periodontik yang mampu merangsang angiogenesis pasca gingivektomi.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gingiva

Gingiva adalah jaringan lunak yang menutupi gigi. Gingiva yang sehat berwarna merah muda dengan tepi yang tajam menyerupai kerah baju, konsistensi kenyal dengan adanya stipling (Andriani, 2016). Gambaran klinis gingiva normal pada orang dewasa menutupi tulang alveolar dan akar gigi ke arah koronal sampai *cementoenamel junction* (Carranza, 2015).

Gambar 1. Gingiva Normal pada Orang Dewasa dan Batas Anatomi Gingiva (Carranza, 2015)



2.2 Pembesaran Gingiva

2.2.1 Definisi

Peningkatan ukuran gingiva merupakan gambaran umum dari penyakit gingiva. Terminologi untuk kondisi ini adalah pembesaran gingiva dan pertumbuhan gingiva yang terlalu cepat (Carranza, 2015). Pembesaran gingiva adalah suatu peradangan pada gingiva yang disebabkan oleh banyak faktor baik faktor lokal maupun sistemik, yang paling utama adalah faktor lokal yaitu plak bakteri (Andriani, 2016).

2.2.2 Etiologi

Pembesaran gingiva merupakan hasil dari perubahan inflamasi akut atau kronis, dengan perubahan kronis lebih umum terjadi. Penyebabnya adalah plak gigi yang terekspos dalam jangka lama. Klasifikasi pembesaran gingiva menurut faktor etiologi yaitu : (1) *Inflammatory enlargement* kronis dan akut; (2) obat-obatan penyebab pembesaran gingiva, misalnya *phenytoin* (*Dilantin*),

cyclosporine, calcium channel blockers; (3) pembesaran pada kondisi tertentu misalnya penyakit sistemik kehamilan, pubertas; (4) defisiensi vitamin C; (5) non spesifik (*pyogenic granuloma*); (6) penyakit sistemik misalnya leukemia dan penyakit granulomatous (*Wegners's granuloma, sarcoidosis*); (7) *Neoplasma enlargement* (tumor gingiva) berupa tumor *benign* atau tumor *maligna*; dan (8) *False enlargement* (Andriani, 2016).

2.2.3 Gambaran Klinis

Pembesaran gingiva dimulai dari interdental dan margin gingiva. Pada tahap awal terdapat tonjolan di sekitar gigi. Tonjolan ini dapat meningkat ukurannya sampai menutup mahkota gigi. Kriteria dari pembesaran gingiva berdasarkan lokasi dan distribusi antara lain, lokalisata hanya terbatas pada satu atau kelompok gigi, generalisata meliputi seluruh gingiva mulut, marginal yaitu pada margin gingiva, difus meliputi margin, *attached* serta papila gingiva, dan *discrete* (Carranza, 2015).

Tingkat pembesaran gingiva dapat diberikan nilai seperti berikut (Carranza, 2015) :

- a) *Grade 0* : tidak ada tanda-tanda pembesaran gingiva
- b) *Grade I* : pembesaran pada daerah papila interdental
- c) *Grade II* : pembesaran pada papila dan margin gingiva
- d) *Grade III* : pembesaran menutupi $\frac{3}{4}$ atau lebih dari mahkota gigi

Gambar 2. Pembesaran Gingiva Generalisata pada Tahap Parah (Carranza, 2015)



2.3 Gingivektomi

2.3.1 Definisi

Gingivektomi adalah pemotongan jaringan gingiva dengan membuang dinding lateral poket yang bertujuan untuk menghilangkan poket dan peradangan gingiva sehingga didapat gingiva yang fisiologis, fungsional, dan estetik baik. Pembesaran gingiva yang tidak mengecil sesudah dilakukan *scaling*, *curettage*, *root planing*, dan *polishing* maka perlu dilakukan gingivektomi (Andriani, 2016).

2.3.2 Indikasi dan Kontraindikasi

Indikasi dilakukannya gingivektomi adalah sebagai berikut (Carranza, 2015) :

- 1) Eliminasi poket supraboni, dengan menghiraukan kedalamannya, jika dinding poket fibrous dan kuat
- 2) Eliminasi pembesaran gingiva
- 3) Eliminasi abses periodontal supraboni

Kontraindikasi gingivektomi menurut Carranza (2015) adalah sebagai berikut :

- 1) Kebutuhan bedah tulang atau pemeriksaan bentuk dan morfologi tulang
- 2) Situasi dimana dasar dari poket adalah apikal ke *mucogingival junction*
- 3) Pertimbangan estetik, terutama pada anterior maksila

2.3.3 Prosedur

Prosedur gingivektomi adalah sebagai berikut (Carranza, 2015) :

- a. Menggunakan *periodontal probe* untuk mengukur dasar poket di setiap permukaan gigi dan membuat *bleeding point* dengan *pocket marker*.
- b. Melakukan insisi menggunakan *periodontal knives* untuk insisi daerah *facial* dan *lingual*. *Orban periodontal knives* digunakan untuk daerah interdental gigi. *Blade* dan mata blade yang digunakan nomor 12 serta 15. Insisi dimulai dari daerah apikal ke *bleeding point*. Lakukan insisi sedekat mungkin dengan tulang alveolar tapi boleh terekspos. Insisi gingiva dengan bevel 45° dari permukaan gigi untuk membentuk kembali kontur normal gingiva. Membentuk bevel yang kurang tepat dapat

- mempengaruhi bentuk fisiologis kontur gingiva serta dapat terjadi rekurensi poket.
- c. Eksisi jaringan setelah insisi sudah dipisahkan dari seluruh dinding poket dari jaringan di bawahnya terutama dekat dengan permukaan akar.
 - d. Bersihkan sisa kalkulus dan nekrotik sementum hingga halus dan bersih.
 - e. Aplikasi area gingivektomi menggunakan *periodontal pack* untuk menutupi luka.

2.4 Luka

2.4.1 Definisi Luka

Luka merupakan suatu keadaan putusnya kontinuitas jaringan yang dapat diakibatkan oleh trauma, pembedahan, pembedahan, neuropatik, vaskuler, penekanan akibat keganasan. Luka akut dapat didefinisikan sebagai luka baru atau luka yang dibuat di meja operasi sehingga penyembuhannya sesuai waktu yang diperkirakan. Sedangkan luka kronik merupakan luka yang gagal sembuh sesuai waktu yang diperkirakan, tidak berespon baik terhadap terapi dan punya tendensi untuk timbul kembali (Basuki dkk, 2015).

2.4.2 Proses Penyembuhan Luka

Menurut Prasetyono (2009) penyembuhan luka merupakan proses transisi yang paling kompleks dalam fisiologi manusia untuk mencapai kondisi homeostasis.

Proses penyembuhan luka terdiri fase hemostatik dan inflamasi, proliferasi, dan *remodeling* jaringan, ketiga fase tersebut saling tumpang tindih dalam satu waktu (Olczyk *et al*, 2014).

a. Homeostasis

Homeostasis adalah kemampuan tubuh untuk mengatur dan menjaga keseimbangan lingkungan internal tubuh yang ideal dan stabil ketika berhadapan dengan perubahan eksternal (Murade *et al.*, 2014). Hemostatik merupakan tahap pertama dari proses penyembuhan luka setelah cedera muncul dimulai dengan penyempitan pembuluh yang rusak yang disebabkan oleh vasokonstriktor. Trombosit merupakan modulator awal. Terjadi aktivitas adhesi, agregasi, dan berkontak dengan kolagen pembuluh darah yang rusak. Permukaan trombosit diaktifkan secara bersamaan

menjadi tempat aktivasi protrombin. Proses mengkatalisis transformasi fibrinogen menjadi fibrin dan sebagai akibat dari penggumpalan darah. Bekuan darah melindungi integritas struktural pembuluh. Fibronektin dipolimerisasi menunjukkan interaksi dengan berbagai sel dengan reseptor integrin dan merangsang migrasi serta adhesi fibroblas, keratinosit, dan sel-sel endotel. Agregat trombosit terperangkap dalam matriks, rilis, dari butiran α , serta banyak factor pertumbuhan seperti PDGF, TGF- α , TGF- β , bFGF, IGF-1, dan VEGF. Mediator ini mempengaruhi neutrofil, makrofag atau monosit, sel-sel otot polos, fibroblas, dan endotel. PDGF dan TGF- β mempengaruhi neutrofil dan monosit untuk memulai respon inflamasi. TGF- α , bFGF, dan VEGF untuk memulai angiogenesis. Fibroblas diaktifkan oleh PDGF dan IGF-1 untuk memulai migrasi ke luka dan berproliferasi serta biosintesis kolagen.

Jadi, proses penyembuhan diawali dengan hemostatis yang membentuk matriks, mensekresi sitokin, dan faktor pertumbuhan lainnya, serta interaksi dengan ECM yang memulai proses penyembuhan, mempersiapkan ke tahap berikutnya yaitu inflamasi (Olczyk *et al.*, 2014).

b. Fase Inflamasi

Fase inflamasi berkembang selama 24 jam ketika cedera terjadi dan berlangsung rata-rata 48 jam. Fase inflamasi ditandai dengan kemerahan, panas, pembengkakan, dan nyeri di sekitar luka. Tahap awal inflamasi ditandai dengan kontraksi pembuluh darah yang mereda dan diikuti oleh pelebaran serta peningkatan dinding permeabilitas vaskular. Stimulus dari sintesis VEGF memberikan peran penting dalam ketahanan tubuh (Olczyk *et al.*, 2014).

Neutrofil adalah sel-sel inflamasi yang pertama muncul pada luka. Faktor kemotatik, seperti trombin, fibrin, bakteri, histamin, leukotrien, TGF- β , dan PDGF, neutrofil tertarik ke daerah cedera. Sel-sel ini sebagai pertahanan pertama terhadap infeksi dan membunuh bakteri. Sel-sel tersebut melepaskan sitokin proinflamasi IL-1 dan TNF- α . Setelah dua atau tiga hari neutrofil mengalami proses apoptosis dan digantikan oleh monosit (Olczyk *et al.*, 2014).

Neutrofil dan monosit atau makrofag adalah sel utama dalam tahap inflamasi. Sel-sel tersebut berperan untuk menjaga aseptik luka oleh fagositosis dan drebridemen, melepaskan mediator aktif (sitokin

dan faktor pertumbuhan) untuk memulai fase proses penyembuhan selanjutnya (Olczyk *et al.*, 2014).

Monosit bermigrasi dari kapiler ke ECM di bawah pengaruh mediator inflamasi seperti TGF- β dan produk fibrin dan degradasi fibronectin dan bertransformasi menjadi makrofag. Makrofag berperan ganda dalam proses penyembuhan. Makrofag berperan dalam fagositosis dan membunuh bakteri. Makrofag adalah sumber utama sitokin dan faktor pertumbuhan merangsang proliferasi fibroblas dan kolagen. Makrofag adalah sumber TGF- β untuk mensekresi PDGF, TGF- α , FGF, HB-EGF, IL-1, dan IL-6. Mediator tersebut tidak hanya mengontrol proses inflamasi tetapi juga merangsang epitelisasi, kolagen, serta angiogenesis (Olczyk *et al.*, 2014).

Jadi, fase inflamasi dimulai dari neutrofil dan makrofag yang membunuh bakteri serta merangsang sitokin proinflamasi dan faktor pertumbuhan untuk aktivasi fibroblas dan sel epitel. Tidak adanya neutrofil serta berkurangnya makrofag pada luka menunjukkan fase inflamasi berakhir dan fase proliferasi dimulai (Olczyk *et al.*, 2014).

c. Fase Proliferasi

Setelah fase hemostatis dan inflamasi yang berlangsung 2 sampai 3 hari, proses mengembalikan kembali jaringan yang rusak lebih ditekankan. Fase proliferasi dimulai dari hari ke-4 hingga hari ke-21 setelah perlukaan terjadi. Fibroblas mensekresi IGF-1, bFGF, TGF- β , PDGF, dan EGF. Sel endotel mensintesis VEGF, bFGF, dan PDGF, sedangkan keratinosit mensintesis TGF- α dan TGF- β . Mediator tersebut merangsang dan memodulasi ECM, epitelisasi serta angiogenesis (Olczyk *et al.*, 2014; Nofikasari dkk, 2016).

1) Biosintesis ECM

Matriks sementara yang dibentuk dari fibrin dan jaringan fibronectin digantikan oleh matriks kolagen, diperkaya dalam proteoglikan, glukosaminoglikan, serta glikoprotein nonkolagen yang dapat memulihkan struktur dan fungsi jaringan. Fibroblas merupakan sel utama dari fase ini. Fibroblas terbentuk terutama dari sel mesenkim nondiferensiasi yang berada di dermis di bawah pengaruh sitokin dan faktor pertumbuhan yang dilepaskan dari trombosit, neutrofil, dan makrofag serta mengalami transformasi menjadi fibroblas. Sel-sel bermigrasi ke luka selama 48-72 jam ketika cedera muncul (Olczyk *et al.*, 2014).

Pembentukan granulasi dimulai setelah sintesis komponen ECM. Jaringan granulasi muncul sekitar hari keempat setelah cedera. PDGF dan TGF- β merangsang fibroblas mensintesis kolagen sehingga membentuk jaringan granulasi. Jaringan granulasi sebagian besa terdiri dari asam hyaluronic dan fibronectin, dan asam hyaluronic sehingga memiliki kemampuan untuk pembengkakan, membuat struktur anyaman sehingga sel-sel dapat menembus area luka. Pada hari ketiga setelah cedera, konsentrasi asam hyaluronic dalam area luka mulai cepat menurun. Kolagen dalam jaringan granulasi meningkat hingga minggu ketiga yang disertai dengan penurunan fibroblas secara bertahap secara apoptosis. Jenis kolagen I dan III mendominasi dalam dermis dengan perbandingan 4:1. Jaringan granulasi sementara menggantikan dermis memiliki jaringan pembuluh dan kapiler yang tebal, makrofag, dan fibroblas serta kolagen (Olczyk *et al.*, 2014).

2) Eitelisasi

Eitelisasi adalah proses merekonstruksi epitel setelah cedera. Sel epitel berperan dalam menutup luka permukaan. Mediator yang merangsang migrasi dan proliferasi sel adalah faktor pertumbuhan (EGF, KGF, dan TGF- α). Proliferasi sel membuat sel-sel baru untuk lapisan epitel. Migrasi sel-sel epitel yang terhubung dan membuat lapisan yang seraga. TGF- β mempercepat pematangan dari lapisan sel epitel (Olczyk *et al.*, 2014).

Sel-sel epitel pada tepi luka satu sampai dua hari berproliferasi di belakang sel-sel yang bermigrasi aktif. Sel-sel epitel bersifat translokasi pasif dari sel-sel marginal yang telah terbentuk sebelumnya pada tahap migrasi epitel (Neck *et al.*, 2012). Protein sel membran basal kembali muncul sangat teratur setelah proses reepitelisasi kemudian membuat ikatan yang kuat antara membran basal dan dermis di bawahnya (Esfahani *et al.*, 2012).

3) Angiogenesis

Angiogenesis adalah proses pembentukan pembuluh darah baru. Angiogenesis mengembalikan sirkulasi darah di tempat kerusakan dan mencegah nekrosis iskemi serta merangsang proses perbaikan jaringan.

Mediator yang berperan yaitu bFGF, TGF- β , TNF- α , VEGF, angiogenin, dan angiotropin yang disekresikan oleh sel-sel epitel, fibroblas, sel endotel, dan makrofag (Olczyk *et al.*, 2014). Saat

hemostatik terbentuk maka akan memicu terjadinya angiogenesis. Pusat luka relative avaskular disebabkan difusi dari kapiler yang rusak di tepi luka. Angiogenesis menghasilkan jaringan pembuluh baru yang berasal dari cabang pembuluh darah yang sehat (Young *et al.*, 2011).

Angiogenesis adalah fase penting dalam proses penyembuhan. Sel-sel endotel bermigrasi ke matriks *temporary*, lalu berproliferasi dan berkembang dalam bentuk tubular. Migrasi sel-sel endotel membutuhkan sekresi lokal dan melepaskan faktor pertumbuhan pada ECM. Cabang-cabang sel endotel menciptakan struktur awal dari pembentukan pembuluh baru. Proses ini berlangsung hingga pemulihan kapiler dan oksigen serta nutrisi ke dalam daerah luka. Terlihat jaringan granulasi, ketika jaringan diganti oleh matriks kolagen. Angiogenesis dihentikan, kapiler hancur selama proses apoptosis.

Jadi, fase proliferasi berkaitan erat dengan aktivitas fibroblas, pembentukan pembuluh darah baru, dan mensistesis ECM. Sel-sel endotel berproliferasi serta jaringan granulasi menutup permukaan luka (Olczyk *et al.*, 2014).

d. Fase *Remodeling*

Fase terakhir pada proses penyembuhan luka adalah *remodeling*. Waktu fase *remodeling* tergantung pada ukuran dan tipe dari luka. Pada luka yang kecil *wound contraction* dapat terjadi 3-5 hari, sedangkan pada luka yang besar dapat terjadi 7-14 hari (Olczyk *et al.*, 2014).

Selama proses *remodeling*, jumlah fibroblas berkurang dan kepadatan darah juga menurun. Awal terbentuknya jaringan parut ditandai oleh serat kolagen yang terorganisir, digantikan oleh matriks yang menyerupai dermis, dan membentuk kerangka jaringan baru. Fungsi sel berpartisipasi dalam proses penyembuhan diatur oleh sitokin dan faktor pertumbuhan serta dengan interaksi dengan komponen ECM yang dimediasi oleh reseptor integrin. Matriks yang dilepaskan oleh sel endotel dan fibroblas mengaktifkan sel-sel untuk bermigrasi, sedangkan neutrofil dan makrofag membantu dalam *remodeling* dari awal jaringan parut (Olczyk *et al.*, 2014).

Setelah kontraksi luka, produksi dan degradasi ECM ke fase *remodeling*. Fibroblas, makrofag, myofibroblas, dan pembuluh darah mengeliminasi jaringan inflamasi dan membentuk kolagen lebih

tebal. Terdapat kolagen tipe III dan I pada luka yang *mature*. Kolagen membuat jaringan lebih stabil. *Remodeling* jaringan dapat terjadi selama berbulan-bulan atau bertahun-tahun untuk kembali pada bentuk normalnya. Regulasi dari sel proliferasi berkurang. Sitokin dan faktor pertumbuhan menurun juga. Penurunan sel inflamasi membantu jaringan menjadi matang dan membentuk jaringan tanpa bentukan *scar*.

2.4.3 Faktor yang Memengaruhi Penyembuhan Luka

Faktor yang memengaruhi penyembuhan luka diantaranya lingkungan jaringan dan luas kerusakan jaringan, intensitas dan lama rangsangan, kondisi sistemik dan lokal yang menghambat perbaikan. Faktor sistemik yang memengaruhi penyembuhan dan perbaikan luka diantaranya, gizi dan status metabolik, status sirkulasi darah, dan hormonal. Sedangkan faktor lokal yang memengaruhi penyembuhan luka adalah infeksi, faktor mekanis, benda asing, serta lingkungan jaringan, ukuran, lokasi dan jenis luka (Basuki dkk, 2015).

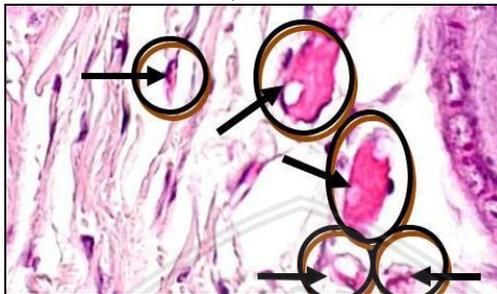
2.5 Angiogenesis

Menurut Mustafida, dkk (2014) parameter keberhasilan proses penyembuhan luka bervariasi, salah satunya adalah pembentukan pembuluh darah baru atau angiogenesis (Nofikasari dkk, 2016). Terjadinya hal ini melalui terbentuknya pembuluh darah baru yang menggantikan pembuluh darah yang rusak yang berasal dari kapiler-kapiler yang muncul dari pembuluh darah kecil di sekitarnya (Harahap, 2017). Arteri dan vena yang kecil dan sedang mula-mula dibentuk sebagai kapiler, kemudian berkembang melalui proliferasi sel-sel endotel dan dindingnya menebal dengan menambah sel otos polos dan berbagai unsur ekstrasel (Pertiwi, 2015).

Pembentukan pembuluh darah baru berfungsi sebagai sarana untuk menyuplai nutrisi dan proses penyembuhan. VEGF mendorong angiogenesis, meningkatkan permeabilitas vaskuler yang menyebabkan eksudasi dan pengendapan protein plasma di ECM dan membentuk stroma untuk pertumbuhan ke dalam fibroblas dan sel endotel. Endotel akan bermigrasi ke area cedera dan berproliferasi. Terjadi remodelling pada lumen kapiler sehingga membentuk pembuluh darah yang matur. (Basuki dkk, 2015).

Pembuluh darah baru yang terbentuk pada proses penyembuhan luka adalah pembuluh darah berjenis pembuluh kapiler.

Gambar 3. Histologi Pembuluh Darah Kapiler dengan Pewarnaan HE Perbesaran 400x (Fatimatuazzahroh, dkk. 2015)



Interpretasi hasil pengamatan yaitu banyaknya pembuluh darah yang terbentuk diidentifikasi dengan bentuk bulat berwarna pink dengan eritrosit berwarna merah pada lapisan sel-sel endotel pada pewarnaan hematoxilyn-eosin (Fatimatuazzahroh dkk, 2015).

2.6 Daun Salam

2.6.1 Taksonomi

Gambar 4. Daun Salam Segar (Rizki dkk, 2015)



Tumbuhan salam dalam nama ilmiah adalah *Syzygium polyanthum*, atau sering disebut dengan *Eugina polyantha* Wight. Dalam masyarakat sumatera dikenal dengan nama meselangan, sedangkan dalam masyarakat jawa dikenal sebagai manting. Klasifikasi daun salam yaitu (Hardiyanti, 2010) :

Kingdom : Plantae

Superdivisi : Spermatophyta

Divisi : Magnolophyta

Kelas : Magnoliopsida
 Sub Kelas : Rosidae
 Ordo : Myrtales
 Famili : Myrtaceae
 Genus : *Syzygium*
 Spesies : *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.

2.6.2 Morfologi

Salam tumbuh menyebar di hutan-hutan Asia Tenggara, mulai dari dataran rendah sampai pegunungan dengan ketinggian 1.800 meter di atas permukaan laut (Kurniawati, 2010). Tinggi pohon salam dapat mencapai 25 m. Pohon daun salam tumbuh dengan batang bulat, rimbun, dan berakar tunggang. Daun tunggal, letak berhadapan, panjang tangkai daun 0.5-1 cm. Daun berbentuk lonjong, ujung meruncing, pangkal meruncing, tepi rata, menyirip, permukaan atas licin berwarna hijau tua, permukaan bawah hijau muda, panjang 5-15 cm, lebar 3-8 cm, harum jika diremas. Bunga majemuk tersusun dalam malai yang keluar dari ujung ranting, berwarna putih, dan harum. Buahnya bulat, diameter 8-9 mm, buah bewarna coklat ketika masak (Dalimartha, 2000).

2.6.3 Zat Aktif dalam Daun Salam dan Efeknya

Berikut adalah kandungan yang terdapat dalam daun salam melalui metode maserasi dan penentuan kualitatif fitokimia (Wicaksono dkk., 2013) :

Tabel 1. Kandungan daun salam

No	Fitokimia	Reagen	Perubahan Warna	Positif (+) atau Negatif
1	Flavonoid	Ekstrak + NaOH 10%	Hijau kecoklatan	+
2	Fenol	Ekstrak + 5 ml aquades + 5% FeCl ₃	Hijau Tua	+
3	Minyak Atsiri	Ekstrak + Sudan III	Orange	+
4	Alkaloid	Ekstrak + Reagen Mayer	White creamy	+

No	Fitokimia	Reagen	Perubahan Warna	Positif (+) atau Negatif
5	Saponin	Ekstrak + Aquades (dikocok)	Terdapat 2 cm layer	+
6	Tanin	Ekstrak + Aquades + 0,1% FeCl ₃	Coklat kehijauan	+

Kandungan yang terdapat dalam *Syzygium polyanthum* yang berperan sebagai penyembuhan adalah saponin, flavonoid, dan tannin.

a. Saponin

Saponin memiliki fungsi meningkatkan aktivitas makrofag sehingga memproduksi sitokin dan *growth hormone* yaitu *vascular endothelial growth hormone* (VEGF) dan *interleukin* (IL-1 β) dan mempercepat proses penyembuhan (Kim *et al.*, 2011). Saponin dapat memicu pembentukan kolagen yang berperan dalam proses penyembuhan luka (Mappa dkk, 2013).

b. Flavonoid

Flavonoid dapat memproduksi mediator dari proses inflamasi seperti sitokin (Kumar *et al*, 2013). Pada fase proliferasi dan remodeling, flavonoid meningkatkan vaskularisasi sehingga suplai oksigen dan nutrisi ke jaringan dan sel yang luka dapat maksimal serta meningkatkan sintesis kolagen. Kolagen berfungsi meningkatkan pembentukan jaringan baru sehingga mempercepat proses penyembuhan luka (Patil *et al.*, 2012). Flavonoid juga mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan jalan merusak permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom sebagai hasil dari interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri dan juga mampu melepaskan energi tranduksi terhadap membran sitoplasma bakteri serta menghambat motilitas bakteri (Mappa dkk, 2013). Flavonoid juga mampu mengatur fungsi sel dengan cara merangsang produksi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang berperan penting dalam pembentukan kembali pembuluh darah (Fatimatuzzahroh, dkk. 2015).

c. Tanin

Tanin diketahui memiliki fungsi sebagai antioksidan dan antibakteri, secara garis besar mekanisme toksisitas tanin dapat merusak membrane sel bakteri sehingga dinding sel mengganggu permeabilitas sel (Lai *et al.*, 2011). Dalam proses penyembuhan, tanin juga memicu translasi dan transkripsi dari VEGF sehingga dapat meningkatkan pembentukan pembuluh darah (Fatimatu Zahroh, dkk. 2015).

2.6.4 Aktivitas Farmakologi

Daun salam memiliki beberapa aktivitas farmakologi yaitu (Rizki dkk., 2015) :

a. Antihipertensi

Senyawa golongan eugenol, tannin dan flavonoid memiliki efek terhadap antihipertensi. Eugenol mempunyai vasorelaksan sehingga memiliki kemampuan menurunkan tekanan darah.

b. Antidiabetes

Senyawa flavonoid mampu menangkap radikal bebas yang merusak sel beta pankreas. Beberapa spesies *Syzygium* diketahui memiliki kemampuan enzim alpha glukosidase yang berperan dalam konversi karbohidrat menjadi glukosa. Penghambatan enzim tersebut menyebabkan glukosa dalam darah berkurang.

c. Antioksidan

Ekstrak daun salam dengan konsentrasi 50 ppm memiliki kemampuan dalam menghambat 82% radikal bebas. Metode penghambatan malondialdehid (MDA) menunjukkan kemampuan ekstrak daun salam konsentrasi 10 ppm dalam menghambat peningkatan MDA hingga menjadi 23,54%. Ekstrak daun salam memiliki kemampuan dalam mencegah rusaknya sel, sehingga tidak terjadi peroksidasi lipid dan produksi MDA menurun.

d. Antiinflamasi

Mekanisme penghambatan antiinflamasi karena adanya kandungan flavonoid dalam menghambat pelepasan histamine sehingga terjadi penurunan inflamasi.

e. Immunomodulator

Ekstrak daun salam dapat menghasilkan produksi nitrit oksid makrofag yang tinggi. Makrofag berperan membunuh kuman dengan menggunakan senyawa oksigen.

f. Antibakteri

Daun salam sebagai antibakteri melalui mekanisme penghambatan sintesis dinding sel dan fungsi membran. Ekstrak daun salam memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA).

g. Antikanker

Senyawa flavonoid menunjukkan kemampuan menghambat sel kanker kolon. Mekanisme penghambatan sel kanker penghambatan melalui efek antiproliferasi sel kanker.

2.7 Tikus Putih

Gambar 5. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Kusumawati, 2004)



Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) berasal dari Asia Tengah adalah sebagai berikut (Kusumawati, 2004) :

Kingdom : *Animalia*

Phylum : *Chordata*

Subphylum : *Vertebrata*

Class : *Mammalia*

Order : *Rodentia*

Family : *Muridae*

Genus : *Rattus*

Spesies : *Norvegicus*

Tikus (*Rattus norvegicus*) dipilih menjadi hewan coba karena mudah dipelihara, relatif sehat, dan memenuhi kriteria dalam suatu penelitian (Malole dan Pramono, 1989). Penelitian sering dilakukan pada *Rattus norvegicus* strain wistar karena tikus ini memiliki kemiripan DNA sebesar 99% dengan manusia sehingga

diharapkan penelitian menggunakan tikus ini akan mewakili respon yang akan diberikan manusia jika dilakukan penelitian (Alexandru, 2011).

2.8 Ekstraksi

2.8.1 Definisi

Ekstraksi adalah pemisahan zat aktif dari tumbuhan menggunakan pelarut selektif dengan prosedur yang standar (Azwanida, 2015). Teknik ekstraksi senyawa organik bahan alam yang biasa digunakan adalah maserasi, perkolasi, infusdasi, dan sokhletasi (Atun, 2014).

2.8.2 Tujuan

Tujuan ekstraksi adalah memisahkan zat terlarut dan meninggalkan zat yang tidak terlarut dalam sel. Dalam tumbuhan ada banyak zat aktif seperti flavonoid, alkaloid dan terponoid (Azwanida, 2015).

2.8.3 Teknik Ekstraksi Maserasi

Maserasi adalah teknik ekstraksi sederhana dengan merendam bubuk simplisia dalam pelarut dalam beberapa hari pada temperatur kamar. Teknik ini menggunakan alat yang sederhana namun membutuhkan waktu lama untuk mengekstraksi sampel dan cairan pelarut banyak dibutuhkan. Teknik ini digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen mudah larut dalam cairan pelarut (Atmojo, 2017).

Pelarut yang biasa digunakan untuk teknik ekstraksi maserasi adalah metanol atau etanol (Atun, 2014) :

1) Metanol

Kelebihan metanol adalah memiliki titik didih yang lebih rendah sehingga mudah diuapkan pada suhu yang lebih rendah. Kekurangannya adalah sifatnya yang lebih toksik.

2) Etanol

Etanol memiliki titik didih yang relatif lebih tinggi sehingga lebih sulit diuapkan, tetapi relatif tidak toksik dibandingkan dengan metanol.

Selain metanol atau etanol, pelarut lain yang biasa digunakan antara lain aseton, kloroform, atau sesuai dengan kebutuhan. Proses maserasi dilakukan selama waktu tertentu dengan sesekali diaduk, biasanya dibutuhkan waktu 1-6 hari. Setelah waktu tertentu, ekstrak

yang disebut maserat dipisahkan dengan cara penyaringan. Kemudian dilakukan remaserasi, yaitu pengulangan dengan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat yang pertama. Remaserasi biasanya dilakukan tiga kali atau sampai senyawa yang diinginkan dalam sampel benar-benar sudah habis. Cara yang biasa digunakan adalah dengan menempatkan sejumlah bahan dalam wadah tertutup dan ditambahkan pelarut dengan perbandingan kira-kira 1:7. Diamkan selama 1-6 hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya dengan sesekali diaduk. Kemudian cairan dipisahkan, bagian yang mengendap dibuang.

Prinsip kerjanya, pada saat proses perendaman senyawa organik yang terkandung dalam sampel berdifusi melewati dinding sel untuk melarutkan konstituen dalam sel dan juga memacu larutan dalam sel untuk berdifusi keluar. Proses ekstraksi berjalan dengan difusi molekuler, sehingga proses ini berlangsung secara perlahan. Setelah ekstraksi selesai, residu dari sampel harus dipisahkan dengan pelarut dengan disaring. Remaserasi akan lebih efisien daripada hanya satu kali maserasi, hal ini karena ada kemungkinan sejumlah besar komponen aktif masih tertinggal dalam proses maserasi yang pertama. Sejumlah filtrat (maserat) dari remaserasi selanjutnya dicampur dan dipekatkan (Atun, 2014).

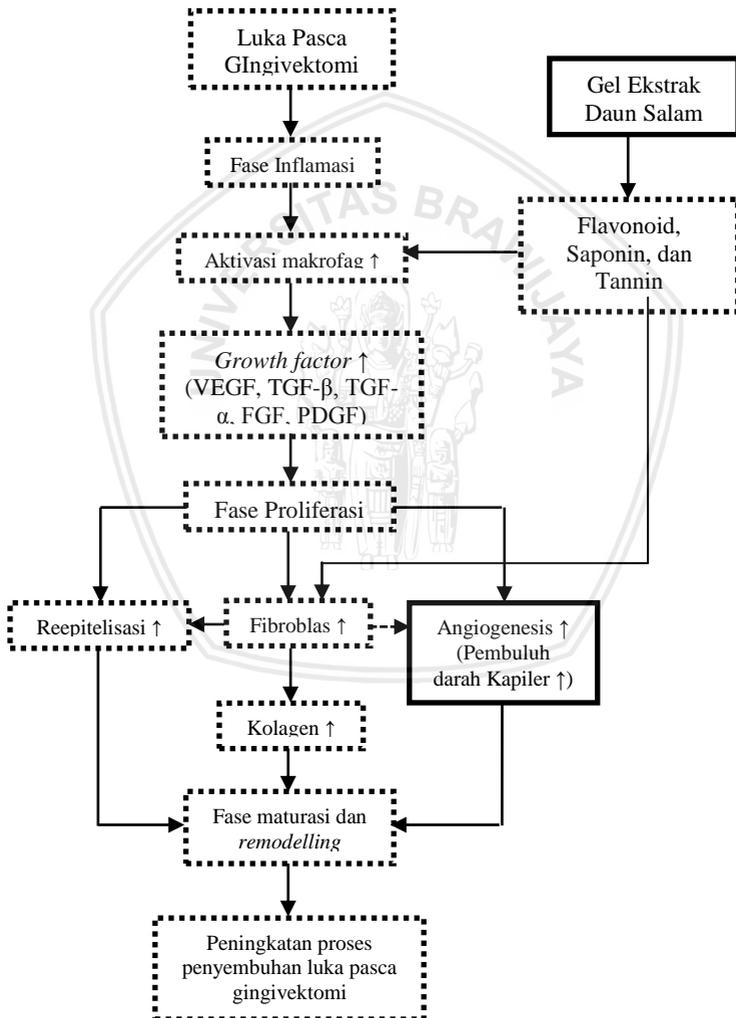
2.9 Gel

Gel merupakan bentuk sediaan setengah padat yang terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel organik dan anorganik (Sharma, 2008). Gel terbentuk saat dilakukan pencampuran basis gel dengan ekstrak yang akan dipakai. Basis gel yang biasa digunakan adalah karbomer, propilenglikol, trietanolamin, dan natrium benzoat. Gel merupakan salah satu bentuk sediaan topikal pada berbagai obat saat ini, bentuk sediaan topikal lainnya adalah salep dan krim. Keuntungan sediaan gel daripada sediaan topikal lainnya adalah mudah merata jika dioleskan pada kulit tanpa penekanan, memberi sensasi dingin, tidak membekas di kulit, dan sangat mudah digunakan (Anggraeni *et al.*, 2012).

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Gambar 1. Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan :



: Variabel yang diteliti



: Variabel yang tidak diteliti

Tubuh memiliki respon fisiologis terhadap luka, yakni proses penyembuhan luka. Proses penyembuhan luka terdiri dari empat fase, yaitu fase inflamasi, proliferasi, maturasi, dan *remodelling*. Selama proses penyembuhan luka terjadi pembekuan darah, respon inflamasi akut dan kronis, neovaskularisasi, proliferasi sel hingga apoptosis. Seperti luka pada umumnya, pada luka pasca gingivektomi, sesaat setelah terjadinya luka akan mengalami proses penyembuhan luka, diantaranya infiltrasi sel-sel radang pada daerah luka, pembentukan jaringan ikat (fibroblas), pembentukan pembuluh darah baru (neokapilarisasi), dan re-epitalisasi jaringan epidermis.

Proses penyembuhan ini dimediasi berbagai sel, sitokin, matriks, dan *growth factor*. Daun salam yang dibuat dalam sediaan gel ekstrak memiliki kandungan zat seperti flavonoid, saponin, dan tanin. Saponin dan flavonoid memiliki fungsi diantaranya meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru pada luka sehingga suplai oksigen dan nutrisi lebih banyak. Jumlah pembuluh darah dipengaruhi oleh jumlah makrofag. Makrofag menjadi sumber sitokin yang diperlukan untuk menstimulasi fibroplasia dan angiogenesis. Makrofag menghasilkan *growth factor* seperti VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) dan FGF (*Fibroblast Growth Factor*) yang menyebabkan sekresi proteinase oleh sel endotelial dan proliferasi untuk pembentukan pembuluh baru (angiogenesis). Kandungan flavonoid, saponin, dan tannin dalam daun salam mampu meningkatkan jumlah

VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) yang merupakan faktor penting dalam pembentukan pembuluh darah. Peningkatan pembentukan pembuluh darah baru akan mempercepat proses penyembuhan luka.

3.2 Hipotesis Penelitian

Gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) berpengaruh terhadap peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler dalam proses penyembuhan luka *Rattus norvegicus* pasca gingivektomi.



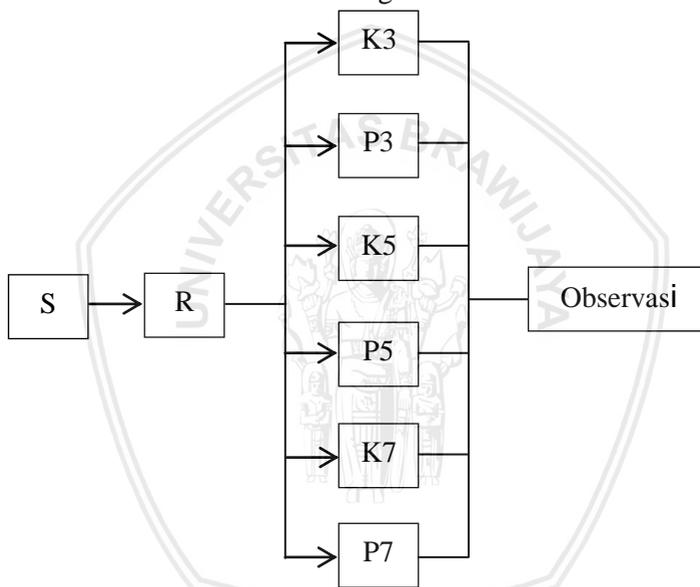


BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan *true experimental* dilaksanakan di laboratorium secara *in vivo* dengan menggunakan rancangan percobaan *Randomized Group Post Test Only Design*. Subjek penelitian dibagi menjadi 6 kelompok berdasarkan 3 *time series*.

Gambar 1. Rancangan Penelitian



Keterangan :

S : Sampel

R : Random

K3 : Kelompok kontrol tanpa perlakuan dan dilakukan pembedahan hari ke-3 pasca gingivektomi

K5 : Kelompok kontrol tanpa perlakuan dan dilakukan pembedahan hari ke-5 pasca gingivektomi

K7 : Kelompok kontrol tanpa perlakuan dan dilakukan pembedahan hari ke-7 pasca gingivektomi

P3 : Kelompok perlakuan pemberian gel ekstrak daun salam 2 kali

sehari selama 3 hari pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan

- P5 : Kelompok perlakuan pemberian gel ekstrak daun salam 2 kali sehari selama 5 hari pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan
- P7 : Kelompok perlakuan pemberian gel ekstrak daun salam 2 kali sehari selama 7 hari pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan

4.2 Sampel

Sampel dari penelitian ini adalah tikus jenis *Rattus norvegicus* strain wistar yang dipelihara di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Kriteria inklusi dari subjek adalah tikus jantan, usia 10 minggu, berat badan 250-300 gram, dan sehat. Kriteria eksklusi dari subjek adalah tikus yang pernah digunakan dalam penelitian sebelumnya dan tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung.

Jumlah sampel pada penelitian, setiap tikus mendapatkan perlakuan berbeda dalam rongga mulut, yaitu dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan (kontrol dan gel ekstrak daun salam). Penelitian neovaskularisasi ini menggunakan 3 *time series*, yaitu hari ke 3, 5 dan 7. Sehingga total terbagi menjadi 6 kelompok sampel. Jumlah sampel tiap perlakuan didapatkan dari rumus : $(t - 1)(r - 1) \geq 15$, dengan t adalah jumlah perlakuan dan r adalah jumlah sampel yang dibutuhkan tiap perlakuan (Hanafiah, 2005). Berdasarkan rumus tersebut maka didapatkan hasil perhitungan :

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

$$(2 \text{ perlakuan} \times 3 \text{ time series} - 1)(r - 1) \geq 15$$

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

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

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4$$

Jumlah tikus yang digunakan adalah 4 tikus sebagai replikasi untuk tiap kelompok. Sehingga pada penelitian ini banyak tikus yang digunakan adalah 2 (jumlah dosis perlakuan) x 3 (hari pengamatan) x 4 (minimal 3 tikus yang dibedah setiap harinya 3 replikasi) = 24 tikus. Maka diperlukan sampel sejumlah 24 tikus dengan

pembedahan 8 tikus (4 tikus kelompok kontrol dan 4 tikus kelompok perlakuan) pada setiap *time series*, lalu untuk mengurangi *lost of sample* ditambahkan 6 tikus cadangan (1 tikus untuk tiap kelompok). Sehingga jumlah total tikus yang diperlukan adalah 30 ekor.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*).

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah pembuluh darah kapiler.

4.3.3 Variabel Kendali

Variabel kendali pada penelitian ini terdiri dari jenis, usia, jenis kelamin, dan berat badan hewan coba, serta kebersihan kandang dan nutrisi makanan dan minuman hewan coba.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Farmasi, Laboratorium Biokimia, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dalam jangka waktu \pm 2 bulan.

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Perawatan dan Pembuatan Makanan Hewan Coba

Alat yang dibutuhkan untuk perawatan hewan coba terdiri dari 30 buah bak plastik berukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm dengan tutup kandang anyam kawat, botol air, sekam, dan neraca Sartorius untuk menimbang berat badan hewan coba. Bahan makanan hewan coba adalah pakan tikus (pellet).

4.5.2 Pembuatan Ekstrak Daun Salam

Alat yang dibutuhkan yaitu kertas saring, blender/pisau, gelas ekstraksi, seperangkat evaporator vakum, alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, *rotary evaporator*, bak penampung air dingin tabung pendingin dan pompa sirkulasi air dingin, pompa vakum, tabung penampung etanol, cawan penguap, batu didih, dan neraca analitik.

Bahan yang dibutuhkan adalah daun salam, etanol 96%, dan *aquadest*.

4.5.3 Gel Ekstrak Daun Salam

Alat yang dibutuhkan adalah pisau anti karat (*stainless steel*), timbangan gram, timbangan miligram, corong plastik, gelas ukur, pengaduk kayu, pengaduk kaca, tabung kaca dan tutupnya, mortar pestle, cawan porselen, kertas, plastik, gunting, sudip, sendok porselen, water heater, dan pot untuk menyimpan gel.

Bahan yang dibutuhkan yaitu ekstrak daun salam, karbopol, propilenglikol, metilparaben, dan *aquadest*.

4.5.4 Prosedur Gingivektomi

Alat yang dibutuhkan meliputi pinset, sonde *halfmoon*, *tools tray*, *round diamond bur*, *handpiece low speed contra angle*, mikromotor, pinset bedah, pinset marker, *dappen glass*, tempat antiseptik, spuit irigasi, spuit anestesi, dan cawan petri. Bahan yang dibutuhkan yaitu masker, *handscoon*, obat anestesi (Ketamin 0,2 ml), *cotton pellet*, povidone iodine 3%, alkohol 70%, kassa steril, akuades, obat analgesik Novalgin 0,3 ml intraperitoneal, dan formalin 10%.

4.5.5 Penghitung Luas Penampang

Alat yang dibutuhkan meliputi jangka sorong, dan *periodontal probe*. Bahan yang dibutuhkan adalah kapas dan alkohol 70%.

4.5.6 Pembedahan Tikus

Alat yang dibutuhkan adalah gunting bedah, pinset, *styrofoam*, dan kapas. Bahan yang dibutuhkan adalah formalin 10% 200 ml, alkohol, dan tabung organ 30 buah.

4.5.7 Pembuatan Preparat Jaringan

Alat yang dibutuhkan adalah telenan, pisau scalpel, pinset, saringan, *tissue cassette*, mesin processor otomatis, mesin bloking, mesin vakum, freezer (-20⁰ C). Mesin microtome, pisau microtome,

water bath 46⁰ C, kaca obyek, kaca penutup, rak khusus untuk pewarnaan, dan oven 60⁰ C.

Bahan yang dibutuhkan adalah potongan jaringan hewan yang telah difiksasi dengan Buffer Neutral Formalin (BNF) 10%, ethanol absolute, xylol, parafin, glyserin 99,5%, albumin, larutan hematoksin, lithium carbonat, larutan eosin, dan larutan dekalsifikasi EDTA (Muntiha, 2001).

4.5.8 Penghitungan Jumlah Pembuluh Darah Kapiler

Alat yang dibutuhkan meliputi preparat, *slide glass*, dan mikroskop cahaya. Bahan yang dibutuhkan adalah formalin 10%, alkohol absolut, xilol, *paraffin* lunak, *paraffin* keras, haris hematoxilen, alkohol asam, larutan amonium, counter staining, dan entelan.

4.6 Definisi Operasional

4.6.1 Gel Ekstrak Daun Salam

Gel ekstrak daun salam adalah gel yang dibuat dari ekstrak daun salam dan bahan basis gel. Ekstrak daun salam dibuat menggunakan serbuk daun salam yang direndam dalam etanol 96% dan diproses dengan metode maserasi. Serbuk daun salam didapat dan diidentifikasi di Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur UPT Medica Batu.

4.6.2 Penghitungan Jumlah Pembuluh Darah Kapiler

Penghitungan jumlah pembuluh darah kapiler adalah menghitung pembuluh darah kapiler yang terlihat pada preparat gingiva hewan coba pasca gingivektomi yang dipotong secara melintang pada hari ke 3, 5 dan 7 dengan pewarnaan Hematoxile-Eosin (HE) dilihat menggunakan mikroskop cahaya 400x per 5 lapangan pandang. Pada pewarnaan Hematoksin-eosin, pembuluh darah baru akan tampak sebagai bulatan berbatas jelas dan terlihat gambaran inti sel endotel berwarna ungu di tepi, lumen berwarna putih, dan bagian tengahnya tampak butiran-butiran berwarna merah, yaitu eritrosit (Eroschenko, 2013).

4.6.3 Pembuatan Luka Gingivektomi pada Gingiva

Membuat luka terbuka menggunakan *round diamond bur* no. ½ dengan ketebalan luka 0,5-1 mm pada gingiva tikus *Rattus norvegicus* seluas 0,25 cm x 0,5 cm (Fernandes *et al*, 2010). Pembuatan luka pada gingiva akan dilakukan pada regio anterior

rahang bawah, tepatnya di gingiva labial tepat di bawah gigi incisivus sentral karena memiliki ketebalan gingiva dan kontur yang paling baik (Nofikasari dkk, 2016).

4.7 Prosedur Penelitian

Pada penelitian ini, ekstrak daun salam dibuat menjadi sediaan gel ekstrak daun salam. Ekstrak daun salam adalah sediaan pekat yang didapat dengan mengekstrak zat aktif daun salam dengan metode maserasi menggunakan pelarut organik etanol 96% agar zat aktif yang merupakan senyawa organik dan memiliki gugusan fenol dapat terlarut. Serbuk daun salam didapatkan dari daun salam yang telah dikeringkan, kemudian dihaluskan. Serbuk daun salam lalu direndam dalam etanol 96%, diaduk, didiamkan, dan diambil filtratnya dengan penyaringan yang kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60°C. Kemudian ekstrak daun salam dibuat gel dengan karbopol, propilenglikol, dan metilparaben sebagai basis gel hingga terbentuk gel ekstrak daun salam, yang menghasilkan persentase ekstrak daun salam dalam sediaan gel sebesar 28,57%. Aklimatisasi dilakukan pada hewan coba selama 7 hari. Hewan coba diletakkan dalam kandang yang telah diberi label sesuai dengan perlakuan yang diberikan. Satu kandang terdiri dari 1 ekor tikus. Kemudian dilakukan prosedur gingivektomi pada seluruh hewan coba berdasarkan pengelompokan perlakuan yang sudah ditentukan, dan pemberian gel ekstrak daun salam pada masing-masing kelompok perlakuan.

Kemudian pada setiap *time series* yaitu hari ke-3, 5 dan 7 dilakukan pembedahan pada 8 hewan coba, yang terdiri dari 4 tikus kelompok kontrol positif (K) dan 4 tikus kelompok perlakuan (P). Setelah itu, dilakukan pembuatan preparat, penghitungan jumlah angiogenesis, analisis data, dan pembuatan kesimpulan.

4.7.1 Perawatan Hewan Coba

Pemeliharaan *Rattus norvegicus* didalam kandang yang terbuat dari bak plastik bersih, dengan ukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm dengan tutup kandang dibuat dari anyaman kawat. Hewan coba dipelihara dalam suhu ruangan yang berkisar antara 18°C-27°C, ventilasi kandang harus baik. Setiap hari dilakukan penggantian sekam, pemberian minum dengan air mineral (15-30 ml/hari), dan pemberian makan dengan pellet (10%-15% dari berat badan/hari).

4.7.2 Pembuatan Gel Ekstrak Daun Salam

Daun salam didapatkan dari Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur UPT Medika Batu dalam bentuk serbuk 500 gr. Proses pembuatan ekstrak daun salam menggunakan serbuk daun salam sebanyak 250 gr dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96% diaduk dengan *homogenizer* selama 30 menit dan didiamkan 24 jam, setelah itu campuran disaring menggunakan corong *Buchner* yang disertai kertas penyaring. Proses ini diulang 3 kali hingga diperoleh hasil berupa ampas dan filtrat. Filtrat hasil penyaringan dijadikan satu lalu diuapkan dengan *vacuum rotary evaporation* yang selanjutnya diuapka kembali menggunakan pemanas *water bath* pada suhu 70⁰C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak tersebut kemudian dituang dengan cawan porselin lalu dipanaskan dengan *water bath* suhu 70⁰C sambil terus diaduk sehingga diperoleh ekstrak daun salam. Hasil ekstrak kental yang didapatkan sebanyak 53,14 gram dengan rendemen yang diperoleh sebesar 10,62%. Kemudian dilanjutkan dengan pembuatan gel ekstrak daun salam.

Pembuatan gel ekstrak daun salam dilakukan diruang farmasetik dengan suhu ruang stabil. Diawali dengan persiapan alat dan bahan yang dibutuhkan. Karbopol dikembangkan dengan *aquadest* pada mortar sampai mengembang. Metilparaben dilarutkan dalam gliserin aduk hingga larut dalam *beaker glass*. Di mortar berbeda ekstrak daun salam 6 gr digerus hingga teksturnya menjadi lembut lalu tambahkan sebagian propilenglikol lalu gerus hingga homogen. Karbopol mengembang gerus terlebih dahulu hingga membentuk basis gel. Campuran gliserin dan metilparaben ditambahkan dalam basis gel digerus hingga homogen. Sisa propilenglikol ditambahkan dalam campuran basis, gerus hingga homogen. Campuran gerusan ekstrak ke dalam basis gel dan gerus sampai homogen.

Gel ekstrak daun salam kemudian dilakukan uji fisik gel meliputi organolptis, homogenitas, PH, dan daya sebar. Pengamatan organoleptis bertujuan untuk mengetahui sifat fisik gel dan mengetahui apakah ada perubahan warna, bentuk, dan bau selama penyimpanan. Uji pH bertujuan untuk mengetahui adanya perubahan pH yang mungkin terjadi selama penyimpanan yang akan berpengaruh terhadap stabilitas gel. Untuk memenuhi syarat sediaan gel yang baik dan dapat diterima masyarakat dapat dilihat dari sifat

fisik dan stabilitasnya. Sifat fisik yang diukur adalah daya sebar gel. Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan zat yang akan diuji pada sekeping kaca harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar.

Tabel 1. Formulasi Gel Ekstrak Daun Salam

Bahan	Jumlah (gram)
Ekstrak daun salam	6
Karbopol	1,5
Propilenglikol	1,5
Metilparaben	0,045
Air	30

Hasil total gel ekstrak daun salam yang didapatkan dari formulasi tersebut adalah sebanyak 21 ml (1 ml = 1 gram). Persentase ekstrak daun salam dalam gel ekstrak daun salam adalah 28,57%. Setelah gel ekstrak daun salam selesai dibuat, dilakukan penimbangan kemudian gel disimpan. Gel ditempatkan dalam wadah berupa *tube* atau pot yang terlindung dari kontaminasi luar.

4.7.3 Tindakan Gingivektomi

Prosedur gingivektomi dilakukan pada jaringan fisiologi gingiva atau yang tidak mengalami *gingival enlargement* di regio anterior rahang bawah tepat dibawah gigi insisif sentral, tahapan yang dilakukan sebagai berikut :

- Aplikasi povidone iodine sebagai antiseptik pada daerah yang akan dilakukan gingivektomi.
- Anastesi intraperitoneal menggunakan Ketamine, perhitungan sediaan 50mg/ml dan kebutuhan dengan onset 10-15 menit adalah 40mg/kgBB, maka dengan tikus ± 250 mg memerlukan 0,2 ml untuk memberikan efek analgesik dan sedasi sebelum dilakukan gingivektomi di bagian kuadran bawah abdomen secara intraperitoneal.
- Membuat perlukaan dengan menggunakan *round diamond bur low speed no ½* pada gingiva labial mandibula tepat di bawah gigi incisivus sentral dengan luas 1 mm x 5 mm sedalam 0,5 mm.

- d. Kontrol pendarahan dengan kasa steril.
- e. Irigasi antiseptik povidone iodine menggunakan syringe irigasi.
- f. Aplikasi gel ekstrak daun salam pada kelompok perlakuan (P3, P5, P7) menggunakan *cotton bud* pada permukaan luka. Untuk kelompok kontrol positif tidak diaplikasikan gel ekstrak daun salam.
- g. Perawatan hewan coba pasca gingivektomi adalah dengan pemberian pakan lunak dan pemberian analgesik Novalgin 0,3 ml intraperitoneal sebanyak 1 kali sehari selama 1 hari (Wulan dkk., 2013).

4.7.4 Pengaplikasian Gel Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

Aplikasi gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) setelah dilakukan prosedur gingivektomi selama dua kali sehari (Nofikasari dkk., 2016), sedangkan kelompok kontrol positif tidak diberi perlakuan. Pengaplikasian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dilakukan secara topikal menggunakan *cotton bud*. Pengaplikasian pada pagi dan sore hari. Dilakukan aplikasi yang sama sampai hari ke-3 pada kelompok P3, ke-5 pada kelompok P5, dan ke-7 pada kelompok P7.

4.7.5 Pembedahan Hewan Coba

Pada hari ke 3,5, dan 7 hewan coba dikorbankan menggunakan *cervical dislocation* oleh tenaga ahli yang kompeten dibidangnya. Hewan coba yang akan dikorbankan harus dalam keadaan telah teranestesi dengan Ketamine 0,2 ml secara intraperitoneal dan tidak boleh dilakukan pada hewan dalam keadaan sadar. Dilakukan dengan cara memisahkan tengkorak dan otak dari sumsum tulang belakang. Teknik untuk melakukan metode ini adalah dengan memberikan tekanan ke bagian posterior dasar tulang tengkorak dan sumsum tulang belakang. Setelah itu, dilakukan pembedahan untuk mengambil jaringan gingiva pasca gingivektomi pada hewan coba beserta sedikit tulang mandibula disekitarnya. Jaringan tersebut kemudian dibersihkan dengan NaCl 0.9% fisiologis dan dimasukkan ke dalam botol organ yang sudah berisi larutan BNF (*Buffered Neutral Formalin*) 10% dengan pH 6.5-7.5 (Muntiha, 2001).

4.7.6 Pembuatan Preparat dan Pengamatan Histologi Luka Gingiva

Pembuatan preparat dilakukan dengan estimasi setiap luka dengan 3 kali pembuatan preparat. Jika masing-masing diperlukan 3 preparat untuk setiap perlakuan, maka dengan 6 perlakuan, 3 pengulangan dan 3 hari pengamatan, akan membutuhkan total 54 preparat.

Jaringan yang diamati haruslah dalam keadaan segar dalam arti harus segera diproses setelah dilakukan pembedahan, karena jaringan yang terlambat diambil dapat membuat sel rusak. Setelah itu, dilakukan pembedahan untuk pengambilan jaringan gingiva yang telah dilakukan gingivektomi dengan menyertakan sedikit tulang rahang disekitarnya agar tidak terjadi pengerutan saat pembuatan preparat (Bayu dkk., 2010). Kemudian jaringan direndam dalam botol organ dengan larutan *Buffered Neutral Formalin* (BNF) 10%, lama fiksasi minimal 2 hari. Jika jaringan berupa tulang maka dilakukan dekalsifikasi jaringan dengan perbandingan antara jaringan dan larutan 1 : 20 dengan waktu perendaman selama 24 jam.

Proses pembuatan preparat histopatologi (Muntiha, 2001) :

1. Memotong jaringan organ
Setelah jaringan yang berada di dalam larutan fiksatif matang, jaringan ditiriskan pada saringan dan selanjutnya dipotong menggunakan *scalpel* dengan ketebalan 0,3-0,5 dan disusun dalam *tissue cassette*, kemudian sejumlah *tissue cassette* dimasukkan ke dalam keranjang khusus (*basket*).
2. Proses dehidrasi
Keranjang (*basket*) yang didalamnya berisi jaringan organ, dimasukkan ke dalam mesin prosesor otomatis. Selanjutnya jaringan mengalami proses dehidrasi bertahap dengan putaran waktu sebagai berikut : ethanol 70% (2 jam), ethanol 80% (2 jam), ethanol 90% (2 jam), ethanol absolut (2 jam), xylol (2 jam), parafin cair (2 jam). Selanjutnya keranjang yang berisi *tissue cassette* dikeluarkan untuk dilakukan proses berikutnya.
3. Vakum
Setelah proses dehidrasi dilakukan, kemudian dilanjutkan dengan penghilangan udara dari jaringan dengan

menggunakan mesin vakum yang di dalamnya terdapat tabung untuk menyimpan keranjang yang diisi parafin cair dengan temperatur (59-60°C) di vakum selama 30 menit. Keranjang diangkat, *tissue cassette* dikeluarkan dan disimpan pada temperatur 60°C untuk sementara waktu sebelum pencetakan dilakukan dengan parafin cair.

4. Mencetak blok parafin

Cetakan dari bahan *stainless steel* dihangatkan di atas api bunsen, lalu ke dalam setiap cetakan dimasukkan jaringan sambil diatur dan sedikit ditekan. Sementara itu ditempat lain telah disiapkan parafin cair dalam tempat khusus, sehingga dicapai suhu 60°C. Parafin cair tersebut dituangkan ke dalam jaringan sampai seluruh jaringan terendam parafin. Parafin dibiarkan membeku di atas mesin pendingin. Selanjutnya, blok parafin dilepas dari cetakan dan disimpan di *freezer* (-20°C) sebelum dilakukan pemotongan.

5. Memotong blok jaringan

Blok parafin yang mengandung jaringan, kemudian dipotong dengan menggunakan mesin mikrotom dengan ketebalan berkisar 3-4 μm . Potongan tersebut diletakkan secara hati-hati di atas permukaan air dalam *waterbath* bersuhu 46°C. Pada kesempatan ini bentuk irisan dirapikan kemudian diletakkan diatas kaca obyek yang telah diolesi ewith, yang berfungsi sebagai bahan perekat. Kaca obyek dengan jaringan di atasnya disusun di dalam rak khusus dan dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 60°C sampai preparat siap untuk diwarnai.

Preparat yang akan diwarnai diletakkan pada rak khusus dan dicelupkan secara berurutan ke dalam larutan dengan waktu sebagai berikut : xylo 3 menit, xylo 3 menit, ethanol absolute 3 menit, ethanol absolute 3 menit, ethanol 90% 3 menit, ethanol 80% 3 menit, bilas dengan air keran 1 menit, larutan hematoksilin 6-7 menit, bilas dengan air keran 1 menit, larutan pembiru 1 menit, air keran 1 menit, larutan eosin 1-5 menit, bilas dengan air keran 1 menit, ethanol 80% 10 celupan, ethanol 90% 10 celupan, ethanol absolute 10 celupan, ethanol absolute 1 menit, xylo 3 menit, xylo 3 menit, xylo 3 menit.

Kemudian preparat diangkat satu persatu dari larutan xylo dalam keadaan basah, diberi satu tetes cairan perekat (DPX) dan selanjutnya ditutup dengan kaca penutup. Hasil pewarnaan dapat dilihat dibawah mikroskop.

4.7.7 Penghitungan Jumlah Pembuluh Darah Kapiler pada Daerah Luka dan Persentase Penyembuhan Luka

Penghitungan jumlah pembuluh darah kapiler dihitung dalam 5 lapangan pandang menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Persentase percepatan penyembuhan luka didapatkan dari peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler dari perbandingan antara hitungan hari dan jumlah pembuluh darah antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

4.7.8 Sanitasi Hewan Coba

Semua sisa organ hewan coba yang sudah dibedah dan tidak terpakai dilakukan sanitasi. Tubuh tikus yang tersisa dibersihkan dan dilakukan aseptik dengan alkohol 70%. Semua sisa organ tikus yang sudah dibedah dan tidak terpakai kemudian dikubur dengan mengubur di halaman belakang Laboratorium Biokimia dengan membuat lubang sebesar 60 cm x 40 cm x 40 cm tanpa dibalut kain atau bahan yang dapat menghambat proses penguraian. Sampah dari prosedur pembedahan yang tidak terpakai dibuang dalam satu kantong plastik, sampah medis dipisahkan tersendiri, dan diserahkan ke Rumah Sakit Saiful Anwar untuk proses pembuangan. Area kerja sisa pembedahan dibersihkan dengan sabun dan jika perlu disemprot dengan alkohol.

4.8 Analisis Data

Hasil penghitungan jumlah angiogenesis yang positif pada tikus kontrol positif dan perlakuan dianalisa secara statistik dengan menggunakan program komputerisasi dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Langkah-langkah uji hipotesis komparatif dan korelatif adalah sebagai berikut :

1. Uji Normalitas Data

Menginterpretasikan apakah suatu data memiliki sebaran normal atau tidak. Karena pemilihan penyajian data dan uji hipotesis tergantung normal tidaknya distribusi data. Untuk penyajian data yang terdistribusi normal, maka digunakan mean dan standar deviasi

sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Sedangkan untuk penyajian data yang tidak terdistribusi normal digunakan median dan minimum maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Untuk uji hipotesis, jika sebaran data normal, maka digunakan uji parametrik. Sedangkan jika sebaran data tidak normal, digunakan uji non parametrik.

2. Uji Homogenitas Varian

Menguji berlaku atau tidaknya asumsi ANOVA, apakah data yang diperoleh dari setiap perlakuan memiliki varian yang homogen. Jika didapatkan varian yang homogen, maka analisa dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA.

3. Uji One-Way ANOVA

Membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui bahwa minimal ada dua kelompok yang berbeda signifikan.

4. Post Hoc Test (Uji High Significant Difference)

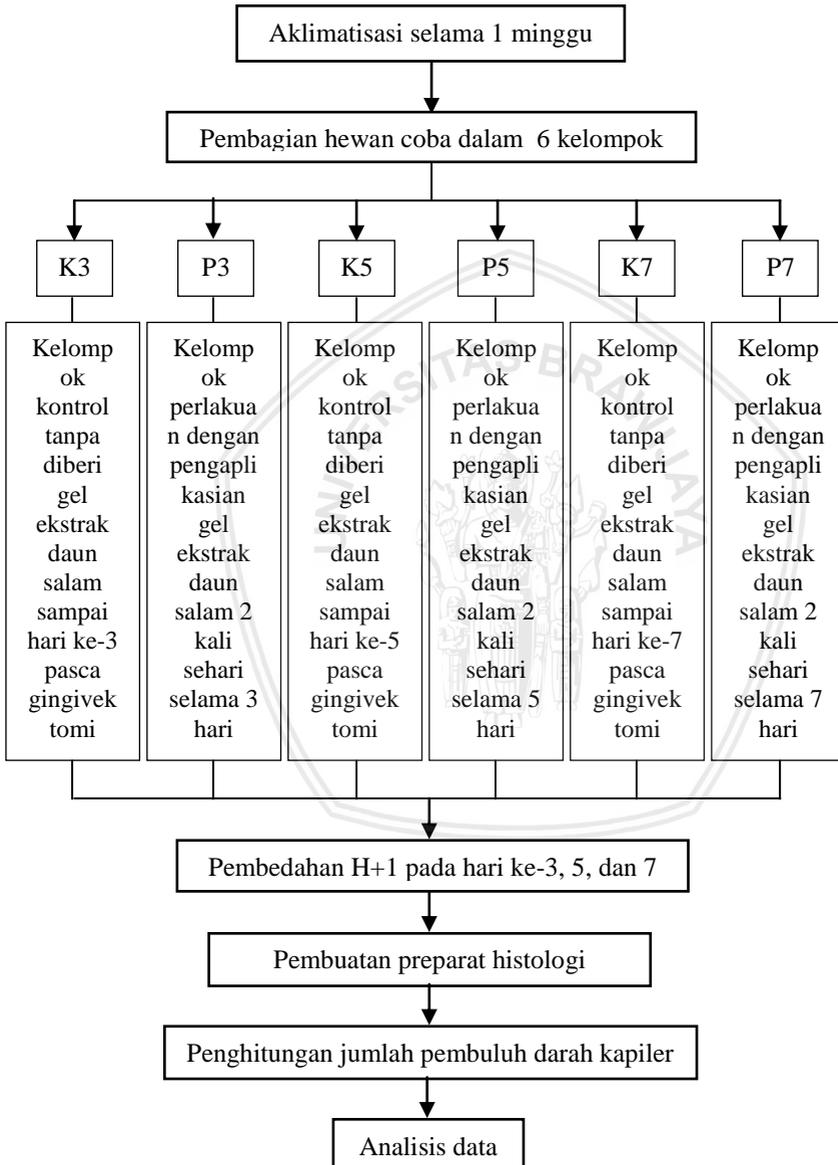
Mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil tes ANOVA. Uji Post Hoc yang digunakan adalah uji Tukey dengan tingkat kemaknaan 95% ($p = 0,05$).

5. Uji Korelasi Pearson

Mengetahui besarnya perbedaan secara kualitatif kelompok yang berbeda secara signifikan yang telah ditentukan sebelumnya dari hasil Uji Post Hoc (HSD).

4.9 Skema Prosedur Penelitian

Gambar 2. Prosedur Penelitian



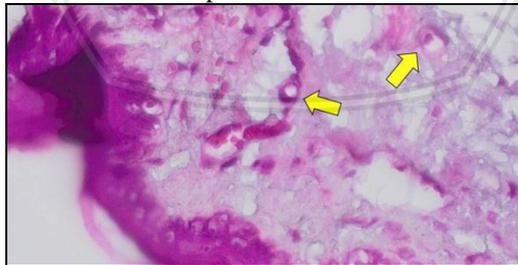
BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

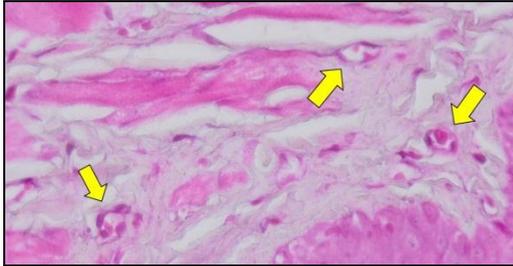
5.1 Hasil Penelitian

Hewan coba pada penelitian ini dibagi 6 kelompok, yaitu kelompok K3 (kelompok kontrol tanpa diberi gel ekstrak daun salam sampai hari ke-3 pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan), kelompok P3 (kelompok perlakuan diberi gel ekstrak daun salam dan diaplikasikan dua kali sehari selama tiga hari pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan), kelompok K5 (kelompok kontrol tanpa diberi gel ekstrak daun salam sampai hari ke-5 pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan), P5 (kelompok perlakuan diberi gel ekstrak daun salam dan diaplikasikan dua kali sehari selama lima hari pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan), kelompok K7 (kelompok kontrol tanpa diberi gel ekstrak daun salam sampai hari ke-7 pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan), dan P7 (kelompok perlakuan diberi gel ekstrak daun salam dan diaplikasikan dua kali sehari selama tujuh hari pasca gingivektomi dan kemudian dilakukan pembedahan). Setelah dilakukan pembedahan dilakukan penghitungan jumlah pembuluh darah kapiler yang dihitung dengan pembesaran mikroskop 400 kali dengan 5 lapang pandang.

Gambar 1. Pembuluh Darah Kapiler Kelompok K3 dengan Pewarnaan HE pada Perbesaran 400 Kali



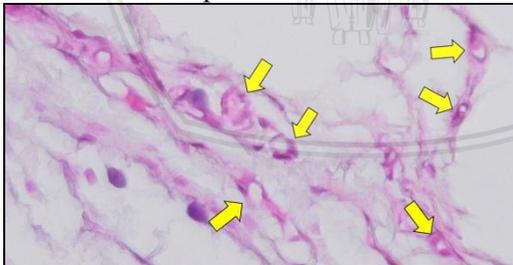
Gambar 2. Pembuluh Darah Kapiler Kelompok P3 dengan Pewarnaan HE pada Perbesaran 400 Kali



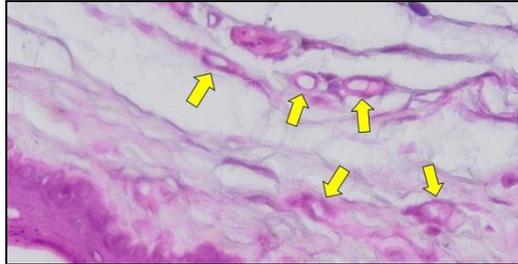
Gambar 3. Pembuluh Darah Kapiler Kelompok K5 dengan Pewarnaan HE pada Perbesaran 400 Kali



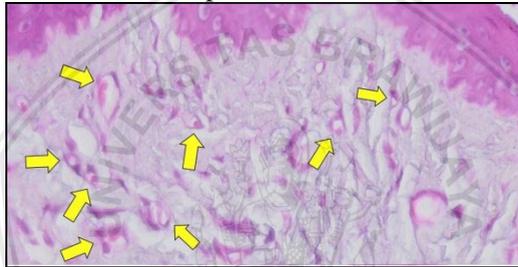
Gambar 4. Pembuluh Darah Kapiler Kelompok P5 dengan Pewarnaan HE pada Perbesaran 400 Kali



Gambar 5. Pembuluh Darah Kapiler Kelompok K7 dengan Pewarnaan HE pada Perbesaran 400 Kali



Gambar 6. Pembuluh Darah Kapiler Kelompok P7 dengan Pewarnaan HE pada Perbesaran 400 Kali



Gambar (1) yaitu kelompok kontrol 3 (K3), kelompok tikus yang dibedah hari ketiga pasca gingivektomi menunjukkan jumlah pembuluh darah kapiler yang rendah. Pada gambar (2) yaitu kelompok perlakuan 3 (P3), kelompok tikus yang dibedah hari ketiga pasca gingivektomi menunjukkan jumlah pembuluh darah kapiler yang terlihat lebih tinggi daripada kelompok K3.

Gambar (3) yaitu kelompok kontrol 5 (K5), kelompok tikus yang dibedah hari kelima pasca gingivektomi menunjukkan peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler dibandingkan kelompok K3 dan P3. Gambar (4) yaitu kelompok perlakuan 5 (P5) kelompok tikus yang dibedah hari kelima pasca gingivektomi menunjukkan peningkatan jumlah dibandingkan K5 serta jumlah pembuluh darah kapiler lebih tinggi daripada kelompok K3 dan P3.

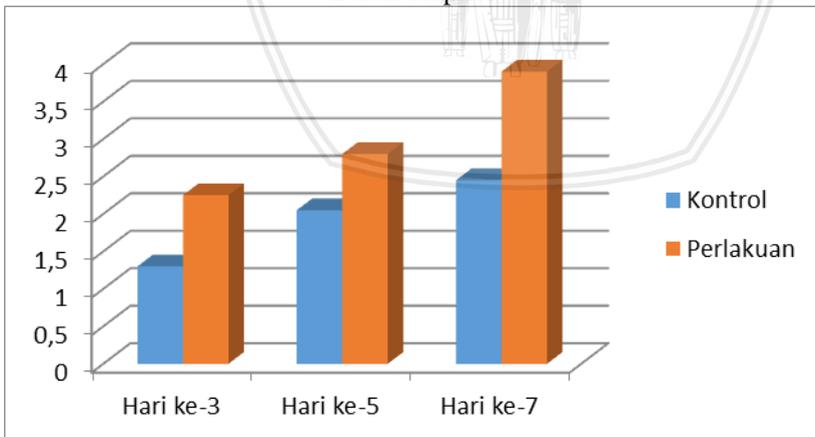
Gambar (5) yaitu kelompok kontrol 7 (K7), kelompok tikus yang dibedah hari ketujuh pasca gingivektomi menunjukkan peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler yang dibandingkan kelompok K5 serta menunjukkan peningkatan jumlah pembuluh

darah kapiler yang jauh lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok K3 dan P3. Gambar (6) yaitu kelompok perlakuan 7 (P7), kelompok tikus yang dibedah hari ketujuh pasca gingivektomi menunjukkan peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler dibandingkan dengan K7. Jumlah pembuluh darah kapiler kelompok P7 jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok K3 dan P3.

Tabel 1. Penghitungan Rata-rata Jumlah Pembuluh Darah Kapiler

Kelompok	1	2	3	4	Mean±Std. Deviasi
K3	1	1.4	1.4	1.4	1.30±0.200
K5	1.4	2	2.8	2	2.05±0.574
K7	1.2	2	3.8	2.8	2.45±1.112
P3	1.6	1.8	2.8	2.8	2.25±0.640
P5	2	2.4	2.6	4.2	2.80±0.966
P7	2.8	3.2	3.2	6.4	3.90±1.677

Gambar 7. Grafik Hasil Penghitungan Rata-rata Jumlah Pembuluh Darah Kapiler



Hasil penghitungan kemudian dianalisis yang ditulis dengan format *mean* ± standar deviasi. Gambar 5.4 menunjukkan rata-rata jumlah pembuluh darah kapiler paling tinggi yaitu pada hari ketujuh baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Secara keseluruhan, rata-rata jumlah pembuluh darah kapiler kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol.

5.2 Analisis Data

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

5.2.1 Uji Normalitas Data

Tabel 2. Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov -Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Pembuluh Darah Kapiler	.158	24	.125	.966	24	.581

a. Lilliefors Significance Correction

Uji normalitas data dilakukan menggunakan uji *Saphiro-Wilk* karena sampel yang digunakan kurang dari 50. Uji normalitas terpenuhi jika nilai signifikansi hasil perhitungan lebih besar dari $p=0,05$. Dengan menggunakan *software* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,581. Nilai signifikansi, yang didapatkan lebih besar daripada $p=0,05$ ($0,581 > 0,05$). Sehingga dari pengujian ini dapat disimpulkan bahwa uji normalitas telah terpenuhi dan data terdistribusi normal.

5.2.2 Uji Homogenitas Varian

Tabel 3. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Pembuluh Darah Kapiler

Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
2.456	5	18	.073

Uji homogenitas data dilakukan menggunakan uji homogenitas Levene. Data dapat dikatakan memiliki varian yang sama apabila nilai signifikansi atau $p > 0,05$. Pada uji homogenitas didapatkan angka signifikansi 0,073 sehingga dapat disimpulkan bahwa data tersebut homogen. Dengan demikian analisis data dapat dilakukan dengan menggunakan uji *One Way Anova*.

5.2.3 Uji *One Way Anova*

Tabel 4. Uji *One-Way Anova*

ANOVA

Jumlah Pembuluh Darah Kapiler

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14.988	5	2.998	3.121	.033
Within Groups	17.290	18	.961		
Total	32.278	23			

Analisis dengan menggunakan uji *One-way* bertujuan untuk mengevaluasi perbedaan jumlah pembuluh darah kapiler pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Berdasarkan uji statistik ini dapat diketahui apakah terdapat perubahan jumlah pembuluh darah kapiler yang signifikan antar kelompok. Didapatkan hasil pengujian *One Way Anova* didapatkan nilai signifikansi 0,033. Nilai signifikansi yang didapatkan dari proses perhitungan lebih kecil daripada $p = 0,05$ ($0,033 < 0,05$). Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan jumlah pembuluh darah kapiler antar kelompok penelitian.

5.2.4 Uji *Post-Hoc Multiple Comparison*

Analisis mengenai perbedaan rata-rata dari keenam kelompok dapat diketahui melalui uji *Post-Hoc Multiple Comparison*. Metode *Post-Hoc* yang digunakan adalah uji Tukey HSD. Pada uji ini, suatu data dikatakan berbeda secara bermakna apabila nilai signifikansi $p < 0,05$ serta pada interval kepercayaan 95%.

Tabel 5. Uji *Post-Hoc Multiple Comparison*

	K3	K5	K7	P3	P5	P7
K3		0.882	0.573	0.743	0.301	0.016*
K5	0.882		0.991	1.000	0.882	0.131
K7	0.573	0.991		1.000	0.995	0.334
P3	0.743	1.000	1.000		0.965	0.214
P5	0.301	0.882	0.995	0.965		0.616
P7	0.016	0.131	0.334	0.214	0.616	

Berdasarkan hasil uji HSD dapat disimpulkan perbedaan yang bermakna hanya terdapat antara kelompok K3 dengan P7 yang diaplikasikan gel ekstrak daun salam. Hal tersebut dapat dilihat dari perbandingan perlakuan yang didapatkan nilai signifikansi lebih kecil daripada $p = 0,05$ ($0.016 < 0.05$). Sedangkan pada perbandingan kelompok lainnya tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Sehingga dari pengujian ini dapat disimpulkan bahwa gel ekstrak daun salam tidak berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler dalam proses penyembuhan luka pasca gingivektomi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).



BAB VI PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap jumlah pembuluh kapiler dalam proses penyembuhan luka pasca gingivektomi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Ekstraksi daun salam dilakukan dengan teknik maserasi dan persentase ekstrak daun salam dalam sediaan gel didapatkan sebesar 28,57%. Gel ekstrak daun salam kemudian dilakukan uji homogenitas dan uji pH. Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan gel ekstrak daun salam pada sekeping kaca, dan hasilnya menunjukkan gel yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar. Uji pH dilakukan dengan mengoleskan gel ekstrak daun salam pada kertas lakmus, dan hasilnya tidak ada perubahan warna pada kertas lakmus yang menunjukkan bahwa pH gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) netral.

Hasil uji statistik *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada rata-rata jumlah pembuluh darah kapiler antara kelompok kontrol yang tidak diberikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dengan kelompok perlakuan yang diberikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*). Berdasarkan penelitian Suriadi dkk. (2014) daun salam mempunyai efek terhadap penyembuhan luka akut, tikus diberikan perlakuan pada tubuhnya, kemudian diaplikasikan daun salam kemudian luka akan mengecil. Saponin dapat memicu pembentukan kolagen yang berperan dalam proses penyembuhan luka (Mappa dkk, 2013). Kandungan tanin yang juga terdapat dalam daun salam telah terbukti dapat menghindarkan luka dari infeksi bakteri dan dapat memicu translasi serta transkripsi dari VEGF. Kandungan flavonoid juga mampu mengatur fungsi sel dengan cara merangsang produksi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang berperan penting dalam pembentukan kembali pembuluh darah (Fatimatuzzahroh, dkk. 2015).

6.1 Perbandingan Jumlah Pembuluh Darah Kapiler pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Gingivektomi Tanpa Pemberian Gel Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

Berdasarkan data hasil penelitian didapatkan bahwa rata-rata jumlah pembuluh darah kapiler pada kelompok K3 paling rendah dibandingkan dengan kelompok K5 dan K7. Berdasarkan rerata, jumlah pembuluh darah kapiler kelompok K7 lebih banyak dibanding K5. Namun, berdasarkan uji *Post-Hoc* perbedaan peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler kelompok K3 menunjukkan hasil yang tidak signifikan dibanding kelompok K5.

Kelompok K5 menunjukkan perbedaan peningkatan rata-rata jumlah pembuluh darah kapiler yang tidak signifikan dibanding kelompok K7. Hasil yang tidak signifikan ini mungkin disebabkan inflamasi berkepanjangan yang terjadi karena perlukaan gingivektomi pada gingiva tikus. Inflamasi berkepanjangan akan menyebabkan nekrosis jaringan sehingga terjadi kerusakan jaringan lebih jauh dan menghambat proses penyembuhan luka (Ramos, 2007).

6.2 Perbandingan Jumlah Pembuluh Darah Kapiler pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Gingivektomi dengan Pemberian Gel Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*)

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan rata-rata jumlah pembuluh darah kapiler pada kelompok P3 paling rendah dibandingkan dengan kelompok P5 dan P7. Jumlah rata-rata pembuluh darah kapiler pada P7 lebih banyak dibandingkan P5. Berdasarkan uji *Post-Hoc*, kelompok P3 menunjukkan perbedaan peningkatan rata-rata jumlah pembuluh darah kapiler yang tidak signifikan dibanding kelompok P5. Kelompok P5 menunjukkan perbedaan peningkatan rata-rata jumlah pembuluh darah kapiler yang tidak signifikan dibanding kelompok P7.

Hal ini kemungkinan dapat disebabkan oleh penyimpanan atau pengaplikasian gel yang kurang higienis sehingga dapat terjadi invasi bakteri langsung ke luka yang menghasilkan peradangan dan eksudasi cairan yang mengganggu penyembuhan, racun bakteri juga dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan penundaan fibroplasia

serta sintesis kolagen (Mosser, 2008). Kemungkinan inflamasi yang terjadi karena adanya luka dapat mengganggu fungsi pengunyahan, pola makan, serta *intake* pada hewan coba. Kekurangan berbagai zat gizi terutama protein, vitamin A, B, dan C juga dapat menunda penyembuhan luka (Campos, 2008).

6.3 Perbandingan Jumlah Pembuluh Darah Kapiler antara Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Kelompok hari ketiga, yaitu K3 dan P3 menunjukkan rata-rata jumlah pembuluh darah kapiler P3 lebih banyak dibandingkan K3, namun perbedaannya tidak signifikan secara statistik. Hal ini menunjukkan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) tidak cukup berpengaruh terhadap peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler.

Kelompok hari kelima, yaitu K5 dan P5 menunjukkan rata-rata pembuluh darah kapiler P5 lebih banyak daripada K5, namun perbedaannya tidak signifikan secara statistik. Hal ini menunjukkan bahwa aplikasi gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) tidak cukup berpengaruh terhadap peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler. Apabila dibandingkan, jumlah pembuluh darah kapiler pada hari kelima lebih tinggi dibandingkan dengan hari ketiga.

Kelompok hari ketujuh, yaitu K7 dan P7 menunjukkan rata-rata pembuluh darah kapiler P7 lebih banyak daripada K7, namun perbedaannya tidak signifikan secara statistik. Hal ini menunjukkan bahwa aplikasi gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) tidak cukup berpengaruh terhadap peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler. Apabila dibandingkan dengan hari ketiga dan kelima, jumlah pembuluh darah kapiler pada hari ketujuh lebih tinggi. Jumlah pembuluh darah kapiler paling rendah yaitu pada kelompok yang tidak diberikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) selama 3 hari pasca gingivektomi dan paling banyak yaitu pada kelompok yang diberikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) selama 7 hari pasca gingivektomi.

Hasil perbandingan yang tidak signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan pada hari yang sama kemungkinan dikarenakan gel yang mengandung 28,57% ekstrak daun salam belum dapat memberikan pengaruh terhadap penyembuhan luka. Persentase tersebut didapatkan dari banyaknya

ekstrak daun salam dalam formulasi gel ekstrak daun salam. Dosis tersebut tidak dapat dibandingkan sebab belum ada penelitian terdahulu mengenai pengaruh daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap luka pada mukosa gingiva dan uji pengaruh gel ekstrak daun salam tidak dapat dilakukan dengan dosis 100% dikarenakan pencampuran ekstrak daun salam dengan bahan basis gel. Hasil yang tidak signifikan ini juga mungkin disebabkan oleh rasa nyeri yang timbul pasca perlukaan gingiva, yang dapat menjadi pencetus peningkatan hormon glukokortikoid yang menghambat proses penyembuhan luka (Wayne, 2006).

Faktor lainnya yang menghambat penyembuhan luka pada penelitian ini mungkin disebabkan oleh pengaplikasian povidone iodine setelah dilakukan gingivektomi. Povidone iodine bersifat toksik terhadap fibroblas dan leukosit, menghambat migrasi netrofil, dan menurunkan umur sel monosit (Fatimatuzzahroh, dkk. 2015).

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) tidak berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler dalam proses penyembuhan luka pasca gingivektomi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis penelitian yang telah disusun tidak dapat diterima.

BAB VII PENUTUP

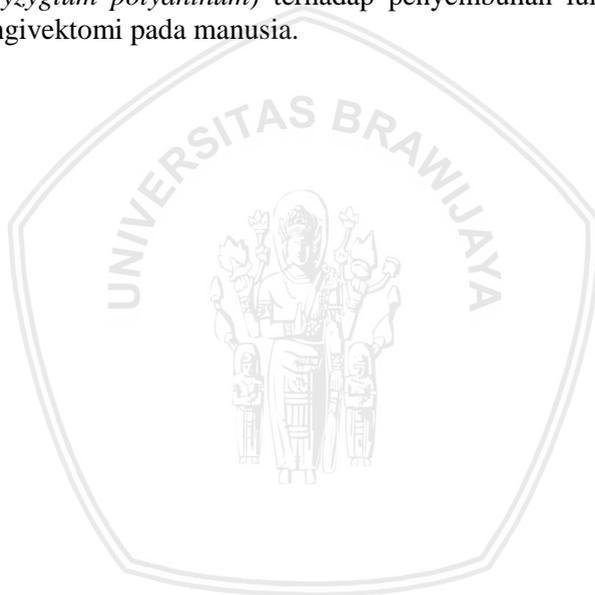
7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) tidak berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan jumlah pembuluh darah kapiler pada gingiva tikus putih (*Rattus norvegicus*) pasca gingivektomi.
2. Jumlah pembuluh darah kapiler pada hari ke-3 dalam proses penyembuhan luka pasca gingivektomi antara tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dan yang diaplikasikan gel ekstrak daun salam menunjukkan rata-rata jumlah pembuluh darah kapiler lebih tinggi pada kelompok perlakuan (P3).
3. Jumlah pembuluh darah kapiler pada hari ke-5 dalam proses penyembuhan luka pasca gingivektomi antara tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dan yang diaplikasikan gel ekstrak daun salam menunjukkan rata-rata jumlah pembuluh darah kapiler lebih tinggi pada kelompok perlakuan (P5).
4. Jumlah pembuluh darah kapiler pada hari ke-7 pada proses penyembuhan luka pasca gingivektomi antara tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang tidak diaplikasikan gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) dan yang diaplikasikan gel ekstrak daun salam menunjukkan rata-rata jumlah pembuluh darah kapiler lebih tinggi pada kelompok perlakuan (P7).
5. Jumlah pembuluh darah kapiler terbanyak pada kelompok perlakuan hari ke-7 (P7) dibandingkan dengan kelompok perlakuan hari ke-3 dan ke-5, serta yang terendah pada kelompok kontrol hari ke-3 (K3) dibandingkan dengan kelompok kontrol hari ke-5 dan ke-7.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian dengan berbagai konsentrasi gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai perbandingan konsentrasi paling efektif.
2. Perlu dilakukan uji kandungan bahan aktif dalam gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) sehingga diketahui persentase masing-masing bahan aktif.
3. Perlu dilakukan uji toksisitas dan uji efek samping dari gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*).
4. Perlu dilakukan penelitian klinis aplikasi gel ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap penyembuhan luka pasca gingivektomi pada manusia.



DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, I., 2016. Perawatan Pembesaran Gingiva dengan Gingivektomi. *Jurnal Mutiara Medika*, 9(1), pp. 69-73
- Atmojo, S. Ekstraksi (Pengertian, Prinsip Kerja, Jenis-jenis Ekstraksi).
(https://www.academia.edu/7395598/Ekstraksi_Pengertian_Prinsip_Kerja_jenis-jenis_Ekstraksi, diakses 17 Mei 2017)
- Atun, S. 2014. Metode isolasi dan identifikasi struktur senyawa organik bahan alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*, 8(2), pp.53-61.
- Azwanida NN. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strenght and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4:3.
- Basuki, S., Mintaroem, K., H.E, Mudjiwiyono, dkk. 2015. Dasar-Dasar Patologi Umum dan Pemeriksaan Patologi. Malang : Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Campos AC, Groth AK, Branco AB. Assessment and nutritional aspects of wound healing. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008;11:281-8.
- Carranza FA, Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR. 2015. *Clinical Periodontology, 12th Edition*. Saunders Elsevier.
- Dalimartha, Setiawan. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia, Jilid 2*. Jakarta : Trubus Agriwidya.
- Ditjen POM. 2002. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Halaman. 10-12.
- Eroschenko, V.P. and Di Fiore, M.S., 2013. DiFiore's atlas of histology with functional correlations. Lippincott Williams & Wilkins.

- Esfahani SA, Imanieh MH, Meshksar A, Khoshneviszadeh M, Noorafshan A, Geramizade B, *et al.* 2012. Enhancement of fibroblast proliferation, vascularization and collagen synthesis in the healing process of third-degree burn wound by topical arnebia euchroma, a herbal medicine. *Original article GMJ* 1(2): 53-59.
- Fatimah, S., 2017. Perbandingan Skor Indeks Plak Sebelum Dan Sesudah Berkumur Dengan Air Rebusan Daun Sirih (Piper Betle L) Pada Ibu Hamil Tinjauan Pada Ibu Hamil di Puskesmas Sungai Jingah Kota Banjarmasin. *Dentin*, 1(1).
- Fatimatuzzahroh, F., Firani, N.K. and Kristianto, H., 2016. Efektifitas Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap Jumlah Pembuluh Darah Kapiler pada Proses Penyembuhan Luka Insisi Fase Proliferasi. *Majalah Kesehatan FKUB*, 2(2), pp.92-98.
- Fauziyah, N., 2008. *Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Petai Cina (Leucaena glauca, Benth) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).
- Fernandes MI, Gaio EJ, Susin C, Rosing CK, Oppermann RV, Rados PV. 2010. Effect of nifedipine on gingival enlargement and peridontal beakdown in ligature-induced periodontitis in rats. *Elsevier*, AOB-2359, No of pages 7.
- Fitria, M., Saputra, D. and Revilla, G., 2014. Pengaruh papain getah pepaya terhadap pembentukan jaringan granulasi pada penyembuhan luka bakar tikus percobaan. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 3(1).
- Hanafiah, K.A. 2005. *Rancangan Percobaan Aplikatif*. Jakarta: PT Grafindo Persada.
- Harahap, N.I., 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Gel Ekstrak Etanol Daun Sambung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth.) Terhadap Angiogenesis Luka Eksisi Terinfeksi Pada Marmut.

- Hardiyanti, W.R. 2010. Efek Antimikroba Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha Wight.*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dengan Metode Difusi Agar. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Irianty, R.S. and Yenti, S.R., 2014. Pengaruh perbandingan pelarut etanol-air terhadap kadar tanin pada sokletasi daun gambir (*Uncaria gambir Roxb*). *Jurnal Sagu*, 13(1), pp.1-7.
- Kim Y, Cho I, Jeong M, Jeong S, Nah S, Cho Y, Kim S *et al.* 2011. Therapeutic Effect of Total Gingseng Saponin on Skin Wound Healing. *Journal of Gingseng Research*, Vol.35.
- Kumar, S. and Pandey, K. Chemistry and Biological of Flavonoid: As an Overview. *Hindawi Publishing Corporation The Scientific World Journal*, Volume 2013.
- Kurniawati, Nia. 2010. Sehat & Cantik Alami Berkat Khasiat Bumbu Dapur. Bandung: PT Mizan Pustaka.
- Kusmarasamyraja D, Jeganatha N , Manavalan R. 2012. A Review on Medical Plants with Potential Wound Healing Activity. *International Journal of Pharma Sciences*, Vol.2.
- Kusumawati D, 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Lai H, Lim Y, Kim K. 2011. Potential Dermal Wound Healing Agent in *Blechnum Orientale Linn.* *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11:62.
- Malole MBM, Pramono USC, 1989. Penggunaan hewan-hewan percobaan di laboratorium. Pusat antar universitas, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Mappa, T., Edy, H.J. and Kojong, N., 2013. Formulasi Gel Ekstrak Daun Sasaladahan (*Peperomia pellucida (L.) HBK*) dan Uji Efektivitasnya Terhadap Luka Bakar pada Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*). *Pharmacon*, 2(2).

- Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol*.2008;8:958-69.
- Muntiha, Mohamad. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi Dari Jaringan Hewan Dengan Pewarnaan Hematoksilin Dan Eosin (H&E). Bogor.
- Murade V, Hase D, Desmukh K, Pansambal S. A comprehensive review of phytopharmacology of *Ricinus comunis* Linn. 2014 ;5(4):328-34.
- Mustafida RY, Munawir A, Dewi R. Efek Antiangiogenik Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) pada Membran Korio Alantois (CAM) Embrio Ayam. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2014; 2(1): 4 – 8.
- Neck JV, Tuk B, Barritault D, Tong M. 2012. *The book Tissue Regeneration - From Basic Biology to Clinical Application*, ISBN 978-953-51-0387-5. Heparan Sulfate Proteoglycan Mimetics Promote Tissue Regeneration: An Overview 4:69-92.
- Nofikasari, I., Rufaida, A., Aqmarina, C.D., Failasofia, F., Fauzia, A.R. and Handajani, J., 2016. Efek aplikasi topikal gel ekstrak pandan wangi terhadap penyembuhan luka gingiva. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 2(2), pp.53-59.
- Olczyk P, Mencner L, Vassev K. 2014. *Review Article The Role of Extracellular Matrix Components in Cutaneous Wound Healing*. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*, Vol.2014.
- Patil M, Kandhare A, Bhise S. 2012. Pharmacological evaluation of ethanolic extract of *Daucus carota* Linn root formulated cream on wound healing using excision and incision wound model. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*, S646-S655, Elsevier.
- Pertiwi, N.K.F.R., 2015. Pemberian Topikal Ekstrak Etanol Buah Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) Konsentrasi 50% Lebih

Meningkatkan Angiogenesis dan Reepitelialisasi daripada Povidone Iodine untuk Penyembuhan Ulkus Traumatikus Mukosa Mulut Tikus Putih Jantan (Doctoral dissertation, Universitas Udayana)

- Pradita, A.U., Dhartono, A.P., Ramadhany, C.A. and Taqwim, A., 2013. Periodontal Dressing-containing Green Tea Epigallocatechin gallate Increases Fibroblasts Number in Gingival Artificial Wound Model. *Journal of Dentistry Indonesia*, 20(3), pp. 68-72
- Prasetyono, T.O., 2009. General concept of wound healing, revisited. *Medical Journal of Indonesia*, 18(3), p.208
- Ramos AFN, Miranda JL., Propolis: A Review of Its Anti-inflammatory and Healing Properties. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 2007; 13(4): p.706.
- Rizki, Muhammad & Magdalena Hariandja, Ester. (2015). Review: Aktivitas Farmakologis, Senyawa Aktif, dan Mekanisme Kerja Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) (Pharmacological Activity, Active Compounds, and Mechanism of Action Bay leaf (*Syzygium polyanthum*): Review). *Prosiding Seminar Nasional & Workshop "Perkembangan Terkini Sains Farmasi & Klinik 5"*. 239 - 244.
- Sharma, S. Topical drug delivery system: A review. *Pharmaceut. Rev.* 2008;6:1-29.
- Suriadi, S., Imran, I. and Hadi, A.W., 2017. Uji Efektifitas Penggunaan Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Dan Madu Serta NaCl 0, 9% Terhadap Proses Penyembuhan Luka Akut Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus* Strain Wistar). *Jurnal Keperawatan & Kesehatan*, 5(3), pp.24-30.
- Tampubolon, N.S., 2005. Dampak karies gigi dan penyakit periodontal terhadap kualitas hidup. *USU Repository. Rapat terbuka Universitas Sumatera Utara*, 16, pp. 17-9.

- Tawi, Mirzal. 2008. Proses Penyembuhan Luka (Online), (<https://syehaceh.wordpress.com/2008/05/13/proses-penyembuhan-luka/>, diakses 22 Februari 2017)
- Wayne PA, Flanagan. Managing chronic wound pain in primary care. *Practice Nursing*; 2006; 31:12.
- Wicaksono MF, Sari P, Sekti HB dkk. 2013. Piperantha: Inovasi Terapi Kombinasi Ekstrak Daun Salam (*Euginapolyantha*) Dan Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Terhadap Aktivitas Fas/Fas-L Pada Regresi Pertumbuhan Kanker Serviks Secara Invitro. (<http://artikel.dikti.go.id/index.php/PKM-P/article/view/34/34>, diakses Februari 2017)
- Wientarsih, I., Iskandar, M. and Saputra, G.H., 2008. The Effect of Bay Leaves Infusum (*Syzygium polyanthum* (Wight)) on anti inflammation in White Rat Sprague-Dawley. In Proceeding [Proceeding] of the Mini Workshop Southeast Asia Germany Alumni Network (SEAG) "Empowering of Society Through the Animal Health and Production Activities with the Appreciation to the Indigenous Knowledge": May 3rd-5, 2007, Manado-Indonesia (Vol. 90, p. 102). kassel university press GmbH.
- Wulan, K.A. and Sari, I.P., 2013. Pengaruh Jus Buah Belimbing Manis (*Averrhoa Carambola* Linn.) Terhadap Peningkatan Jumlah Fibroblas Pada Soket Tikus Strain Wistar Pasca Ekstraksi Gigi. *Prodenta Journal Of Dentistry*, 1(2), pp.62-70.
- Young A., McNaught C.E. 2011. The Physiology Of Wound Healing, Protein. *Surgery (Oxford)*. Vol. 13(1): 31-34.