



**EFEKTIFITAS PEMBERIAN EKSTRAK DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum L. Griff*) KONSENTRASI 2,5% 5% 10% TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOLAS TULANG ALVEOLAR PADA TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI *Porphyromonas gingivalis***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

**Pramita Wahyu Dyasti  
NIM 161610101020**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**



**EFEKTIFITAS PEMBERIAN EKSTRAK DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum L. Griff*) KONSENTRASI 2,5% 5% 10% TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOLAS TULANG ALVEOLAR PADA TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI *Porphyromonas gingivalis***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

**Pramita Wahyu Dyasti**

**161610101020**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas segala limpahan rahmat, hidayah, dan anugerah-Nya kepada hamba-Nya yang selalu berjuang di jalan-Nya dalam kebaikan dan menuntut ilmu.
2. Rasulullah Nabi Muhammad SAW atas syafaat dan pedoman jalan yang lurus diberikan kepada umat-Nya.
3. Kedua orang tuaku, Suci Budi Rahayu dan Wahyudi yang tercinta;
4. Guru-guruku sejak TK hingga SMA yang telah mendidiku dengan sabar dan sepenuh hati;
5. drg. Peni Pujiastuti, M.Kes dan Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes yang telah berkenan membimbing penulis hingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
6. Dosen-dosen dan staf Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang membimbing, mendidik, dan membantuku selama menempuh pendidikan dokter gigi;
7. Agama, Bangsa, dan Negara serta Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

**MOTTO**

“Religion without science is blind. Science without religion is paralyzed”

(Albert Einstein)

“Tidaklah seorang muslim tertimpa suatu kelelahan, penyakit, kekhawatiran, kesedihan, atau gangguan, bahkan duri yang melukainya melainkan Allah akan menghapus kesalahan-kesalahan karenanya”

(HR. Bukhari dan Muslim)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Pramita Wahyu Dyasti

NIM : 161610101020

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efektifitas Pemberian Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum L. Griff*) Konsentrasi 2,5% 5% 10% Terhadap Jumlah Sel Osteoblas Tulang Alveolar Pada Tikus Wistar Yang Diinduksi *Porphyromonas gingivalis*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya plagiasi. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai sikap ilmiah yang dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 09 November 2020  
Yang Menyatakan,

Pramita Wahyu Dyasti  
NIM 161610101020

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum* L. Griff) KONSENTRASI 2,5% 5% 10% TERHADAP JUMLAH SEL OSTEOLAS TULANG ALVEOLAR PADA TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI *Porphyromonas gingivalis***

Oleh:

**Pramita Wahyu Dyasti  
NIM 161610101020**

**Pembimbing:**

Dosen Pembimbing Utama : drg. Peni Pujiastuti, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes

**PENGESAHAN**

Skripsi yang berjudul “Efektifitas Pemberian Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum L. Griff*) Konsentrasi 2,5% 5% 10% Terhadap Jumlah Sel Osteoblas Tulang Alveolar Pada Tikus Wistar Yang Diinduksi *Porphyromonas gingivalis*” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 26 Januari 2021

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Melok Aris Wahyukundari,  
M.Kes., Sp. Perio  
NIP. 197104092005012002

Prof. drg. Mei Syafriadi, M.DSc.,  
Ph.D, Sp. PMM  
NIP. 196805291994031003

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

drg. Peni Pujiastuti, M.Kes  
NIP. 197102041998022002

Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes  
NIP. 196705171996012001

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Prof  
NIP. 196901121996011001

## RINGKASAN

**Efektifitas Pemberian Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum L. Griff*) Konsentrasi 2,5% 5% 10% Terhadap Jumlah Sel Osteoblas Tulang Alveolar Pada Tikus Wistar Yang Diinduksi *Porphyromonas gingivalis*; Pramita Wahyu Dyasti, 161610101020; 2020; 71 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.**

Masalah kesehatan gigi dan mulut yang sering dijumpai yaitu karies gigi dan penyakit periodontal. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018 menunjukkan prevalensi penduduk Indonesia yang mengalami periodontitis sebesar 30,2%. Periodontitis adalah peradangan jaringan periodontal yang disebabkan oleh plak mikrobial yang persisten. *P. gingivalis* diketahui dapat menghasilkan faktor virulensi yang dapat menginfeksi gingiva dan dapat menyebabkan kerusakan jaringan.

Daun ungu merupakan salah satu tanaman dari tiga belas komoditi yang dikembangkan oleh DITJEN POM sebagai tanaman obat unggulan. Daun ungu memiliki kandungan kimia triterpenoid, alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin yang diketahui memiliki sifat anti bakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun ungu terhadap jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *Eksperimental Laboratoris* dengan rancangan penelitian *Post Test Control Group Design*. Terdapat 5 kelompok yang masing masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus wistar jantan yang diberi perlakuan selama 7 hari. Kelompok tersebut adalah kelompok normal (KN), kelompok kontrol (K-), kelompok perlakuan ekstrak daun ungu 2,5% (E2,5%), kelompok perlakuan ekstrak daun ungu 5% (E5%), dan kelompok perlakuan ekstrak daun ungu 10% (E10%). Tikus Wistar jantan didekaputasi pada hari ke 7 dan diambil bagian rahang bawah kiri untuk pembuatan sediaan preperat dan pewarnaan menggunakan *Mayer hematoxilin-eosin* dilanjutkan dengan pengamatan.

Data hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada jumlah sel osteoblas tulang alveolar tikus Wistar, ditandai dengan nilai signifikansi

$p < 0,05$ , yaitu kelompok KN terhadap kelompok K- dan E2,5%. Kelompok K- terhadap kelompok E5% dan E10%. Pada beberapa kelompok lain menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan. Pada kelompok perlakuan, yaitu kelompok yang diinduksi bakteri *P. gingivalis* dan diberi ekstrak daun ungu konsentrasi 2,5%, 5% dan 10%, memiliki hasil rata – rata jumlah sel osteoblas yang lebih tinggi dibanding kelompok K-. Hasil rata – rata jumlah sel osteoblas kelompok E2,5% yaitu 11,78 lalu kelompok E5% yaitu 15,5 dan kelompok E10% yaitu 16,17. Kesimpulannya yaitu Ekstrak daun ungu dapat meningkatkan jumlah sel osteoblas tulang alveolar tikus Wistar yang diinduksi *P. gingivalis*.

## PRAKATA

Puji syukur kepada Allah SWT atas limpahan taufik dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektifitas Pemberian Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum L. Griff*) Terhadap Jumlah Sel Osteoblas Tulang Alveolar Pada Tikus Wistar Yang Diinduksi *Porphyromonas gingivalis*”. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW sebagai sumber inspirasi dan panutan umat manusia dalam menjalani kehidupan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat guna menyelesaikan pendidikan dan memperoleh gelar Sarjana Strata Satu (S1) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis menyadari bahwa penulisan ini tidak terlepas dari adanya bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp. Pros, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Peni Pujiastuti, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. drg. Atik Kurniawati M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah membagikan ilmu, waktu, dan pengalamannya dalam proses penyelesaian skripsi penulis;
3. drg. Melok Aris Wahyukundari, M.Kes., Sp. Perio selaku Dosen Penguji Utama dan Prof. drg. Mei Syafriadi, M.DSc., Ph.D, Sp. PMM selaku Dosen Penguji Anggota yang telah bersedia menguji dan memberikan saran pada skripsi penulis;
4. Dr. drg. Ari Tri Wanodyo Handayani, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan membantu penulis selama menjadi mahasiswa;
5. Ibu tercintaku Suci Budi Rahayu dan Ayahku tersayang Wahyudi, terima kasih atas segala kasih sayang, dukungan moril dan materiil, nasihat serta untaian doa yang selalu mengiringi langkahku untuk mencapai kesuksesan;

6. Teman seperjuangan seperskripsian Syafira Dwi Astuti, Savira Aulia Rachim, dan Adelia Okky Savira, terima kasih telah menjadi tempat diskusi dan berkeluh kesah;
7. Paramdibta Lungit yang bersedia menemani bersama, Sahabatku Rida, Nurhalimah, Afi, Oksal, terima kasih karena selalu menjadi tempat bercerita dan menumpahkan segala suka dan duka;
8. Angkatan 2016 FKG Universitas Jember (DEXTRA 2016), yang telah berjuang bersama-sama hingga nanti menjadi sejawat;
9. Teman-teman KKN 103 UNEJ 2019 terima kasih telah menjadi keluarga baru yang menyenangkan;
10. Bu Wahyu teknisi Laboratorium Histologi, Bu Indri teknisi Laboratorium Mikrobiologi, Pak Agus teknisi Laboratorium Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
11. Seluruh civitas akademika dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu;
12. Tikus wistar yang menjadi korban dalam penelitian ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 09 November 2020

Penulis

**DAFTAR ISI**

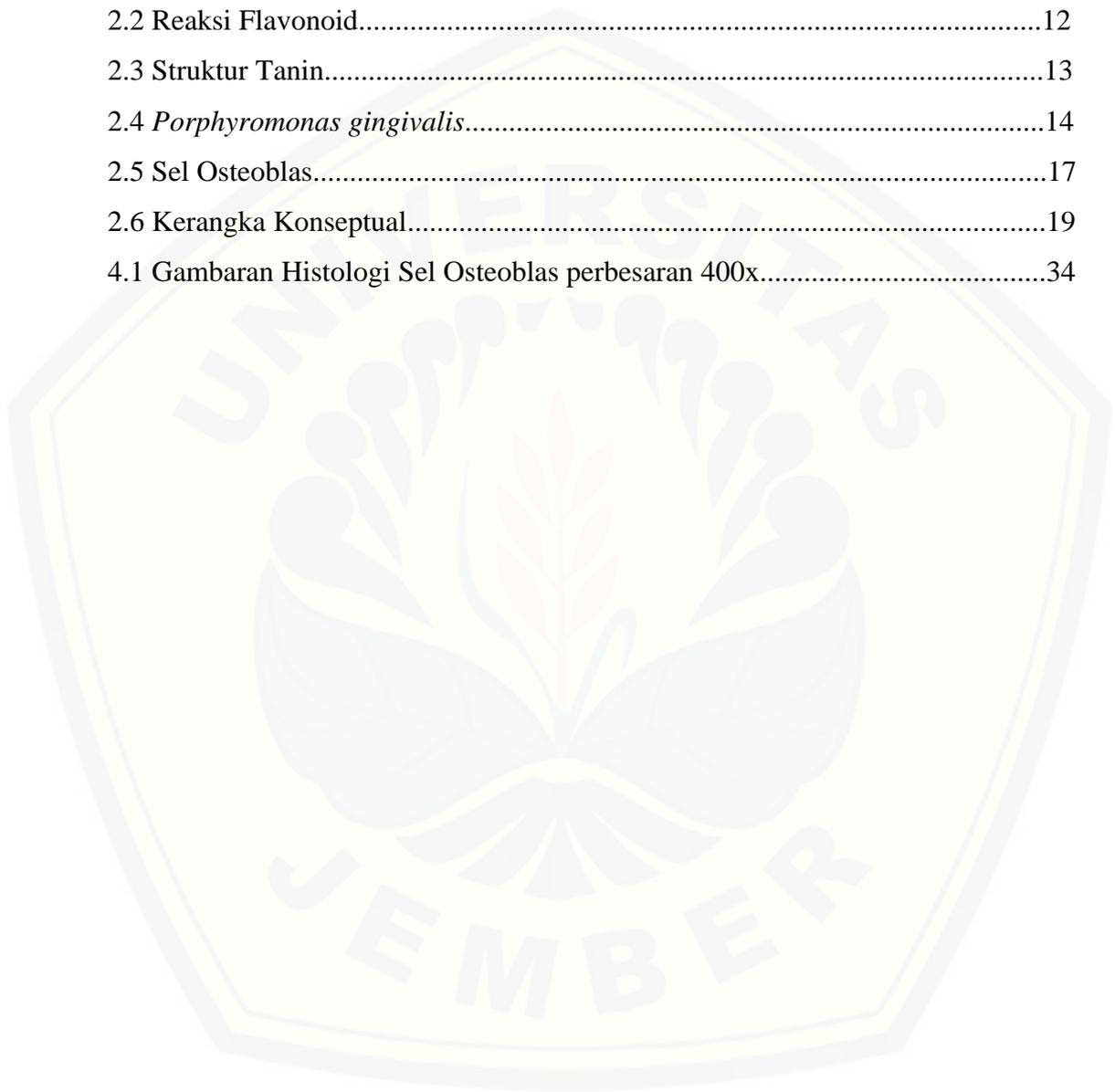
	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	xi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	5
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	5
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
<b>2.1 Tanaman Daun Ungu</b> .....	7
<b>2. 2 Kandungan Farmakologis Daun Ungu</b> .....	7
2.2.1 Alkaloid .....	8
2.2.2 Saponin .....	9
2.2.3 Flavonoid .....	10
2.2.4 Tanin .....	12
<b>2.3 Porphyromnas gingivalis</b> .....	13
2.3.1 Definisi <i>P. gingivalis</i> .....	13
2.3.2 Sifat <i>P. gingivalis</i> .....	14

2.3.3 Respons Imun Terhadap <i>P. gingivalis</i> .....	14
<b>2.4 Penyakit Periodontal</b> .....	15
2.4.1 Pengertian Jaringan Periodontal .....	15
2.4.2 Pengertian Penyakit Periodontal .....	16
2.4.3 Etiologi Penyakit Periodontal .....	16
<b>2.5 Sel Osteoblas</b> .....	17
<b>2.6 Kerangka Konseptual</b> .....	19
<b>2.7 Hipotesis</b> .....	20
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	21
<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	21
<b>3.2 Rancangan Penelitian</b> .....	21
<b>3.3 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	21
3.3.1 Tempat Penelitian .....	21
3.3.2 Waktu Penelitian .....	21
<b>3.4 Variabel Penelitian</b> .....	22
3.4.1 Variabel Bebas .....	22
3.4.2 Variabel Terikat .....	22
3.4.3 Variabel Terkendali .....	22
<b>3.5 Definisi Operasional Penelitian</b> .....	23
3.5.1 Ekstrak Daun Ungu .....	23
3.5.2 Jumlah Sel Osteoblas .....	23
3.5.3 Induksi <i>P. gingivalis</i> .....	23
<b>3.6 Sampel Penelitian</b> .....	23
3.6.1 Sampel penelitian .....	23
3.6.2 Kriteria Tikus Wistar .....	23
3.6.3 Jumlah Sampel Penelitian .....	24
<b>3.7 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	24
3.7.1 Alat Penelitian .....	24
3.7.2 Bahan Penelitian .....	24
<b>3.8 Prosedur Penelitian</b> .....	26
3.8.1 Ethical Clearence .....	26

3.8.2 Identifikasi Tanaman.....	26
3.8.3 Tahap Persiapan Hewan Coba .....	26
3.8.4 Persiapan Ekstrak Daun Ungu .....	27
3.8.5 Pembuatan Sediaan Bakteri <i>P.gingivalis</i> .....	28
3.8.6 Tahap Induksi Porphyromonas Gingivalis .....	28
3.8.7 Pemberian Ekstrak Daun Ungu.....	29
3.8.8 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba .....	29
3.8.9 Pembuatan Preparat Jaringan.....	29
<b>3.9 Perhitungan Jumlah Sel Osteoblas.....</b>	<b>31</b>
<b>3.10 Analisis Data.....</b>	<b>31</b>
<b>3.11 Alur Penelitian .....</b>	<b>33</b>
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>34</b>
<b>4.1 Hasil Penelitian.....</b>	<b>34</b>
<b>4.2 Pembahasan.....</b>	<b>39</b>
<b>BAB 5 KESIMPULAN .....</b>	<b>45</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>45</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>45</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>45</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>49</b>

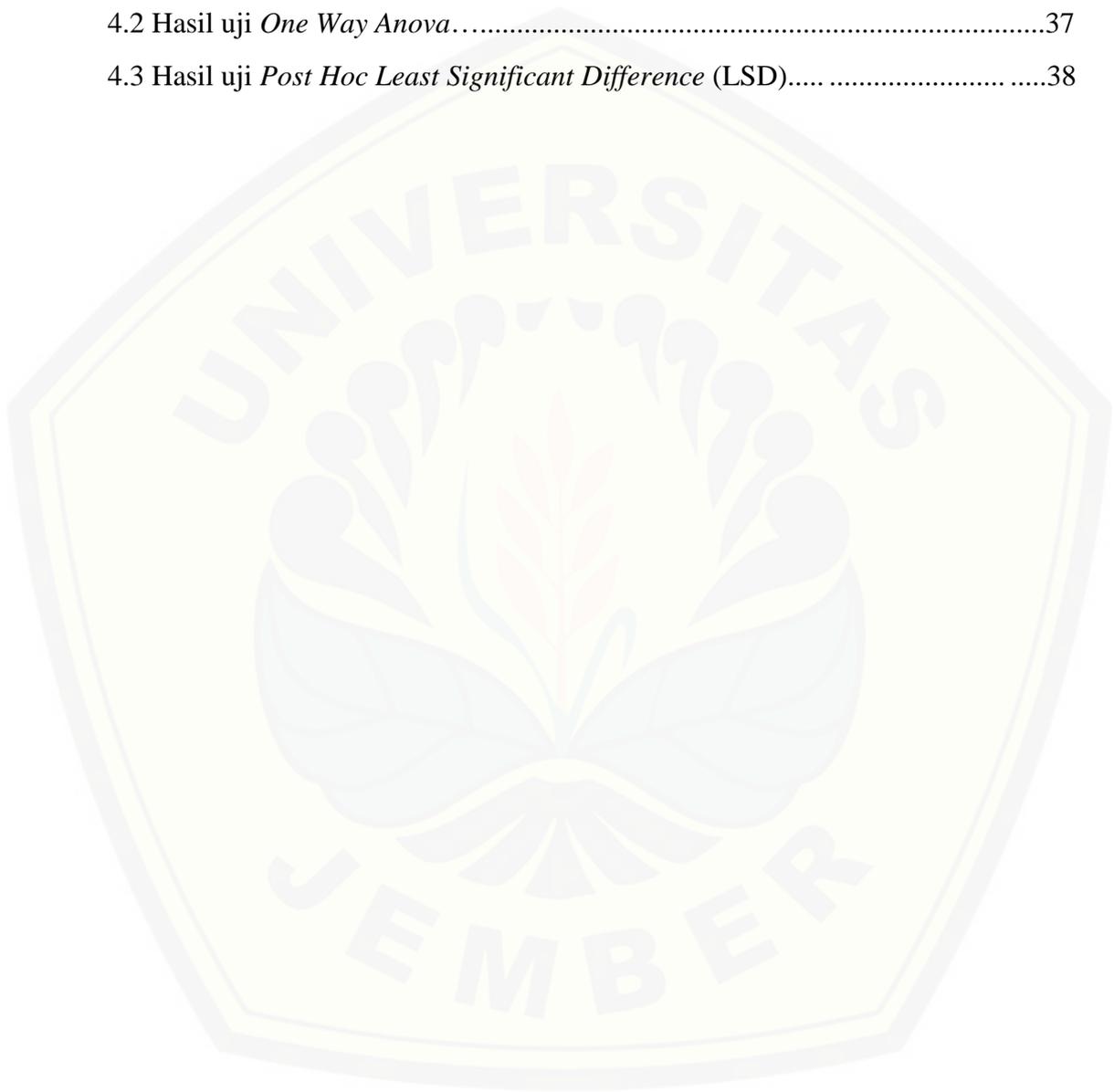
**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Tanaman Daun Ungu.....	7
2.2 Reaksi Flavonoid.....	12
2.3 Struktur Tanin.....	13
2.4 <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	14
2.5 Sel Osteoblas.....	17
2.6 Kerangka Konseptual.....	19
4.1 Gambaran Histologi Sel Osteoblas perbesaran 400x.....	34



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
4.1 Hasil rata – rata Jumlah Sel Osteoblas.....	36
4.2 Hasil uji <i>One Way Anova</i> .....	37
4.3 Hasil uji <i>Post Hoc Least Significant Difference (LSD)</i> .....	38



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Surat Keterangan <i>Ethical Clearance</i> .....	51
B. Surat Ijin Penelitian.....	52
C. Lembar Disposisi.....	53
D. Surat Ijin Laboratorium.....	54
E. Surat Ijin Peminjaman Lahan.....	55
F. Surat Ijin Identifikasi Tanaman Daun Ungu.....	56
G. Surat Identifikasi Kandungan Daun Ungu.....	57
H. Surat Hasil Uji Kandungan Tanaman Daun Ungu.....	58
I. Alat dan Bahan Penelitian.....	59
J. Pembuatan Ekstrak Daun Ungu.....	61
K. Analisis Data.....	68

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Salah satu permasalahan kesehatan yang dikeluhkan oleh masyarakat adalah masalah gigi dan mulut. Masalah kesehatan gigi dan mulut yang sering dijumpai yaitu karies gigi dan penyakit periodontal. Berdasarkan data dari WHO penyakit periodontal ditemukan pada 15-20% orang dewasa berusia paruh baya (35-44 tahun). Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018 menunjukkan prevalensi penduduk Indonesia yang mengalami periodontitis sebesar 30,2%. Prevalensi penyakit periodontal di Indonesia terus mengalami peningkatan dari 23,4% pada tahun 2007 dan 25,9% pada tahun 2013 (Afrianti, 2018).

Salah satu bentuk penyakit periodontal adalah peradangan yang menyerang jaringan periodontal, dapat hanya mengenai gingiva yang disebut dengan gingivitis atau mengenai jaringan periodontal yang lebih luas yaitu ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar yang disebut periodontitis. (Kurniawati, 2005). Periodontitis adalah peradangan jaringan periodontal yang disebabkan oleh plak mikrobial yang persisten. *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Bacteroides forsythus* adalah jenis bakteri yang paling banyak dijumpai pada periodontitis (Carranza, 2019)

Diantara sebagian besar bakteri penyebab penyakit periodontal, *P. gingivalis* menjadi salah satu penyebab utama pada patogenesis dan keparahan penyakit periodontal. *P. gingivalis* banyak ditemukan pada plak subgingiva pasien yang mengalami periodontitis kronis. *P. gingivalis* diketahui dapat menghasilkan faktor virulensi yang dapat menginfeksi gingiva dan dapat menyebabkan kerusakan jaringan. Salah satu faktor virulensi dari *P. gingivalis* adalah lipopolisakarida (LPS) yang dapat menyebabkan resorpsi tulang alveolar (Kah Yan, 2016)

Lipopolisakarida (LPS) adalah komponen dinding sel bakteri gram negatif. Komponen dinding sel ini mengandung peptidoglikan yang mampu berikatan dengan sel *host* dalam hal ini makrofag yang berada pada jaringan

sehingga akan memacu sekresi sitokin proinflamasi yaitu IL-1 yang nantinya akan mempengaruhi migrasi neutrofil dari endotel menuju tempat terjadinya jejas. LPS bersifat endotoksin yang menginduksi diproduksi faktor lokal yaitu sitokin proinflamasi seperti interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), IL-1 $\beta$ , IL-6, *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) dan eikosanoid yaitu prostaglandin (PGE2). Prostaglandin dan sitokin proinflamasi mengakibatkan terjadinya destruksi jaringan periodonsium, dengan cara menstimulasi pembentukan dan peningkatan aktivitas osteoklas serta penurunan jumlah dan aktivitas osteoblas (Ayu, 2018).

Osteoblas merupakan sel pembentuk tulang yang bertanggung jawab terhadap proses mineralisasi matriks tulang dengan cara mensekresi kolagen tipe I dan melepaskan kalsium, magnesium, dan ion fosfat. Osteoblas terdapat pada permukaan tulang. Osteoblas menyintesis, menyekresi, dan mengendapkan osteoid (osteoideum), komponen organik matriks tulang baru. Osteoid adalah matriks tulang yang tidak terkalsifikasi dan tidak mengandung mineral namun, tidak lama setelah diendapkan, osteoid segera mengalami mineralisasi dan menjadi tulang (Eroschenko, 2010).

Salah satu terapi pada periodontitis dilakukan dengan cara memberi obat yang mampu menekan pertumbuhan bakteri periodontopati dan obat golongan antiinflamasi yang berfungsi menghambat periodontitis sehingga proses inflamasi tidak terjadi berkepanjangan. Obat-obatan yang dipakai untuk perawatan gigi sampai saat ini berasal dari bahan kimia, dan jarang menggunakan bahan obat yang berasal dari bahan alam. Bahan herbal mudah diperoleh, harganya relatif murah, dan secara umum dinilai lebih aman daripada penggunaan obat yang berbahan dasar kimia. Bahan alternatif herbal tersebut adalah daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) (Indriana *et al.*, 2017).

Daun ungu merupakan salah satu tanaman dari tiga belas komoditi yang dikembangkan oleh DITJEN POM sebagai tanaman obat unggulan. Daun ungu memiliki kandungan kimia triterpenoid, alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin yang diketahui memiliki sifat anti bakteri (Indriana *et al.*, 2017).

Ekstrak daun ungu memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Alkaloid merupakan senyawa organik bahan alam yang terbesar jumlahnya baik dari segi jumlah maupun sebarannya. Flavonoid golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Flavonoid dapat menghambat siklooksigenase atau lipooksigenase dan menghambat akumulasi leukosit sehingga dapat menjadi antiinflamasi. Mekanisme antiinflamasi diduga dengan menghambat pelepasan serotonin dan histamin ke tempat terjadinya radang serta menghambat sintesis prostaglandin dari asam arakhidonat dengan cara menghambat kerja enzim siklooksigenase (Shesy *et al.*, 2016).

Metabolisme asam arakhidonat terjadi karena adanya suatu respons dari rusaknya membran sel fosfolipid dan merupakan awal dari terbentuknya prostaglandin. Prostaglandin (PGE<sub>2</sub>) merupakan stimulator yang kuat dalam resorpsi tulang alveolar. PGE<sub>2</sub> dapat menginduksi sel osteoblas untuk menghasilkan *receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand* (RANKL) dan menurunkan produksi osteoprogesterin (OPG). PGE<sub>2</sub> juga dapat menambah ikatan antara RANKL dengan RANK pada prekursor osteoklas dan terjadi pembentukan sel osteoklas baru. Hal ini menyebabkan penurunan jumlah sel osteoblas dan bertambahnya jumlah sel osteoklas (Damaiyanti, 2019).

Pemanfaatan daun ungu dalam bidang kedokteran gigi telah banyak dilakukan. Sebagai antibakteri menurut Kusumaningsih (2015) dalam penelitiannya melaporkan bahwa *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) untuk *Streptococcus mutans* adalah 1,56% dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) adalah 3,25%. Sedangkan untuk *P. gingivalis* konsentrasi hambat minimal adalah 6,25% (Baskhara, 2018). Selain itu, berdasarkan hasil dari penelitian lain yang sejenis ekstrak daun ungu pada konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10% memiliki potensi untuk menurunkan jumlah sel osteoklas pada tikus wistar yang diinduksi *P.gingivalis* (Kurniawati, 2020). Berdasarkan penjelasan tersebut, maka penulis tertarik untuk meneliti pengaruh ekstrak daun ungu konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10% terhadap sel osteoblas pada tikus wistar yang diinduksi *P. gingivalis*.

### 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat didapatkan rumusan masalah yaitu bagaimana pengaruh ekstrak daun ungu 2,5%, 5%, dan 10% terhadap jumlah sel osteoblas pada tikus wistar yang diinduksi *P. gingivalis*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan Penelitian ini yaitu untuk mengetahui efektifitas ekstrak daun ungu 2,5%, 5%, dan 10% terhadap jumlah sel osteoblas pada tikus wistar yang diinduksi *P. gingivalis*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat:

1. Memberi informasi mengenai efektifitas ekstrak daun ungu 2,5%, 5%, dan 10% terhadap jumlah osteoblas pada tikus wistar yang diinduksi *P. gingivalis*.
2. Sebagai dasar penelitian lebih lanjut yang terkait.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)

Daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) merupakan salah satu tanaman obat yang berasal dari Papua, yang ditemukan juga di Jawa, Ternate, dan Maluku. Daun ungu tumbuh di daerah dataran rendah, serta di tempat-tempat terbuka beriklim kering dan lembab. Di Indonesia daun ungu disebut dengan berbagai macam nama lokal diantaranya Handeuleum (Sunda), daun ungu (Jawa) atau baulas (Papua).

Taksonomi tanaman daun ungu diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclass	: <i>Asteridae</i>
Order	: <i>Scrophulariales</i>
Family	: <i>Acanthaceae</i>
Genus	: <i>Graptophyllum</i> Nees
Spesies	: <i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff (Ariyanti, 2011).

Daun ungu merupakan tumbuhan perdu, berumur menahun, dan memiliki tinggi sekitar 1-2 m. Tumbuhan ini berbatang aerial dan tegak, berkayu, berbentuk silindris, dengan warna ungu kehijauan, bagian dalam solid, memiliki permukaan licin dan percabangan simpodial (batang utama tidak tampak jelas) dengan arah cabang miring ke atas. Tumbuhan Daun Ungu berdaun tunggal, tersusun saling berhadapan (*folia opposita*), berwarna ungu tua, dengan panjang 15–25 cm dan lebar 5–11 cm, dengan helaian daun tipis tegar, daun berbentuk bulat telur dengan ujung runcing dan pangkal meruncing (*acuminatus*), memiliki tepi yang rata, pertulangan menyirip (*pinnate*) dan permukaan yang mengkilat (*nitidus*) (Ariyanti, 2011).

Sementara bunganya majemuk dan muncul dari ujung batang (*terminalis*). Buah tumbuhan Daun Ungu berbentuk kotak sejati (*capsula*) dan lonjong,

berwarna ungu kecoklatan, sedangkan bentuk bijinya bulat berwarna putih. Tumbuhan ini tingginya hanya mencapai 1-2 m, berakar tunggang dan biasanya tumbuh liar di pedesaan atau ditanam sebagai tanaman hias (Ariyanti, 2011).

Daun ungu memiliki kandungan kimia triterpenoid, alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin yang diketahui memiliki sifat anti bakteri. Kandungan bahan aktif daun ungu ternyata dapat dimanfaatkan untuk mengatasi penyakit wasir, melancarkan buang air seni, melancarkan haid, dan rematik, menghaluskan kulit (*skin softener*), batu empedu, hepatitis, usus besar dan penyakit lainnya (Manoi, 2011).



Gambar 2.1 Tanaman Daun Ungu (Ariyanti, 2011)

## 2.2 Kandungan Farmakologis Daun Ungu

Daun ungu mengandung senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, sitosterol, glikosida dan saponin. Daun ungu mampu hidup pada ketinggian 800 m dpl. Semakin tinggi dataran tersebut, semakin tua warna daun handeuleum. Hal ini terjadi karena peningkatan senyawa flavonoid yang dikandungnya. Keberadaan senyawa tanin dan flavonoid yang terdapat pada daun ungu tersebut diduga memiliki peranan penting sebagai senyawa antibakteri. Tanin merupakan senyawa polifenol yang memiliki kemampuan penghambatan bakteriostatik atau bakteriosidal. Tanin mampu menekan proliferasi sel bakteri dengan menghalangi

enzim penting dari metabolisme bakteri seperti enzim proteolitik (Mardiningsih *et al.*, 2008).

Mekanisme tanin sebagai antibakteri juga berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menonaktifkan enzim dan protein transport pada dinding sel. Tanin mampu menimbulkan kerusakan pada membran sel saat mengenai sel bakteri. Tanin akan mengerutkan membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel. Akibatnya, sel tidak mampu melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan sel bakteri terhambat dan mati. Sementara mekanisme flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan merusak permeabilitas dinding sel, kemudian melewati membran dalam sel dan merusak enzim dehidrogenase bakteri sehingga sistem respirasi dan pertumbuhan bakteri terhambat (Mardiningsih *et al.*, 2008).

#### 2.2.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang tersebar pada tanaman. Alkaloid merupakan senyawa organik yang bersifat basa karena mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Masing-masing atom nitrogen tersebut berikatan dengan beberapa atom karbon dalam suatu sistem cincin heterosiklik. Alkaloid memiliki fungsi bagi tumbuhan untuk melindungi dari mikroorganisme (aktivitas antibakteri dan antijamur), herbivora, dan dari tanaman lain dengan cara menghasilkan senyawa kimia berupa zat allelopati (Perwita, 2011).

Alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid biasanya tanpa warna, sering kali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk Kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotina) pada suhu kamar (Perwita, 2011).

Alkaloid larut dalam pelarut organik seperti kloroform, eter, dan alkohol. Garam alkaloid umumnya larut dalam air dan alkohol. Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang kerap digunakan terkait aktivitas farmakologisnya sebagai analgesik, bronkodilator, antimikrobia, dan antileukimia (Perwita, 2011).

### 2.2.2 Saponin

Saponin yang banyak terkandung dalam tanaman telah lama digunakan untuk pengobatan tradisional. Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tanaman tingkat tinggi serta beberapa hewan laut dan merupakan kelompok senyawa yang beragam dalam struktur, sifat fisikokimia dan efek biologisnya (Yanuartono, 2017).

Saponin merupakan glikosida yang memiliki aglikon berupa steroid dan triterpenoid. Saponin memiliki berbagai kelompok glikosil yang terikat pada posisi C3, tetapi beberapa saponin memiliki dua rantai gula yang menempel pada posisi C3 dan C17. Struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami (Yanuartono, 2017).

Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C 27) dengan molekul karbohidrat dan jika terhidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal saraponin. Saponin steroid terutama terdapat pada tanaman monokotil seperti kelompok sansevieria (Agavaceae) gadung (dioscoreaceae) dan tanaman berbunga (Yanuartono, 2017).

Saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan senyawa karbohidrat yang dihidrolisis menghasilkan aglikon yang dikenal sapogenin. saponin triterpenoid banyak terdapat pada tanaman dikotil seperti kacang-kacangan (leguminosae), kelompok pinang (Araliaceae), dan Caryophyllaceae. Beberapa hasil penelitian telah menunjukkan tentang peran saponin triperpenoid sebagai senyawa pertahanan alami pada tanaman, dan beberapa anggota saponin triterpenoid juga telah diketahui memiliki sifat farmakologis yang menguntungkan (Yanuartono, 2017).

Dampak positif saponin banyak dimanfaatkan untuk kepentingan manusia karena saponin memiliki aktivitas yang luas seperti antibakteri, antifungi, kemampuan menurunkan kolesterol dalam darah dan menghambat pertumbuhan sel tumor. Hasil penelitian aktivitas antibakteri dan antifungi menggunakan metode disc diffusion test juga menunjukkan bahwa saponin memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri maupun fungi (Yanuartono, 2017).

### 2.2.3 Flavonoid

Pada tumbuhan tinggi, flavonoid terdapat baik dalam bagian vegetatif maupun dalam bunga. Sebagai pigmen bunga, flavonoid berperan jelas dalam menarik burung dan serangga penyerbuk bunga. Beberapa flavonoid tanpa warna, tetapi flavonoid menyerap sinar UV penting juga dalam mengarahkan serangga. Glikosida flavonol dan aglikon biasanya dinamakan flavonoid. Glikosida ini merupakan senyawa yang sangat luas penyebarannya di dalam tanaman. Di alam dikenal adanya sejumlah besar flavonoid yang berbeda-beda dan merupakan pigmen kuning yang tersebar luas diseluruh tanaman tingkat tinggi. Rutin, kuersitrin, ataupun sitrus bioflavonoid (termasuk hesperidin, hesperetin, diosmin dan naringenin) merupakan kandungan flavonoid yang paling dikenal (Arifin dan Ibrahim, 2018).

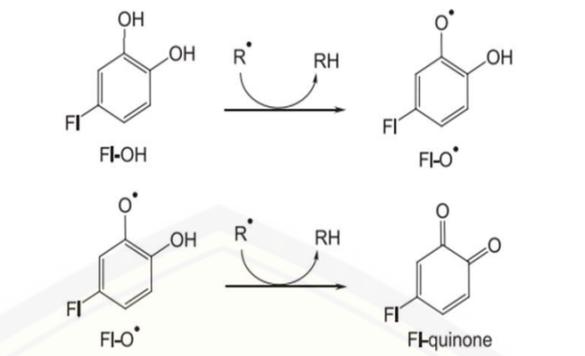
Flavonoid merupakan pigmen fenolik yang umumnya tersebar di alam dan ditemukan pada tumbuhan. Flavonoid merupakan senyawa yang larut dalam pelarut polar, misalnya air dan etanol. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan baik sebagai aglikon (tidak terikat pada gula) maupun sebagai glikosida (terikat pada gula). Umumnya flavonoid dalam bentuk aglikon (tanpa terikat dengan gula) dalam jumlah kecil sering hadir dan ditemukan dalam proporsi penting dari total senyawa flavonoid dalam tanaman. Senyawa flavonoid juga telah dikenal memiliki peranan sebagai antimikrobia, antiinflamasi, antialergi, antitumor, dan antioksidan yang mampu melindungi tubuh manusia dari radikal bebas. Salah satu contoh flavonoid yang telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan adalah catechin (Arifin dan Ibrahim, 2018).

Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan. Flavonoid ditemukan pada tanaman, yang berkontribusi memproduksi pigmen berwarna kuning, merah, oranye, biru, dan warna ungu dari buah, bunga, dan daun. Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Arifin dan Ibrahim, 2018).

Flavonoid adalah kelompok dengan berat molekul rendah berbasis inti 2-fenil-kromon yang merupakan biosintesis dari turunan asam asetat / fenilalanin dengan menggunakan jalur asam shikimat. Secara tradisional, flavonoid diklasifikasikan dengan tingkat oksidasi, annularitas cincin C, dan sambungan posisi cincin B (Arifin dan Ibrahim, 2018).

Flavonoid dioksidasi oleh radikal, menghasilkan radikal yang lebih stabil dan tidak reaktif. Dengan kata lain, flavonoid menstabilkan spesies oksigen reaktif melalui reaksi dengan senyawa reaktif radikal. Flavonoid terpilih bisa langsung menangkap superoksida, sedangkan flavonoid lainnya bisa menangkap turunan radikal oksigen yang sangat reaktif disebut peroxynitrit. Epicatechin dan rutin juga merupakan penangkap radikal yang kuat. Kemampuan penangkap mungkin karena aktivitas inhibitorynya pada enzim xantin oksidase. Dengan menangkap radikal, flavonoid dapat menghambat oksidasi LDL secara *in vitro*. Tindakan ini melindungi partikel LDL dan, secara teoritis, flavonoid mungkin memiliki tindakan pencegahan melawan aterosklerosis (Arifin dan Ibrahim, 2018).

Flavonoid mampu menangkap radikal bebas secara langsung melalui sumbangan atom hidrogen. Radikal dibuat tidak aktif menurut persamaan reaksi pada Gambar 2, di mana  $R \cdot$  adalah radikal bebas dan  $Fl-O\cdot$  adalah radikal fenoksil. Aktivitas antioksidan *invitro* flavonoid bergantung pada penataan gugus fungsi pada struktur intinya. Konfigurasi dan jumlah total gugus hidroksil secara substansial mempengaruhi mekanisme aktivitas antioksidan. Konfigurasi hidroksil cincin B adalah yang paling banyak menentukan penangkapan ROS, sedangkan substitusi cincin A dan C memiliki dampak kecil konstanta laju penangkapan radikal anion superoksida. Aktivitas antioksidan *invitro* dapat ditingkatkan melalui polimerisasi monomer flavonoid, misal Proanthocyanidin (juga dikenal sebagai tanin terkondensat), polimer dari katekin, sangat baik dalam antioksidan *invitro* karena tingginya jumlah gugus hidroksil dalam molekulnya. Kapasitas antioksidan proanthocyanidin tergantung pada oligomer rantai panjang dan jenis ROS yang dengannya mereka bereaksi (Arifin dan Ibrahim, 2018).



Gambar 2.2. Penangkapan spesies oksigen reaktif (ROS). ( $R\bullet$ ) adalah flavonoid. Radikal bebas FI-O• bereaksi dengan radikal kedua, menghasilkan quinone yang stabil. (Pietta, 2000).

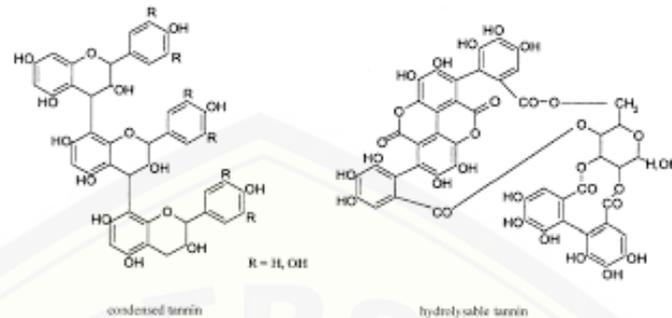
Flavonoid dapat menghambat siklooksigenase atau lipooksigenase dan menghambat akumulasi leukosit di daerah sehingga dapat menjadi antiinflamasi. Mekanisme antiinflamasi diduga dengan menghambat pelepasan serotonin dan histamin ke tempat terjadinya radang serta menghambat sintesis prostaglandin dari asam arakhidonat dengan cara penghambatan kerja siklooksigenase (COX). Senyawa yang diduga memberikan aktivitas antiinflamasi tersebut adalah flavonoid (Ramadhani, 2016)

#### 2.2.4 Tanin

Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada beberapa tanaman. Tanin mampu mengikat protein, sehingga protein pada tanaman dapat resisten terhadap degradasi oleh enzim protease di dalam silo ataupun rumen. Tanin selain mengikat protein juga bersifat melindungi protein dari degradasi enzim mikroba maupun enzim protease pada tanaman sehingga tanin sangat bermanfaat dalam menjaga kualitas silase (Oliveira *et al.*, 2009).

Tanin pada tanaman diklasifikasikan sebagai tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis merupakan jenis tanin yang mempunyai struktur poliester yang mudah dihidrolisis oleh asam atau enzim, dan sebagai hasil hidrolisisnya adalah suatu asam polifenolat dan gula sederhana. Golongan tanin ini dapat dihidrolisis dengan asam, mineral panas dan enzim-enzim saluran pencernaan. Sedangkan tanin terkondensasi, yang sering disebut proantosianidin, merupakan polimer dari katekin dan epikatekin. Tanin yang tergolong tanin

terkondensasi, banyak terdapat pada buah-buahan, biji-bijian dan tanaman pangan, sementara yang tergolong tanin terhidrolisis terdapat pada bahan non-pangan.



Gambar 2.3 Struktur tanin terhidrolisis dan terkondensasi (Dennis *et al.*, 2005)

Sifat utama tanin pada tanaman tergantung pada gugus fenolik-OH yang terkandung dalam tanin. Tanin secara umum memiliki gugus fenol dan bersifat koloid. Semua jenis tanin dapat larut dalam air, kelarutannya besar dan akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas. Begitu pula dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Tanin mempunyai sifat bakteristatik dan fungistatik (Oliveira *et al.*, 2009).

## 2.3 Porphyromonas gingivalis

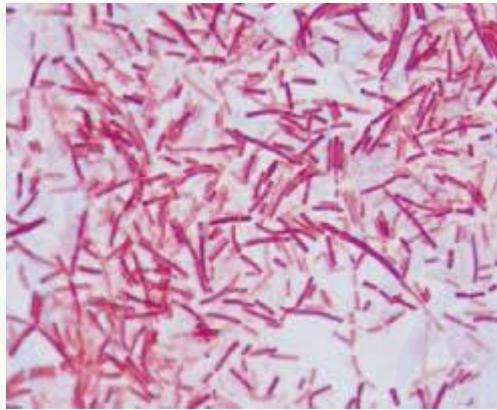
### 2.3.1 Definisi *Porphyromonas gingivalis*

*Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri gram-negatif anaerob yang merupakan flora normal di dalam rongga mulut manusia yang banyak ditemukan pada area sulkus gingiva, plak subgingiva, lidah dan tonsil. *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri melanogenik, nonsakarolitik, dan bagian dari koloni bakteri *Black-pigmented Gram-negative anaerobes*. *Porphyromonas gingivalis* (sebelumnya disebut *Bacteroides gingivalis*) diklasifikasikan dalam genus *Porphyromonas*, family *Porphyromonadaceae*, orde *Bacteroidales*, klas *Bacteroides*, dan phylum *Bacteroidetes* (Dwipriastuti *et al.*, 2017).

Bakteri gram negatif memiliki lipopolisakarida (LPS) pada dinding selnya. LPS memiliki potensi yang kuat sebagai stimulator inflamasi apabila di injeksikan secara in vivo karena LPS mampu menembus ke dalam jaringan periradikuler dan bertindak sebagai endotoksin dalam organisme inangnya sehingga menyebabkan

peradangan pada periradikuler dan berlanjut dengan terjadinya kerusakan tulang (Kumar *et al.*, 2007).

Bakteri *P. gingivalis* banyak ditemukan dalam plak gigi dan bakteri tersebut menyebabkan perubahan patologik jaringan periodontal dengan pengaktifan respons imun dan inflamatori inang, dan secara langsung mempengaruhi sel-sel periodonsium. *P. gingivalis* memproduksi berbagai faktor virulensi patogenik, seperti lipopolisakarida dan hidrogen sulfida, yang dapat menginduksi inang untuk melepaskan IL-1 dan TNF- $\alpha$  (Kumar *et al.*, 2007).



Gambar 2.4 *Porphyromonas gingivalis* (Fitriyana, 2013)

### 2.3.2 Sifat *Porphyromonas gingivalis*

*P. gingivalis* mampu menempel pada sel epitel dibanding bakteri lainnya melalui fimbriae, fibril dan hemaglutinin. Adanya molekul perekat mampu merangsang reaksi sistem imun tersebut memodulasi sistem pertahanan hospes. Ada beberapa komponen atau molekul seperti enzim protease dan polipeptida membrane luar bakteri ini yang mampu menyebabkan respons imun yang meningkatkan kerusakan jaringan (Maduratna dan Ernawati, 2001).

### 2.3.3 Respons Imun terhadap bakteri *P. gingivalis*

Keradangan periapikal secara langsung merupakan interaksi antara bakteri yang menginfeksi saluran akar dan sistem imun dari host. Hal ini dimulai dengan respons keradangan akut. Keradangan akut berlanjut menjadi keradangan kronik apabila sel pertahanan host tidak dapat mencapai sumber iritasi sehingga tubuh tidak mampu untuk menghilangkan infeksi. Bakteri gram negatif paling banyak ditemukan pada saluran akar yang nekrosis adalah *Porphyromonas*. Bakteri yang

menginfeksi jaringan periapikal salah satunya disebabkan oleh bakteri *Porphyromonas Gingivalis*. Bakteri gram negatif memiliki lipopolisakarida (LPS) pada dinding selnya. LPS memiliki potensi yang kuat sebagai stimulator inflamasi apabila di injeksikan secara in vivo karena LPS mampu menembus ke dalam jaringan periradikuler dan bertindak sebagai endotoksin dalam organisme inangnya sehingga menyebabkan peradangan pada periradikuler dan berlanjut dengan terjadinya kerusakan tulang (Kumar *et al.*, 2007).

Reaksi inflamasi kronis yang distimulasi oleh bakteri dan produknya di sekitar periapikal dapat menyebabkan terjadinya kerusakan tulang. Kerusakan tulang merupakan proses dinamis pada jaringan periapikal. Resorpsi tulang diikuti dengan aktivasi dari sel yang meresorpsi tulang disebut osteoklas. Osteoklas adalah sel tulang yang berpengaruh terhadap proses degeneratif. Osteoklas dan osteoblas mengatur keseimbangan yang dinamis pada proses remodeling tulang. Ketidakseimbangan remodeling tulang diakibatkan sel osteoklas jumlahnya lebih banyak dari sel osteoblas sehingga terjadi proses resorpsi tulang. Resorpsi tulang dipengaruhi oleh osteoclast activating factor yang termasuk prostaglandin, bakteri endotoksin, serta produk komplemen aktivator terdiri atas sitokin, IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-11. Pada proses pembentukan sel osteoklas (osteoklastogenesis) terjadi reaksi ikatan osteoclast differentiation faktor dengan reseptornya. Peningkatan proses osteoklastogenesis ini mengakibatkan peningkatan resorpsi tulang (Ramadhani, 2014).

## **2.4 Penyakit Periodontal**

### **2.4.1 Pengertian Jaringan Periodontal**

Jaringan periodontal adalah suatu jaringan yang mengelilingi dan mendukung gigi. Struktur jaringan periodontal terdiri dari gingiva, ligamen periodontal, tulang alveolar dan sementum. Gingiva adalah bagian mukosa rongga mulut yang menutupi tulang alveolar dan berfungsi melindungi jaringan di bawahnya. Gingiva normal memiliki warna merah muda, konsistensi yang kenyal dan tekstur stippling atau seperti kulit jeruk. Ligamen periodontal adalah jaringan konektif yang mengelilingi gigi dan mengikatnya ke tulang. Ligamen periodontal

berfungsi melindungi pembuluh darah dan saraf, perlekatan gigi terhadap tulang dan pertahanan benturan keras akibat tekanan oklusal. Tulang alveolar adalah jaringan keras yang tersusun dari lapisan-lapisan tulang yang berfungsi sebagai penyangga gigi. Sementum adalah bagian yang menyelimuti akar gigi, bersifat keras, tidak memiliki pembuluh darah dan berfungsi sebagai perlekatan ligamen periodontal (Ramadhani, 2014).

#### 2.4.2 Pengertian Penyakit Periodontal

Penyakit periodontal termasuk dalam jenis penyakit inflamasi kronis oleh bakteri yang menyerang periodonsium, yaitu jaringan penyangga gigi. Koloni bakteri jika dibiarkan dan melekat pada permukaan gigi atau di bawah margin gingival akan menyebabkan gingivitis dan bila berlanjut bisa menyebabkan periodontitis. Penyakit periodontal banyak ditemukan pada pasien dengan oral hygiene yang buruk. Penyakit periodontal juga dapat menjadi manifestasi oral dari beberapa penyakit sistemik (Langlais *et al.*, 2016).

Gingivitis dan periodontitis merupakan penyakit periodontal yang sering ditemui. Gambaran klinis dari gingivitis atau inflamasi gingiva yaitu gingiva berwarna merah sampai kebiruan dengan pembesaran kontur gingiva karena edema dan mudah berdarah jika diberikan stimulasi seperti saat makan dan menyikat gigi. Periodontitis adalah suatu infeksi campuran dari mikroorganisme yang menyebabkan infeksi dan peradangan jaringan pendukung gigi, biasanya menyebabkan kehilangan tulang dan ligamen periodontal (Ramadhani, 2014).

#### 2.4.3 Etiologi Penyakit Periodontal

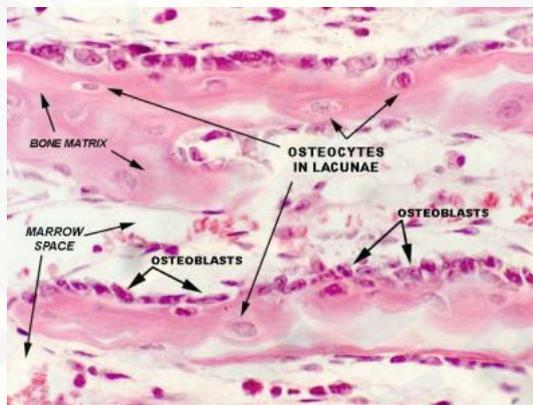
Plak dan akumulasi kalkulus serta bakteri merupakan penyebab utama terjadinya penyakit periodontal. Faktor predisposisi penyakit periodontal yaitu merokok, sering mengkonsumsi alkohol, dan stres. Peradangan pada periodontal akan semakin parah jika kondisi oral hygiene buruk, dan mempunyai riwayat penyakit sistemik seperti diabetes mellitus (Langlais *et al.*, 2016).

### 2.5 Sel Osteoblas

Osteoblas merupakan sel pembentuk tulang yang bertanggung jawab terhadap proses mineralisasi matriks tulang dengan cara mensekresi kolagen tipe I

dan melepaskan kalsium, magnesium, dan ion fosfat. Osteoblas berbentuk polihedral, berukuran 20 hingga 30  $\mu\text{m}$ , dan memiliki sitoplasma basofil. (Ardhiyanto, 2012)

Sel ini berasal dari sel osteoprogenitor dari jaringan mesenkim yang berasal dari sumsum tulang yang diferensiasinya dipengaruhi oleh parathyroid hormone (PTH), dengan memproduksi osteocalcin, bone sialoprotein dan extracellular matrix proteins spesifik untuk tulang. Sel osteoprogenitor juga distimulasi oleh bone morphogenetic protein (BMP), yaitu non kolagenus glikoprotein yang berada di dalam tulang dan juga oleh beberapa mediator kimiawi berupa sitokin yaitu platelet derived growth factor (PDGF), transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), zat morfogenik dan zat-zat eikosanoid seperti prostaglandin (PGE2). Pada proses pembentukan tulang sebagian osteoblas akan berubah menjadi osteosit dan sebagian yang lainnya akan berada di permukaan periosteal atau endosteal tulang (lining cell) dengan karakteristik berbentuk pipih dan beberapa sel osteoblas berbentuk persegi panjang (Ardhiyanto, 2012).



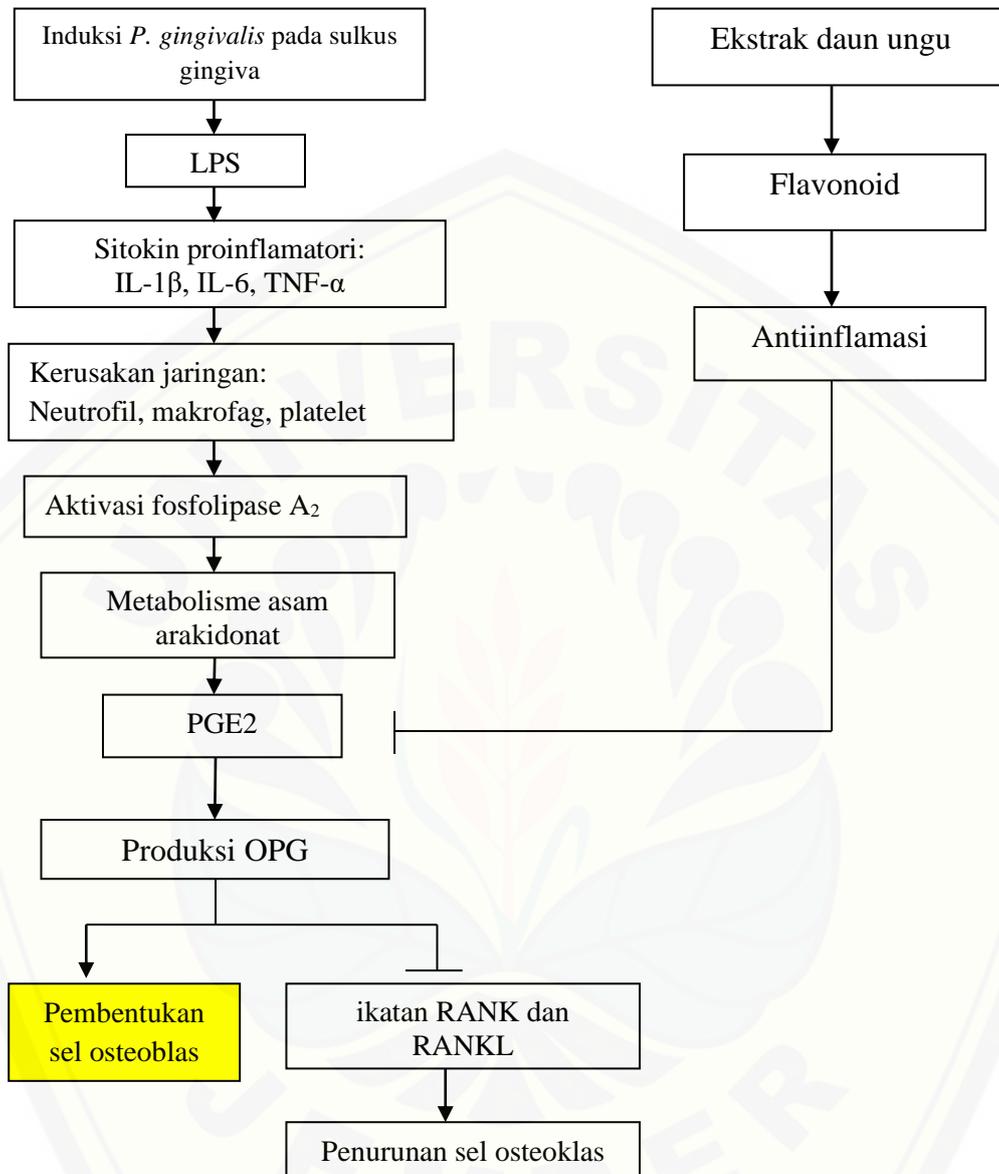
Gambar 2.5 Sel Osteoblas (Hisham, 2015)

Pada proses inflamasi, sel pembentuk tulang yaitu osteoblas mengalami penurunan jumlah maupun aktivitasnya, sedangkan sel osteoklas akan meningkat. Penurunan jumlah sel osteoblas diakibatkan oleh berkurangnya proliferasi atau tingginya apoptosis osteoblas ataupun sel prekursornya, yang keduanya dipengaruhi oleh adanya inflamasi. Peristiwa tersebut diawali adanya respons sistem imun alami yaitu *toll-like receptors* (TLRs) pada sel epitel gingiva mendeteksi dan merespons struktur mikroba misalnya *lipopolysaccharide* (LPS),

*peptidoglycan*, DNA bakteri, *double-stranded* RNA, dan lipoprotein. Struktur mikroba tersebut dikenal dengan *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) (Indahyani, 2013).



## 2.6 Kerangka Konseptual



Keterangan :

→ = menyebabkan

—| = menghambat

Gambar 2.6 Kerangka konseptual

## 2.7 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10% akan meningkatkan jumlah sel osteoblas tulang alveolar tikus wistar yang diinduksi *P. gingivalis*.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *Eksperimental Laboratoris*. Penelitian eksperimental laboratoris adalah penelitian yang bertujuan mencari hubungan sebab akibat dengan memberikan intervensi atau memanipulasi suatu variabel atau lebih kelompok dan mengendalikan faktor yang dapat mempengaruhi hubungan sebab akibat kemudian membandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak dimanipulasi atau diintervensi aktif (Notoatmojo, 2010).

### 3.2 Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Post-Test Control Group*. Dengan melakukan pengamatan atau pengukuran setelah perlakuan pada waktu tertentu yang diberi suatu perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan pengukuran atau observasi pada kelompok kontrol (Notoatmojo, 2010).

### 3.3 Tempat dan Waktu penelitian

#### 3.3.1 Tempat Penelitian

- a. Pembuatan ekstrak daun ungu dilakukan di laboratorium CDAST Universitas Jember.
- b. Pembuatan suspensi bakteri *P. gingivalis* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- c. Perlakuan pada hewan coba dilakukan di Laboratorium Biomedik bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- d. Pengamatan histologis jaringan dan pembuatan preparat dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

#### 3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan September sampai Desember 2019.

### 3.4 Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum (L.) Griff*) dengan konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10%.

#### 3.4.2 Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel osteoblas tulang alveolar tikus wistar yang diinduksi *P. gingivalis*

#### 3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah :

a. Kriteria daun ungu yang digunakan

- 1) Daun ungu yang digunakan spesies *Grptophyllum pictum (L) Griff* yang telah dilakukan identifikasi
- 2) Daun ungu kondisi segar dan bebas kontaminasi hama
- 3) Daun yang digunakan merupakan daun urutan ke-4 sampai ke-6 dari pucuk, karena senyawa aktif yang ada pada daun urutan tersebut lebih banyak
- 4) Daun dipetik pada waktu yang sama yaitu sore hari karena proses fotosintesis sudah selesai
- 5) Daun ungu diambil di wisata edukasi tanaman Universitas Jember

b. Cara pembuatan ekstrak daun ungu

c. Lingkungan Hidup Tikus Wistar jantan

d. Hewan coba (tikus wistar jantan) berdasarkan:

1. Jenis kelamin, usia dan berat badan
2. Makanan dan minuman

e. Cara pemberian ekstrak daun ungu

f. Cara induksi *P. gingivalis* pada tikus wistar

g. Cara pembuatan preparat jaringan

h. Cara perhitungan sel osteoblas

i. Pengecatan sediaan

### 3.5 Definisi Operasional

#### 3.5.1 Ekstrak Daun Ungu

Ekstrak daun ungu merupakan sediaan yang didapatkan dengan mengesktraksi zat aktif dari simplisa daun ungu. Pengambilan daun ungu dilakukan pada Wisata Edukasi Tanaman dan Obat (WETO) Universitas Jember yang terletak di desa Jubung, kecamatan Sukorambi, Jember. Daun ungu dalam penelitian ini diekstraksi menggunakan metode maserasi dan dilarutkan menggunakan etanol 96%. Konsentrasi ekstrak daun ungu yang digunakan adalah 2,5%, 5%, dan 10%.

#### 3.5.2 Jumlah Sel Osteoblas

Jumlah sel osteoblas pada preparat jaringan tulang alveolar dengan pewarnaan *Mayer hematoksilin-eosin* yang dihitung menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x. Gambaran mikroskopis sel osteoblas adalah kuboid dengan inti sel berjumlah satu memiliki sitoplasma yang basofilik. Pengamatan dilakukan pada 3 lapang pandang yang berbeda kemudian dilakukan penjumlahan tiap lapang pandang kemudian dilakukan perhitungan rata – rata jumlah sel osteoblas.

#### 3.5.3 Induksi *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*)

*P. gingivalis* merupakan bakteri gram negatif anaerob berbetuk batang. *P. gingivalis* digunakan untuk menyebabkan suatu peradagan atau inflamasi pada jaringan periodontal tikus wistar secara intra sulkuler pada bagian sulkus gingiva sebelah bukal regio gigi molar 1 kiri rahang bawah sebanyak 0,05 ml. Induksi *P. gingivalis* dilakukan selama 14 hari dengan periode induksi 2 hari sekali.

### 3.6 Sampel penelitian

#### 3.6.1 Sampel pada penelitian ini menggunakan tikus wistar (*Rattus norvegicus*)

#### 3.6.2 Kriteria sampel yang digunakan

- a. Jenis kelamin jantan
- b. Berat badan 175-200 gram
- c. Usia 2-3 bulan
- d. Keadaan umum tikus baik setelah diadaptasikan selama 7 hari.

### 3.6.3 Jumlah Sampel Penelitian

Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 30 ekor tikus wistar jantan, yang dibagi menjadi 5 kelompok dengan jumlah tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus wistar jantan. Besar sampel yang digunakan dalam penelitian adalah berdasarkan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005):

$$n \geq \frac{Z^2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan:

$n$  = jumlah sampel minimum

$\sigma$  = standar deviasi sampel

$d$  = kesalahan yang masih dapat ditoleransi, diasumsikan  $d = \sigma$

$Z$  = konstanta pada tingkat kesalahan tertentu, jika  $\alpha = 0,05$  maka  $Z = 1,96$

Perhitungan:

$$n \geq \frac{Z^2 \cdot \sigma^2}{d^2}, \text{ diasumsikan } d = \sigma, \text{ maka } n = Z^2$$

$$n \geq (1,96)^2$$

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4$$

Sampel penelitian yang berjumlah 4 tersebut, ditambahkan dengan Faktor koreksi dengan rumus sebagai berikut (Usman dan Akbar, 2008):

$$N = \frac{n}{(1-f)}$$

Keterangan:

$N$  = besar sampel setelah dikoreksi

$n$  = jumlah sampel minimum

$f$  = perkiraan terjadinya drop out pada sampel sebesar 30% (0,30) maka didapatkan hasil:

$$N = \frac{4}{0,7}$$

$$N = 5,714$$

$$N = 6$$

Jadi, berdasarkan rumus tersebut sampel yang digunakan untuk masing-masing kelompok sebanyak 6 ekor. Pada penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus wistar jantan sebagai sampel, yang terbagi kedalam 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus wistar jantan.

### 3.7 Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.7.1 Bahan penelitian

- a. Tikus wistar jantan 30 ekor
- b. Makanan standar untuk tikus wistar
- c. Air mineral
- d. Aquadest
- e. Sekam
- f. Cotton roll
- g. Eter
- h. Kapas
- i. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 dari sediaan di lab mikrobiologi FKG universitas Jember
- j. Etanol 96%
- k. Alkohol 95% dan 100%
- l. Xylol
- m. Hematoxylin
- n. Larutan eosin 2%
- o. Formalin 10%
- p. Ekstrak daun ungu konsentrasi 2,5%
- q. Ekstrak daun ungu konsentrasi 5%
- r. Ekstrak daun ungu konsentrasi 10%
- s. Daun ungu
- t. Entelan
- u. Minyak emersi

#### 3.7.2 Alat

- a. Kandang tikus

- b. Tempat makan dan minum tikus
- c. Masker dan sarung tangan
- d. Timbangan hewan coba
- e. Blender
- f. Toples
- g. Corong
- h. Neraca Digital (ohaus, jerman)
- i. Labu erlemeyer (pyrex)
- j. Gelas ukur (pyrex)
- k. *Rotary evaporator* (Heppendorf, Jerman)
- l. *Disposable syring*s 1 ml
- m. Gunting (Gunindo, Indonesia)
- n. Papan bedah
- o. Blade scalpel
- p. Mikroskop Cahaya (Olympus photo slide BX51 with cam DP71 12mpx, Jepang)
- q. Blok parafin
- r. *Object glass*(Slides)
- s. *Deck/ cover glass* (Menzel-Glaser)
- t. *Water bath* (Memert, Jerman)
- u. *Slide warmer* (Sakura, Jepang)
- v. *Embedding kaset*/ Blok kayu
- w. *Staining jar* (Sakura, Jepang)
- x. *Histological basket* (Sakura, Jepang)
- y. *Rat dental chair*
- z. Pinset

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 *Ethical Clearence*

Hewan coba dan prosedur penelitian akan dilakukan permohonan *ethical clearence* di Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

#### 3.8.2 Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) melalui Balai Konservasi Tumbuhan (BKT) Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur. Identifikasi dilakukan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ungu.

#### 3.8.3 Tahap Persiapan hewan Coba

Sampel tikus wistar jantan diadaptasikan terhadap lingkungan kandang tertutup kawat selama 1 minggu dan diberi makanan standar serta diberi minum setiap hari di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

#### 3.8.4 Persiapan Ekstrak Daun Ungu

##### a. Pembuatan ekstrak Daun Ungu

Tahap pembuatan serbuk simpisia kering (penyerbukan) pada tanaman Daun ungu dilakukan dengan cara pengeringan dan penghalusan untuk pembuatan serbuk. Sebelum dilakukan pengeringan, daun ungu seberat 700 gram diambil kemudian dicuci bersih lalu dikeringkan. Pengeringan daun ungu dilakukan selama 5 hari di tempat teduh dan tidak terpapar sinar matahari secara langsung dengan cara mengangin-anginkan daun ungu yang telah dipotong-potong. Daun ungu kering dilakukan dihaluskan dengan cara diblender, lalu didapatkan berat 200 gram. Kemudian dilakukan tahap separasi dan pemurnian

Tahap separasi dan pemurnian bertujuan untuk menghilangkan berbagai senyawa yang tidak digunakan semaksimal mungkin tanpa mempengaruhi senyawa kandungan yang akan digunakan, sehingga dapat diperoleh ekstrak daun ungu murni. Dilakukan perendaman simplisia dengan etanol, pelarut etanol 96% digunakan untuk merendam simplisia selama 3 hari dalam tabung *erlenmyer* dengan perbandingan 3 : 1 pelarut dan ekstrak daun ungu. Pelarut yang digunakan

sebanyak 120ml : 40 gram dan direndam selama 3x24 jam. Dilanjutkan dengan pengadukan tabung *erlenmyer* diaduk menggunakan *shaker* selama 3x24 jam dengan kecepatan 200 rpm non stop. Sampel yang telah direndam kemudian disaring dengan menggunakan *vacuum bunchner* hingga menjadi ekstrak cair.

Tahap penguapan bertujuan untuk memisahkan ekstrak dari larutan etanol. *Vacuum evaporator* digunakan untuk menguapkan ekstrak dengan tekanan 50 mbarr, kecepatan 50 rpm suhu 50° C, sehingga diperoleh ekstrak daun ungu semisolid (kental) dengan konsentrasi 100% dan berat 29, 41 gram.

#### b. Pembuatan Konsentrasi ekstrak Daun Ungu

Metode pengenceran digunakan untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak daun ungu yang diinginkan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Keterangan :

M1 : kadar konsentrasi awal

M2 : kadar konsentrasi akhir

V1 : Volume awal

V2 Volume akhir

Untuk memperoleh ekstrak daun ungu 2,5%, 5%, 10% masing-masing sebanyak 4 ml :

$$100\% \times V1 = 2,5\% \times V2$$

$$V1 = \frac{2,5 \times 4}{100}$$

$$V1 = 0,1 \text{ ml}$$

$$100\% \times V1 = 5\% \times V2$$

$$V1 = \frac{5 \times 4}{100}$$

$$V1 = 0,2 \text{ ml}$$

$$100\% \times V1 = 10\% \times V2$$

$$V1 = \frac{10 \times 4}{100}$$

$$V1 = 0,4 \text{ ml}$$

Jadi, ekstrak daun ungu 100% harus diencerkan dengan menambahkan 3,8 ml aquades steril kedalam 0,1 ml, 0,2 ml, dan 0,4 ml ekstrak daun ungu 100%. Dosis 4 ml yang diberikan untuk tikus wistar diperoleh dari tabel konversi pada lampiran L.

#### 3.8.5 Pembuatan sediaan bakteri *P. gingivalis*

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan pengambilan koloni bakteri pada *stock* yang dibiakkan pada blood agar. Selanjutnya mengambil koloni bakteri sebanyak 1-2 ose dan diletakkan pada campuran BHI-B 1ml. Media BHI-B yang telah terisi koloni bakteri tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam suspensi dihomogenkan menggunakan *vortex*. Kemudian mengambil 200µl suspensi bakteri dan masukkan dalam NaCL 0,45% sebanyak 1ml, kemudian homogenkan lagi menggunakan *vortex*. Suspensi diuji sekeruhannya menggunakan denischeck hingga konsentrasi 0,5 McFarland (setara  $2 \times 10^9$  CFU/ml).

#### 3.8.6 Tahap induksi *P. gingivalis*

Sebanyak 30 ekor tikus wistar jantan dengan berat 175-200 gram difiksasi menggunakan rat dental chair. Kemudian diinduksi *P. gingivalis* 0,05 ml dengan konsentrasi  $2 \times 10^9$  secara intrasulkuler pada gigi molar 1 rahang bawah bagian bukal pada sulkus gingiva menggunakan *disposable syringe*. Induksi *P. gingivalis* diberikan 3 kali seminggu secara berselang-seling selama 2 minggu.

#### 3.8.7 Tahap pemberian ekstrak daun ungu

Ekstrak daun ungu diberikan pada gingiva bagian bukal gigi molar 1 rahang bawah yang telah diinduksi *P. gingivalis* dengan cara irigasi. Pemberian ekstrak daun ungu dilakukan selama 7 hari berturut-turut sebanyak 0,27 ml.

#### 3.8.8 Tahap Pengelompokkan dan Perlakuan Hewan Coba

Tikus wistar jantan dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus wistar jantan. Penelitian ini menggunakan beberapa kelompok yang terdiri dari:

- a. Kelompok I : kelompok normal yang terdiri dari tikus yang tidak diinduksi *P. gingivalis* dan tidak diberi ekstrak daun ungu.

- b. Kelompok II : kelompok kontrol negatif yang terdiri dari tikus telah diinduksi bakteri *P. gingivalis*.
- c. Kelompok III : kelompok perlakuan terdiri dari tikus yang telah diinduksi bakteri *P. gingivalis* dan diberi ekstrak daun ungu dengan konsentrasi 2,5%.
- d. Kelompok IV : kelompok perlakuan terdiri dari tikus yang telah diinduksi bakteri *P. gingivalis* dan diberi ekstrak daun ungu dengan konsentrasi 5%.
- e. Kelompok V : kelompok perlakuan terdiri dari tikus yang telah diinduksi bakteri *P. gingivalis* dan diberi ekstrak daun ungu dengan konsentrasi 10%.

Dekaputasi dilakukan pada masing-masing kelompok, dengan 6 ekor tikus tiap kelompok pada hari ke-7. kemudian dilakukan pengambilan sampel jaringan dengan cara mengambil rahang bawah tikus untuk diproses pembuatan sediaan jaringan.

#### 3.8.9 Tahap Pembuatan Preparat Jaringan

##### a. Pembuatan Preparat Jaringan

1. Dilakukan pengambilan jaringan tulang alveolar.
2. Fiksasi dengan menggunakan larutan formalin 10% selama 12-18 jam. Tujuan tahapan ini adalah untuk mempertahankan morfologi sel seperti semula dan mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri.
3. Cuci sediaan dengan air mengalir selama 1,5 jam untuk menghasilkan sisa-sisa bahan fiksasi.
4. Dekalsifikasi menggunakan asam format 10% yang dilakukan 24-48 jam yang bertujuan untuk melunakkan jaringan keras atau tulang. Larutan diganti setiap hari agar mendapatkan hasil yang baik.
5. Dilakukan pencucian kembali menggunakan air mengalir selama 1,5 jam untuk menghilangkan sisa-sisa bahan dekalsifikasi.
6. Tahapan selanjutnya yaitu melakukan tahapan dehidrasi dengan menggunakan *Automatic Tissue Processor* yang dilakukan selama 24 jam. Proses ini bertujuan untuk menarik air dalam jaringan.
7. Dilakukan proses infiltrasi yaitu jaringan yang telah diclearing dibungkus dengan kertas saring yang telah diberi label, kemudian dimasukkan paraffin cair suhu 56° – 60° C.

8. Penanaman dalam blok parafin (embedding) kemudian dimasukkan kedalam kulkas agar parafin mengeras.
9. Pembuatan preparat dengan memotong blok parafin menggunakan mikrotom dengan ketebalan 6-10 mikron.
10. Hasil pemotongan yang berupa lembaran tipis dipindahkan dengan hati-hati ke dalam *waterbath* menggunakan pinset kecil agar sayatan dapat jaringan dapat mengambang dengan baik.
11. Hasil sayatan dipilih dengan baik dan dipindahkan diatas *object glass* dan diberi labe; sesuai dengan label pada blok parafin.
12. Sediaan yang telah jadi diletakkan pada *slide warmer* dengan suhu 58-60 °C (Staf Patologi Anatomi FKG UNEJ, 2019)

#### b. Pewarnaan Jaringan

Preparat jaringan dilakukan dengan pewarnaan *Mayer hematoksin-eosin*. Preparat yang akan diwarnai diletakkan pada rak khusus dan dicelupkan secara berurutan ke dalam larutan dengan waktu sebagai berikut:

1. Menghilangkan paraffin yang tersisa dengan menggunakan *xylol 1* selama 2 menit dan *xylol 2* selama 3 menit
2. Dehidrasi dengan alkohol 100% 1 selama 3 menit dan alkohol 100% 2 selama 3 menit. Dilanjutkan dengan alkohol 95% 1 selama 3 menit, alkohol 95% 2 selama 3 menit dan air mengalir 10 menit.
3. Preparat diwarnai dengan *Mayers hematoksin* selama 5 menit
4. Cuci dalam air mengalir selama 20 menit
5. Masukkan kedalam larutan eosin selama 15 detik-2 menit kemudian ke dalam air dengan 4 kali celup.
6. Masukkan ke dalam alkohol 95% 3 selama 3 menit, alkohol 95% 4 selama 3 menit, alkohol 100% 3 selama 3 menit, dan alkohol 100% 4 selama 3 menit.
7. Masukkan ke dalam *xylol 3* selama 3 menit dan *xylol 4* selama 3 menit.

### 3.9 Perhitungan Jumlah Sel Osteoblas

Data penelitian diperoleh dari pengamatan pada sediaan histologis dari tiap kelompok hewan coba menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x.

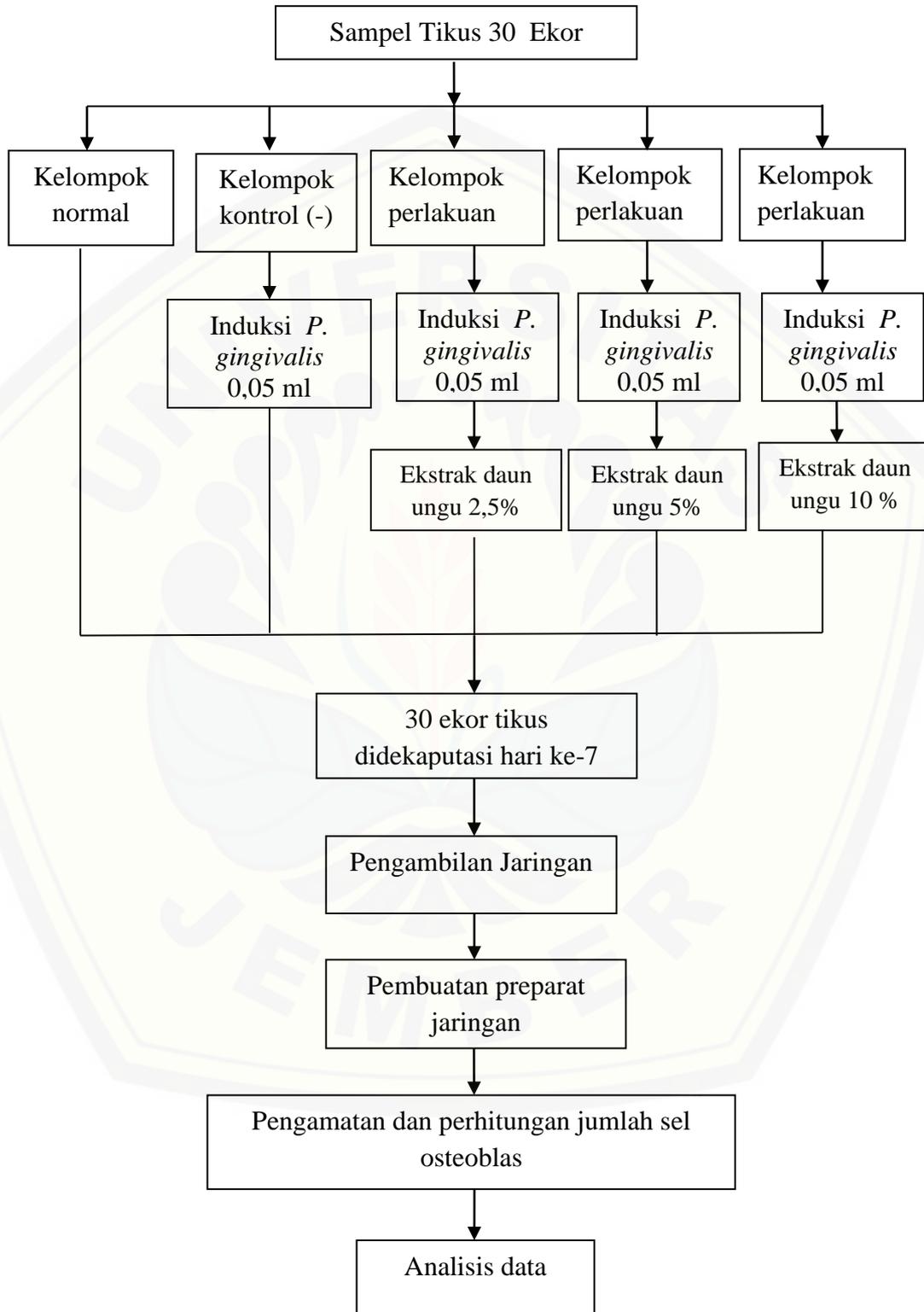
Tiap satu sampel sediaan histologis diamati pada 3 lapang pandang yaitu sepertiga atas, sepertiga tengah, sepertiga bawah dari tulang alveolar. Pengamatan dilakukan oleh 3 pengamat yang berbeda kemudian hasilnya dijumlah dan dirata-rata.



### 3.10 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ditabulasi. Data diuji normalitasnya menggunakan uji *Saphiro-wilk* untuk menentukan apakah data berdistribusi normal. Kemudian diuji *Levene* untuk mengetahui homogenitas varian. Apabila data berdistribusi normal dan homogen ( $p > 0,05$ ), data kemudian dianalisis dengan menggunakan uji *Oneway Anova*. Apabila terdapat perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ), dilanjutkan dengan uji *Least Significate Diference (LSD)* untuk mengetahui adanya perbedaan antara variabel. Apabila data tidak berdistribusi normal atau tidak homogen maka dilakukan uji statistik non-parametrik yakni *Kruskal-Wallis* dan kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann withney* untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing kelompok (Notoatmojo, 2010).

### 3.11 Alur Penelitian



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Ekstrak daun ungu dapat meningkatkan jumlah sel osteoblas pada tulang alveolar tikus wistar jantan yang diinduksi *P. gingivalis* dengan jumlah sel osteoblas terbanyak pada ekstrak daun ungu konsentrasi 10%.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan penulis adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai cara pemberian ekstrak daun ungu pada tulang alveolar
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk menguji biokompabilitas ekstrak daun ungu sebagai agen anti-inflamasi
3. Perlu adanya penelitian lebih lanjut dalam penelitian sejenis dengan menggunakan daun jenis lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Addisu, S. & A. Assefa. 2016. Role of plant containing saponin on livestock production; A Review *Advances in Biological Research*. 10(5) : 309-314.
- Afriyanti, Sety M., Tina L. 2018. Analisis Faktor Risiko Kejadian Penyakit Periodontal Pada Usia Dewasa Muda (20-44 Tahun) Di Puskesmas Poasia Kota Kendari Tahun 2017. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kesehatan Masyarakat*. 3(2) : 35-37
- Ansel, H.C. 2008. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi Keempat, Jakarta: UI Press: 117-118.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid. *Jurnal Zarah*. 6(1): 21-29.
- Ardhiyanto, H. B. 2012. Stimulasi Osteoblas Oleh Hidroksiapatit Sebagai Material *Bone Graft* Pada Proses Penyembuhan Tulang. *Jurnal Stomatognatic*. 9(3): 162-163
- Ariyanti, E. 2011. *Graptophyllum pictum* (L.) Griff.: The Collection of Purwodadi Botanic Garden and Its Potential Uses. Bogor: Biopharmaca Research Center: 104-107
- Ayu, V. 2018. Efek Induksi Lps Terhadap Jumlah Osteoblas Pada Resorpsi Tulang Alveolar Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) Galur Sprague Dawley. *Dental Journal*. 14(1): 1-7
- Baskhara, M. E. 2018. *Efektivitas Ekstrak Daun Ungu (Graptophyllum Pictum (L.) Griff) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Porphyromonas gingivalis (In vitro)* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Semarang).
- Cekici, A.,Kantaraci, A., Hasturk, H. 2014. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*. Vol. 64:57-80
- Dwipriastuti, D., Putranto, R. R., & Anggarani, W. (2017). Perbedaan Efektivitas Chlorhexidine Glukonat 0, 2% dengan Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) terhadap Jumlah Porphyromonas Gingivalis. *ODONTO: Dental Journal*. 4(1): 50-54.
- Dyah, S. dan Harto, W. 2011. Intraspecific Variation Of Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff) Based On Molecular Characters In Medicinal Plant And Traditional Medicine Research And Development

- Office. Proceedings Of The Second International Synposium On Temulawak.
- Ermawati, T., Sari, DS., Kundari, M. 2012. Status Kesehatan Periodontal Dan Tingkat Kebutuhan Perawatan Pasien Yang Datang Ke Klinik Periodonsia Rsgm Universitas Jember Tahun 2011. *Stomatognatic (J. K. G. Unej.)*. 9 (2): 86-89.
- Ernawati, D. S., & Maduratna, E. 2001. Infeksi dan Imunitas P. gingivalis. *Majalah Kedokteran Gigi Universitas Airlangga*. 34: 239-241.
- Eroschenko, V. P. 2010. Atlas Histologi Difiore, edisi 11. EGC: Jakarta.
- Fitriyana, N., Arina, Y. M., Harmono, H., & Susilawati, I. D. A. 2013. Pemaparan bakteri *Porphyromonas gingivalis* mempengaruhi produksi superoksid netrofil The effect of *Porphyromonas gingivalis* induction on neutrophil's superoxide production. *Dentofasial*. 12(3): 154
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J. 2012. Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism And Structure–Activity Relationships. *J Nutr Biochem*. Vol. 13: 572–584.
- Indahyani, D. E. 2013. Minyak ikan Lemuru (*Sardinella longicep*) menurunkan apoptosis osteoblas pada tulang alveolaris tikus wistar. *Dental Journal Majalah Kedokteran Gigi*. 46(4) : 185-189.
- Indriana, R. A., Astuti, P., Kurniawati, A. 2017. Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) terhadap Pertumbuhan Bakteri Saluran Akar Gigi. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 5(1): 45-49
- Kadowaki T, Baba A, Abe N, Takii R, Hashimoto M, Tsukuba T, Okazaki S, Suda Y, Asao T, Yamamoto K. 2004. Suppression of Pathogenicity of *Porphyromonas gingivalis* by Newly Developed Gingipain Inhibitors. *Molecular Pharmacology*. 66 : 1599-1606.
- Kah Yan, H., Keang, P.S., And Kok., G.C. 2016. *Porphyromonas gingivalis*: An Overview Of Periodontopathic Pathogen Below The Gum Line. *Frontiers In Microbiology*. 7(53): 112-117
- Khumaida, N., Kristina, N. N., Sartiami, D., & Mardiningsih, T. L. 2008. Kearifan lokal penduduk Jawa Barat, Maluku dan Papua dalam memanfaatkan tanaman obat handeuleum (*Graptophyllum pictum* L.). In *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia (TOI) XXXV. Serpong* (pp. 13-14).

- Kini U. Nandeesh BN. 2012. Physiology of bone formation, remodeling, and metabolism. Dalam: Fogelman et al (eds.). Radionuclide and hybrid bone imaging. Verlag Berlin Heidelberg: Springer: 30-43.
- Kumar, V., Cotran, R.S., dan Robbins S.L. 2007. Buku Ajar Patologi. Edisi 7; ali Bahasa, Brahm U, Pendt ;editor Bahasa Indonesia, Huriawati Hartanto, Nurwany Darmaniah, Nanda Wulandari.-ed.7-Jakarta: EGC.
- Kurniawati, A. (2005). Hubungan Kehamilan dan Kesehatan Periodontal. J. Biomed. Unej Mei 2005, II (2): 43, 51.
- Kurniawati, Atik. 2018. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Ungu (EEDU) *Graptophyllum Pictum* L. Griff Terhadap Aktivitas Fagositosis Monosit Yang Dipapar *Candida Albicans*. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*. 12(2): 127-129
- Kurniawati, A.,Dkk. 2019. Peran Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum* L. Griff) Terhadap Adhesi *Streptococcus Mutans* Pada Neutrofil. *Cakradonya Dental Journal*. 11(2): 131-132
- Kurniawati, A., Wahyukundari, M. A., & Astuti, S. D. 2020. Potensi Ekstrak Daun Ungu dalam Menurunkan Jumlah Sel Osteoklas Tikus yang Diinduksi *Porphyromonas Gingivalis*. *Cakradonya Dental Journal*. 12(2): 75-82.
- Krishnan V, Davidovitch Z. 2015. Biological mechanisms of tooth movement. 2nd ed.Chichester: Wiley Blackwell: 16-25, 44.
- Langlais RP, Miller CS, Nield-Gehrig JS. 2016. Lesi Mulut yang Sering Ditemukan. Jakarta: EGC
- Mageed, J. Mays. Juma, S. S. S. 2015. Antimicrobial effects on green tea extracts on *Porphyromonas gingivalis* (in vitro study). *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. 14(10): 33-39.
- Manoi, Feri. 2011. Analisa Fitokimia dan Kandungan Bahan Aktif dari Lima Aksesori Tanaman *Handeuleum (Graptophyllum pictum (L.) Griff)*. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 11(1):16-17.
- Notoatmojo, S. 2010. Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta: Rineka cipta.
- Oliveira, R.L., Santos, G.T., H.V.Petit, U. Cecato, L. M. Zeoula, L.P. Rigolon, .C. Damasceno, A.F. Branco, & Bett, V. (2009). Effect of tanins acid on composition and ruminal degradability of bermudagrass and alfalfa silages. *J. Dairy Sci*.83:2016-2020.
- Patil A, Jayade VP. 2006. Advances in biology of orthodontic tooth movement – a review. *J Ind Orthod Soc* 39: 155-64.

- Perwita, F. A. 2011. Teknologi ekstraksi daun ungu (*Graptophyllum pictum*) dalam ethanol 70% dengan metode perkolasi.
- Pietta, P.G. 2000. Flavonoids As Antioxidants. *J Nat Prod*. Vol. 63: 1035–42.
- Procházková, I., Boušová, N., Wilhelmová. 2011. Antioxidant And Prooxidant Properties Of flavonoids. *Fitoterapia*. Vol. 82: 513–523.
- Prasetya, R. C. 2015. Ekspresi dan Peran Siklooksigenase-2 dalam Berbagai Penyakit di Rongga Mulut. *Stomatognatic Jurnal Kedokteran Gigi Unej*. 12(1) : 16-19
- Fadlil, P. N. I., Ermawati, T., & Hikmah, N. 2016. Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak BijiKopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Ketebalan Epitel Gingiva Model Tikus Periodontitis yang Diinduksi *Porphyromonas gingivalis*.
- Ramadhani, N., dan S. A. Sumiwi. 2017. Aktivitas Antiinflamasi Berbagai Tanaman Diduga Berasal Dari Flavonoid. *Farmaka*. 14(2):112-114.
- Reddy, Shantipriya. 2011. *Essensial Of Clinical Periodontology And Periodontics*. 3<sup>rd</sup> Edition. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publisher.
- Susilawati, IDA. 2011. Periodontal infection is a “silent killer”. *Stomatognatic Jurnal Kedokteran Gigi Unej*. 8(1): 21-26.
- Shesy, S. dan Rekha, N. I. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum* Griff) Terhadap Penyembuhan Hemoroid. *MAJORITY*. Volume 5 (5): 155-157.
- Soleha, T.M. dan Yudistira, A. 2016. Blueberry ( *Vaccinium Corymbosum* ) dalam Menghambat Proses Inflamasi. *Majority*. 5(1) : 63-66
- Yanuartono, H. P., Nururrozi, A., & Indarjulianto, S. (2017). Saponin: dampak terhadap ternak (ulasan). *Jurnal Peternakan Sriwijaya*. 6(2): 79-90.

Lampiran A. Surat Keterangan *Ethical Clearance*

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)          FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER          (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH          FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</p>
	<p><b>ETHIC COMMITTEE APPROVAL</b>  <u>No.859/UN25.8/KEPK/DL/2020</u></p>
<p>Title of research protocol : "The Effect of (<i>Graptophyllum Pictum</i> L.Griff) Ekstract on Oestoblast Cells in Wistar Rat Induced by <i>Porphyromonas ginggivalis</i> Bacteria"</p>	
<p>Document Approved : Research Protocol</p>	
<p>Pincipal investigator : Pramita Wahyu Dyasti</p>	
<p>Member of research : -</p>	
<p>Responsible Physician : Pramita Wahyu Dyasti</p>	
<p>Date of approval : Februari-April 2020</p>	
<p>Place of research :</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Wisata Edukasi Tanaman Obat (WETO) UNEJ</li> <li>2. Lab. Terpadu <i>Center for Development Advanced Science and Technology</i> (CDAST) UNEJ</li> <li>3. Lab. Bioscience RSGM UNEJ</li> <li>4. Lab. Biomedik Bagian Fisiologi FKG UNEJ</li> <li>5. Lab. Biomedik Bagian Hiostologi FKG UNEJ</li> </ol>
<p>The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember States That the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.</p>	
<p>Jember, February 13<sup>th</sup> 2020</p>	
<p>Dean of Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>	<p>Chairman of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>
 <p>drg. R. Retardyan P. M. Kes, Sp. Pros.)</p>	 <p>( dr. Ayu Ratna Dewanti, M.Si.)</p>

## Lampiran B. Surat Ijin Penelitian

	KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI	
	UNIVERSITAS JEMBER	
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI		
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991		
Nomor	: 6198 /UN.25.8/TL/2019	08 OCT 2019
Perihal	: Ijin penelitian	
Kepada Yth Ketua Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember		
Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :		
1. Nama	:	Pramita Wahyu Dyasti
2. NIM	:	161610101020
3. Semester/Tahun	:	2019/2020
4. Fakultas	:	Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat	:	Jln. Batu raden 1 No. 2, Jember
6. Judul Penelitian	:	Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ungu ( <i>Graptophyllum pictum L. Griff</i> ) terhadap Peningkatan Sel Osteoblas pada Tikus Wistar yang Diinduksi Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>
7. Lokasi Penelitian	:	Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
8. Data/alat yang dipinjam	:	-
9. Waktu	:	September 2019 s/d selesai
10. Tujuan Penelitian	:	Untuk Mengetahui Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ungu ( <i>Graptophyllum pictum L. Griff</i> ) terhadap Peningkatan Sel Osteoblas pada Tikus Wistar yang Diinduksi Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>
11. Dosen Pembimbing	:	1. drg. Peni Pujiastuti, M.Kes 2. Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes
Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih		
 an Dekan, Wardi Dhanu		
 <b>Dr. drg. Masriari Novita, M.Kes, Sp. OF (K)</b> <b>NIP. 196811251999032001</b>		



## Lampiran D. Surat Ijin Laboratorium



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS JEMBER

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 6198 /UN.25.8/TL/2019  
 Perihal : Ijin penelitian

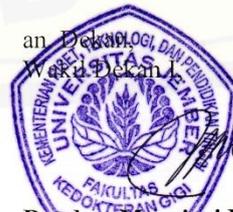
08 OCT 2019

Kepada Yth  
 Ketua Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi  
 Universitas Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

1. Nama : Pramita Wahyu Dyasti
2. NIM : 161610101020
3. Semester/Tahun : 2019/2020
4. Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jln. Batu raden 1 No. 2, Jember
6. Judul Penelitian : Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) terhadap Peningkatan Sel Osteoblas pada Tikus Wistar yang Diinduksi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*
7. Lokasi Penelitian : Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
8. Data/alat yang dipinjam : -
9. Waktu : September 2019 s/d selesai
10. Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) terhadap Peningkatan Sel Osteoblas pada Tikus Wistar yang Diinduksi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*
11. Dosen Pembimbing : 1. drg. Peni Pujiastuti, M.Kes  
2. Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Dr. drg. Masriari Novita, M.Kes, Sp. OF (K)  
 NIP. 196811251999032001

## Lampiran E. Surat Ijin Peminjaman Lahan



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
UPT AGROTECHNOPARK

Jalan Kalimantan 37, Kampus Bumi Tegal Boto, Jember 68121  
Email: agrotechnopark@unej.ac.id Laman: agrotechnopark.unej.ac.id

Nomor : 237/UN25.5.8/LT/2019  
Hal : Persetujuan Penggunaan Fasilitas

23 September 2019

Yth. Wakil Dekan I  
Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember  
Jember

Menindaklanjuti surat Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, nomor: 5865/UN.25.8/TL/2019, tanggal 18 September 2019, hal Permohonan Ijin Peminjaman Lahan atas nama:

Nama : Pramita Wahyu Dyasti  
NIM : 161610101020  
Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi  
Judul Penelitian : Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) terhadap Peningkatan Jumlah Sel Osteoblas pada Tikus Wistar yang diinduksi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*  
Waktu Penelitian : 23 September 2019 sampai dengan 29 Februari 2020  
Tempat Penelitian : Wahana Edukasi Tanaman Obat, Kebun Agrotechnopark Jubung, Universitas Jember

disampaikan dengan hormat bahwa pada prinsipnya permohonan tersebut dapat disetujui. Selama melakukan kegiatan, diharapkan mahasiswa mematuhi tata tertib penggunaan fasilitas yang berlaku di UPT Agrotechnopark Universitas Jember.

Atas perhatian dan kerja sama yang baik diucapkan terima kasih.

Kepala,  
  
S.H., M.P.  
U N P 19620808 198802 1 001  
AGROTECHNOPARK

Tembusan:  
✓ Mahasiswa yang bersangkutan.

## Lampiran F. Surat Ijin Identifikasi Tanaman Daun Ungu

	KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI <b>UNIVERSITAS JEMBER</b> <b>FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI</b> Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991	
	Nomor : 6198 /UN.25.8/TL/2019 Perihal : Identifikasi Tanaman	
		<b>08 OCT 2019</b>
Kepada Yth Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Di Pasuruan		
Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediannya untuk melakukan identifikasi tanaman bagi mahasiswa kami dibawah ini :		
1. Nama	:	Pramita Wahyu Dyasti
2. NIM	:	161610101020
3. Semester/Tahun	:	2019/2020
4. Fakultas	:	Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat	:	Jln. Batu raden 1 No. 2, Jember
6. Judul Penelitian	:	Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ungu ( <i>Graptophyllum pictum L. Griff</i> ) terhadap Peningkatan Sel Osteoblas pada Tikus Wistar yang Diinduksi Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>
7. Lokasi Penelitian	:	UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi
8. Data/alat yang dipinjam	:	-
9. Waktu	:	September 2019 s/d selesai
10. Tujuan Penelitian	:	Untuk Melakukan Identifikasi Tanaman Daun Ungu ( <i>Graptophyllum pictum L. Griff</i> )
11. Dosen Pembimbing	:	1. drg. Peni Pujiastuti, M.Kes 2. Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes
Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih		
		 an. Dekan Wakil Dekan I
		 <b>Dr. drg. Masniari Novita, M.Kes. Sp. OF (K)</b> <b>NIP. 196811251999032001</b>

## Lampiran G. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman Daun Ungu

	<p align="center"><b>LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA</b>  <b>(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)</b>  <b>BALAI KONSERVASI TUMBUHAN</b>  <b>KEBUN RAYA PURWODADI</b>  <b>Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163</b>  <b>Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046</b>  <b>website : <a href="http://www.krpurwodadi.lipi.go.id">http://www.krpurwodadi.lipi.go.id</a></b></p>	 
	<p align="center"><b><u>SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN</u></b>  <b>No: 1112 /IPH.06/HM/X/2019</b></p> <p>Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:</p> <p>Nama : Pramita Wahyu Dyasti  NIM : 161610101020  Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  Tanggal material diterima : 11 Oktober 2019</p> <p>Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut :</p> <p>Kingdom : Plantae  Division : Magnoliophyta  Class : Magnoliopsida  Subclass : Asteridae  Ordo : Scrophulariales  Family : Acanthaceae  Genus : Graptophyllum  Species : <i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff.</p> <p>Referensi:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Backer CA &amp; Bakhuizen van den Brink RC. 1965. Flora of Java Vol.II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 579</li> <li>2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVII</li> <li>3. Heyne K. 1987. Tanaman Berguna Indonesia I Hal. 1756</li> </ol> <p>Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.</p> <p align="right">Purwodadi, 22 Oktober 2019  An. Kepala  Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan</p> <p align="center">   <b>Rony Irawanto, S.Si., M.T.</b> </p>	

## Lampiran H. Surat Hasil Uji Kandungan Tanaman Daun Ungu



UNIVERSITAS JEMBER  
 UPT LABORATORIUM TERPADU & SENTRA INOVASI TEKNOLOGI- CDAST  
 LABORATORIUM LAYANAN  
 Jl. Kalimantan No. 37, Kampus Tegalboto Jember, 68121 Telp./Fax.: +62-331-321825  
 Web: cdast.unej.ac.id; Email: cdast@unej.ac.id

**HASIL PENGUJIAN**

No	Kode Pelanggan	Metode dan Parameter Uji	Hasil Uji	Satuan
1	Daun Ungu	Spektrofotometer UV-Vis (Flavonoid)	54,043	(mg/g)
2	Daun Ungu	Spektrofotometer UV-Vis (Tanin)	12,171	(mg/g)
3	Daun Ungu	Spektrofotometer UV-Vis (Fenolik)	13,535	(mg/g)
4	Daun Ungu	Spektrofotometer UV-Vis (Alkaloid)	65,480	(mg/g)

Mengetahui,  
 Jember, 4 November 2019  
 Kepala UPT Laboratorium Terpadu dan  
 Sentra Inovasi Teknologi (C-DAST)



Prof. Bambang Sugiharto  
 NIP. 195510221982121001

Kepala Laboratorium Layanan

Tri Handoyo, Ph.D.  
 NIP. 197112021998021001

Lampiran I. Alat dan Bahan Penelitian

I. 1 Alat Penelitian

				
Syringe	Dental chair hewan coba	Blender	Tissue processing	Microtom
				
Water bath	Slide warmer	Pipet dan corong		Staining jar
				
Kamera Obtilab	Mikroskop cahaya			

I. 2 Bahan Penelitian

		
<p>Daun Ungu</p>	<p><i>P. gingivalis</i></p>	<p>Alkohol 97%(1,2), 95%(1,2), 80%</p>
		
<p>Akuades</p>	<p>Xylo 1, xylo 2, entellan</p>	
		
<p>Sekam</p>	<p>Pakan tikus</p>	<p>Asam formiat dan Buffer Formalin</p>

## Lampiran J. Dokumentasi Penelitian

## J. 1 Pembuatan Ekstrak Daun Ungu

<b>Gambar</b>	<b>Keterangan</b>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- Tanaman Daun ungu yang masih segar dipetik dan diambil sekitar 700 gram lalu dicuci hingga bersih</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- Tanaman Daun ungu yang telah dikeringkan</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- Tanaman Daun ungu yang dihaluskan dengan blender sehingga menjadi simplisia</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- Simplisia ditimbang dan diambil sekitar 40gram</li></ul>

	<ul style="list-style-type: none"><li>- Simplisia direndam pada tabung <i>erlenmayer</i> dengan pelarut etanol 96% selama 3 hari</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- Dilakukan pengadukan rendaman menggunakan shaker selama 3 hari (3x24 jam) dengan kecepatan 200 rpm non stop</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- Dilakukan penyaringan dengan vacuum buchner hingga menjadi ekstrak cair</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- Ekstrak cair diuapkan dengan tekanan 50 mbarr, kecepatan 50 rpm, 50°C sampai terbebas dari pelarut etanol menggunakan vakum evaporator</li></ul>

	<ul style="list-style-type: none"><li>- Hasil ekstrak yang menjadi kental dengan konsentrasi 100% sebanyak 29,41 gram</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- Ekstrak diencerkan menggunakan aquades agar menjadi ekstrak daun ungu dengan konsentrasi 2,5%, 5% dan 10%</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- Hasil Ekstrak daun ungu yang telah diencerkan</li></ul>

J. 2 Perlakuan induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Gambar	Keterangan
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tikus wistar jantan diletakkan kedalam kandang</li> <li>- Diadaptasi selama 7 hari</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Suspensi bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i></li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Suspensi bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> dimasukkan ke dalam <i>Tuberculine syringe</i> 1 cc</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tikus wistar diinduksi bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> pada sulkus gingiva molar kiri rahang bawah bagian bukal sebanyak 0,05 ml pada alat fiksasi (dental chair hewan coba)</li> </ul>

## J. 3 Pembuatan preparat jaringan

Gambar	Keterangan
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tikus Wistar jantan sebelumnya dianestesi dengan ketamin</li> <li>- Tikus Wistar dilakukan pemotongan jaringan pada regio kiri rahang bawah mulai dari gigi insisiv 1 sampai molar 2</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Jaringan direndam menggunakan buffer formalin selama 24 jam</li> <li>- Jaringan direndam menggunakan asam format sampai jaringan lunak</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pinggir cetakan paraffin dilumuri bahan separator agar paraffin mudah dilepaskan setelah keras</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cetakan diisi paraffin lalu dimasukkan jaringan yang telah terpotong dan didekalsifikasi menggunakan asam format 10% yang dilakukan kurang lebih selama 10-14 hari</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"><li>- Cetakan yang berisi paraffin dan jaringan dimasukkan ke dalam kulkas sampai wax keras</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- Paraffin yang telah keras dipotong menyesuaikan ukuran jaringan lalu ditempelkan di papan kayu dan diberi label</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- Dilakukan pemotongan blok paraffin menggunakan mikrotom dengan ketebalan 6-10 mikron</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- Hasil pemotongan dipindahkan ke dalam <i>waterbath</i> menggunakan pinset kecil agar sayatan dapat diletakkan dengan pada <i>object glass</i></li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>- Sayatan dipilih dengan baik dan dipindahkan ke <i>object glass</i> dan diberi label</li><li>- Setelah itu disimpan pada slide warmer</li></ul>

## Lampiran K. Data Hasil Jumlah Sel Osteoblas

Kelompok	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			RATA-RATA	
	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
K1 2,5%	3	5	4	5	7	4	4	6	4	14	11,78
K2 2,5%	7	8	5	7	6	4	4	5	10	18,67	
K3 2,5%	2	2	0	4	5	6	1	3	2	8,33	
K4 2,5%	2	2	1	6	7	5	4	3	3	11	
K5 2,5%	2	1	2	1	2	2	3	5	1	6,33	
K6 2,5%	7	2	2	9	4	5	2	3	3	12,33	
K1 5%	5	4	4	8	3	6	10	5	6	17	15,50
K2 5%	4	4	5	10	8	6	8	8	10	21	
K3 5%	0	4	1	6	13	8	6	7	9	18	
K4 5%	2	2	3	6	6	7	3	3	5	12,33	
K5 5%	6	5	2	6	7	6	4	4	2	14	
K6 5%	2	5	0	5	4	5	4	4	3	10,67	
K1 10%	7	5	4	6	6	6	9	8	8	19,67	16,17
K2 10%	5	7	4	6	8	9	6	9	6	20	
K3 10%	5	10	5	6	9	6	5	8	8	20,67	
K4 10%	4	4	7	6	9	8	4	4	5	17	
K5 10%	3	4	3	2	4	6	1	4	2	9,67	
K6 10%	3	3	4	3	4	4	3	4	2	10	
K1 (-)	2	4	1	5	2	3	4	5	5	10,33	7,39
K2 (-)	3	2	2	4	3	3	3	3	4	9	
K3 (-)	2	3	1	6	4	6	4	4	3	11	
K4 (-)	2	1	3	5	3	4	3	4	2	9	
K5 (-)	0	5	0	4	3	2	0	1	0	5	
K6 (-)											
K1 N	7	6	2	11	8	6	9	6	3	19,33	16,83
K2 N	4	2	1	5	3	4	6	8	10	14,33	
K3 N	3	3	5	3	4	7	4	6	9	14,67	
K4 N	8	5	3	10	6	4	7	8	6	19	
K5 N	9	4	3	8	6	6	4	5	7	17,33	
K6 N	5	8	3	4	8	6	3	4	8	16,33	

## Lampiran K. Analisis Data

## K. 1. Uji Normalitas

**Tests of Normality**

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Rata-rata E2,5%	,138	6	,200*	,980	6	,950
jumlah osteoblas E5%	,151	6	,200*	,971	6	,899
E10%	,255	6	,200*	,798	6	,057
K-	,317	6	,060	,842	6	,136
KN	,181	6	,200*	,913	6	,453

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

## K. 2. Uji Homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances****Rata-rata jumlah osteoblas**

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,250	4	25	,316

## K. 3. Uji One Way Anova

**ANOVA****Rata-rata jumlah osteoblas**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	375,221	4	93,805	5,762	,002
Within Groups	407,029	25	16,281		
Total	782,251	29			

## K. 4. Uji Post Hoc Least Significant Difference (LSD)

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: rata-rata jumlah osteoblas

LSD

(I) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
				Lower Bound	Upper Bound	
E2,5%	E5%	-3,72333	2,32960	,123	-8,5212	1,0746
	E10%	-4,39167	2,32960	,071	-9,1896	,4062
	K-	4,38833	2,32960	,071	-,4096	9,1862
	KN	-5,05500*	2,32960	,040	-9,8529	-,2571
E5%	E2,5%	3,72333	2,32960	,123	-1,0746	8,5212
	E10%	-,66833	2,32960	,777	-5,4662	4,1296
	K-	8,11167*	2,32960	,002	3,3138	12,9096
	KN	-1,33167	2,32960	,573	-6,1296	3,4662
E10%	E2,5%	4,39167	2,32960	,071	-,4062	9,1896
	E5%	,66833	2,32960	,777	-4,1296	5,4662
	K-	8,78000*	2,32960	,001	3,9821	13,5779
	KN	-,66333	2,32960	,778	-5,4612	4,1346
K-	E2,5%	-4,38833	2,32960	,071	-9,1862	,4096
	E5%	-8,11167*	2,32960	,002	-12,9096	-3,3138
	E10%	-8,78000*	2,32960	,001	-13,5779	-3,9821
	KN	-9,44333*	2,32960	,000	-14,2412	-4,6454
KN	E2,5%	5,05500*	2,32960	,040	,2571	9,8529
	E5%	1,33167	2,32960	,573	-3,4662	6,1296
	E10%	,66333	2,32960	,778	-4,1346	5,4612
	K-	9,44333*	2,32960	,000	4,6454	14,2412

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

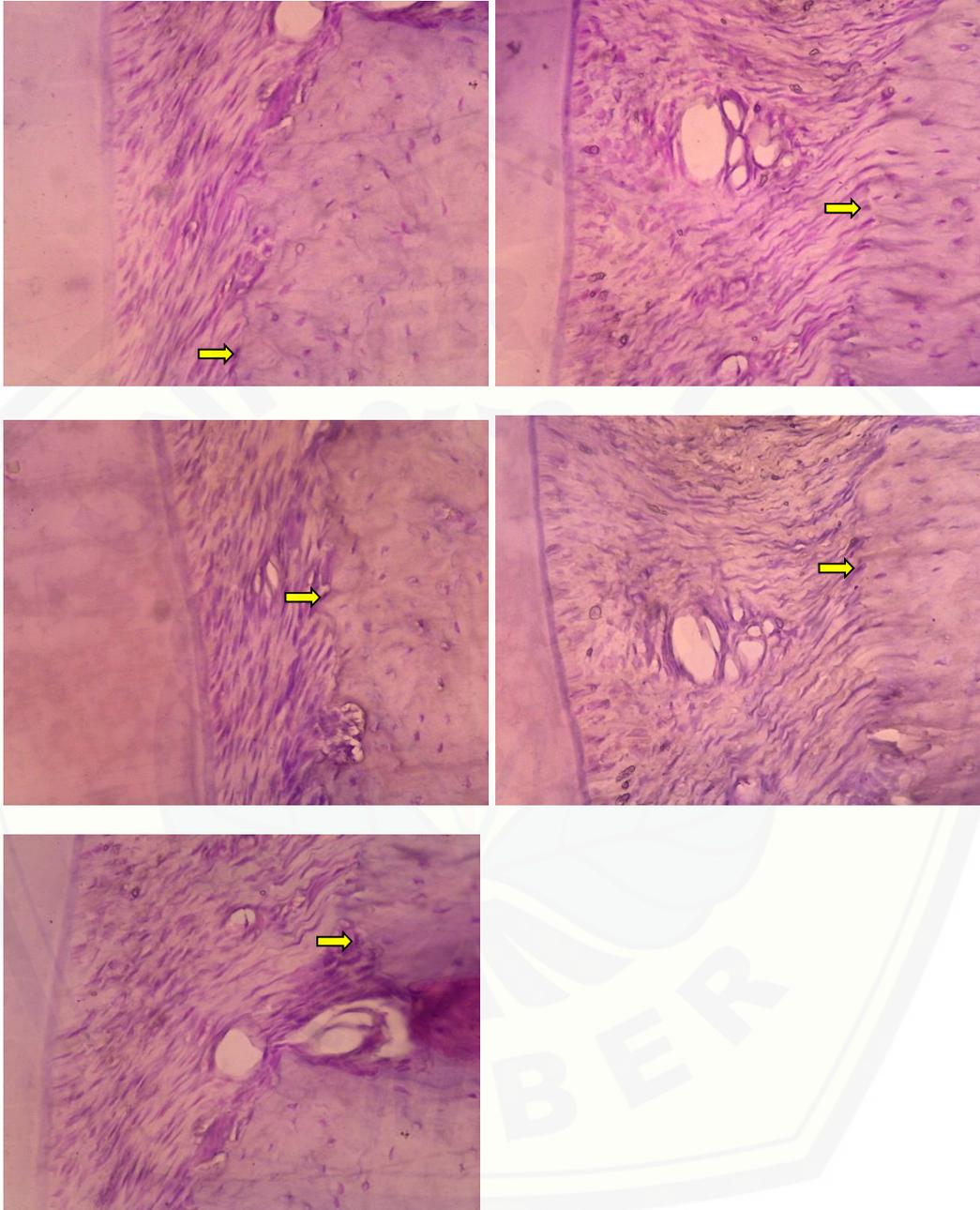
## Lampiran L. Tabel Konversi Perhitungan Dosis

(Laurence &amp; Bacharach, 1964)

	Mencit 20 gr	Tikus 200 gr	Marmot 400 gr	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 gr	1.0	7.0	12.25	27.8	29.7	64.1	124.2	387.9
Tikus 200 gr	0.14	1.0	1.74	3.9	4.2	9.2	17.8	56.0
Marmot 400 gr	0.08	0.57	1.0	2.25	2.4	5.2	10.2	31.5
Kelinci 1,5 kg	0.04	0.25	0.44	1.0	1.08	2.4	4.5	14.2
Kucing 2 kg	0.03	0.23	0.41	0.92	1.0	2.2	4.1	13.0
Kera 4 kg	0.016	0.11	0.19	0.42	0.45	1.0	1.9	6.1
Anjing 12 kg	0.008	0.06	0.1	0.22	0.24	0.52	1.0	3.1
Manusia 70 kg	0.0026	0.018	0.031	0.07	0.076	0.16	0.32	1.0

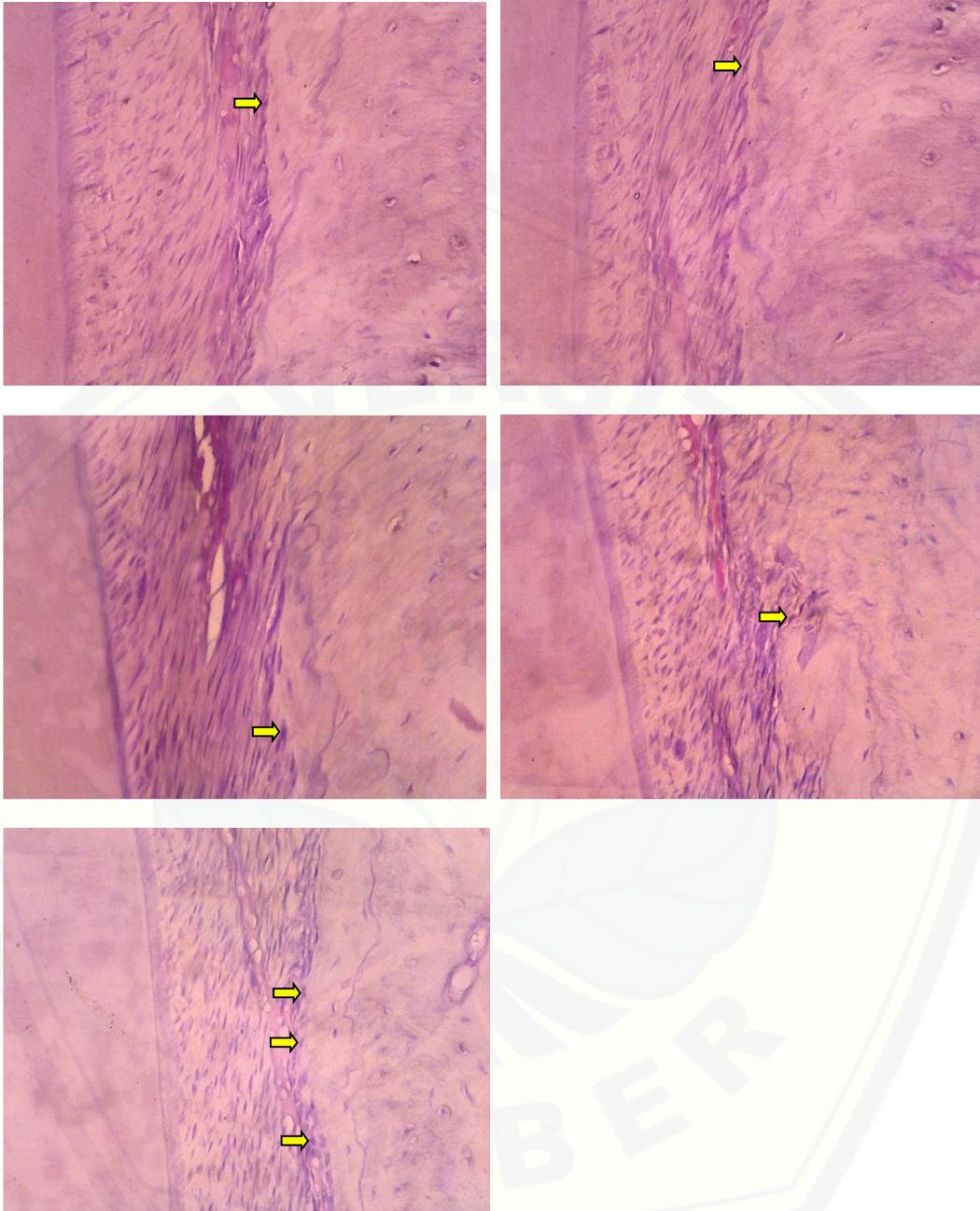
Lampiran M. Gambar Histologi Preparat Jaringan Perbesaran 400x

M.1. Kelompok kontrol



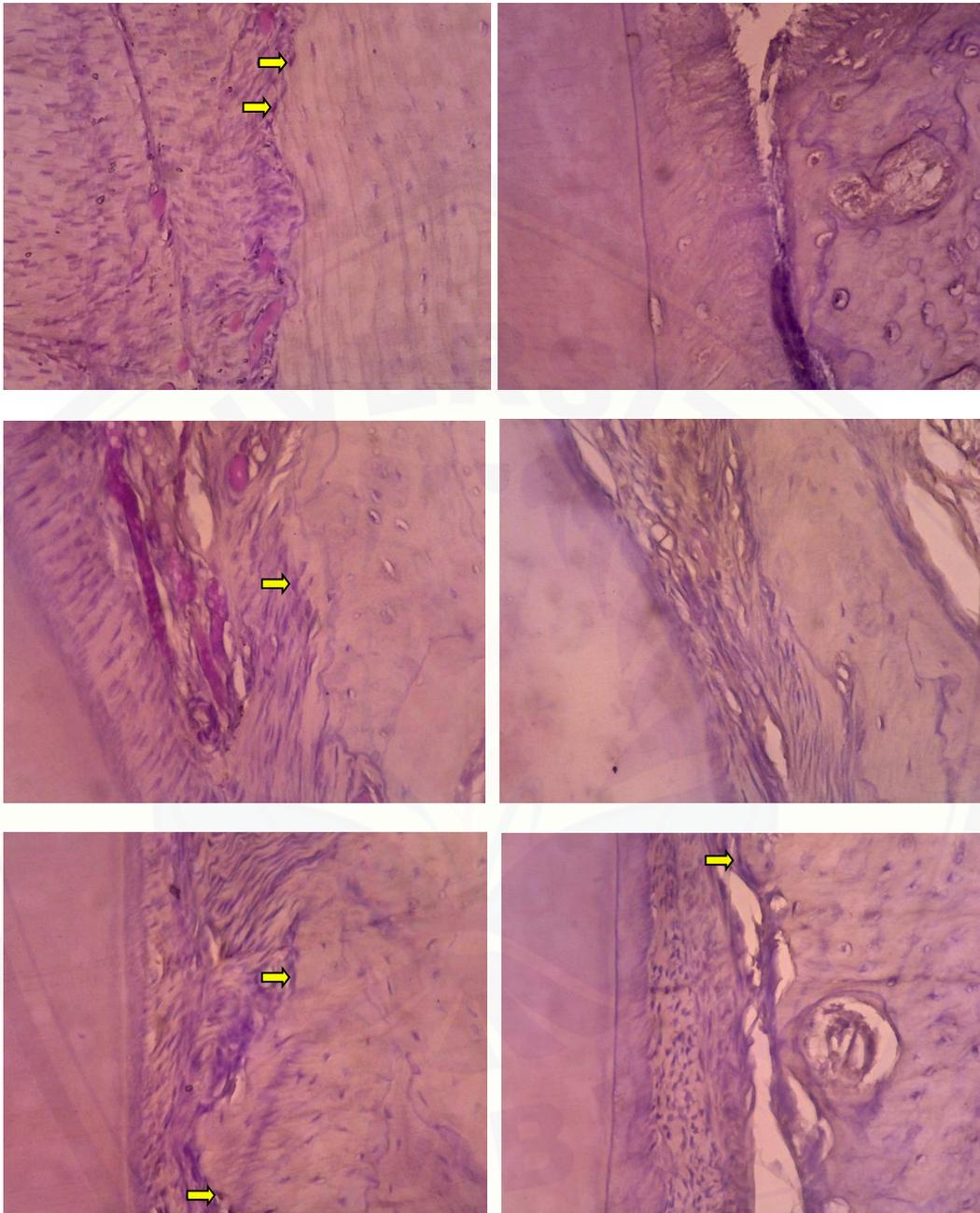
Keterangan: panah kuning menunjukkan sel osteoblas

M.2. Kelompok kontrol negatif



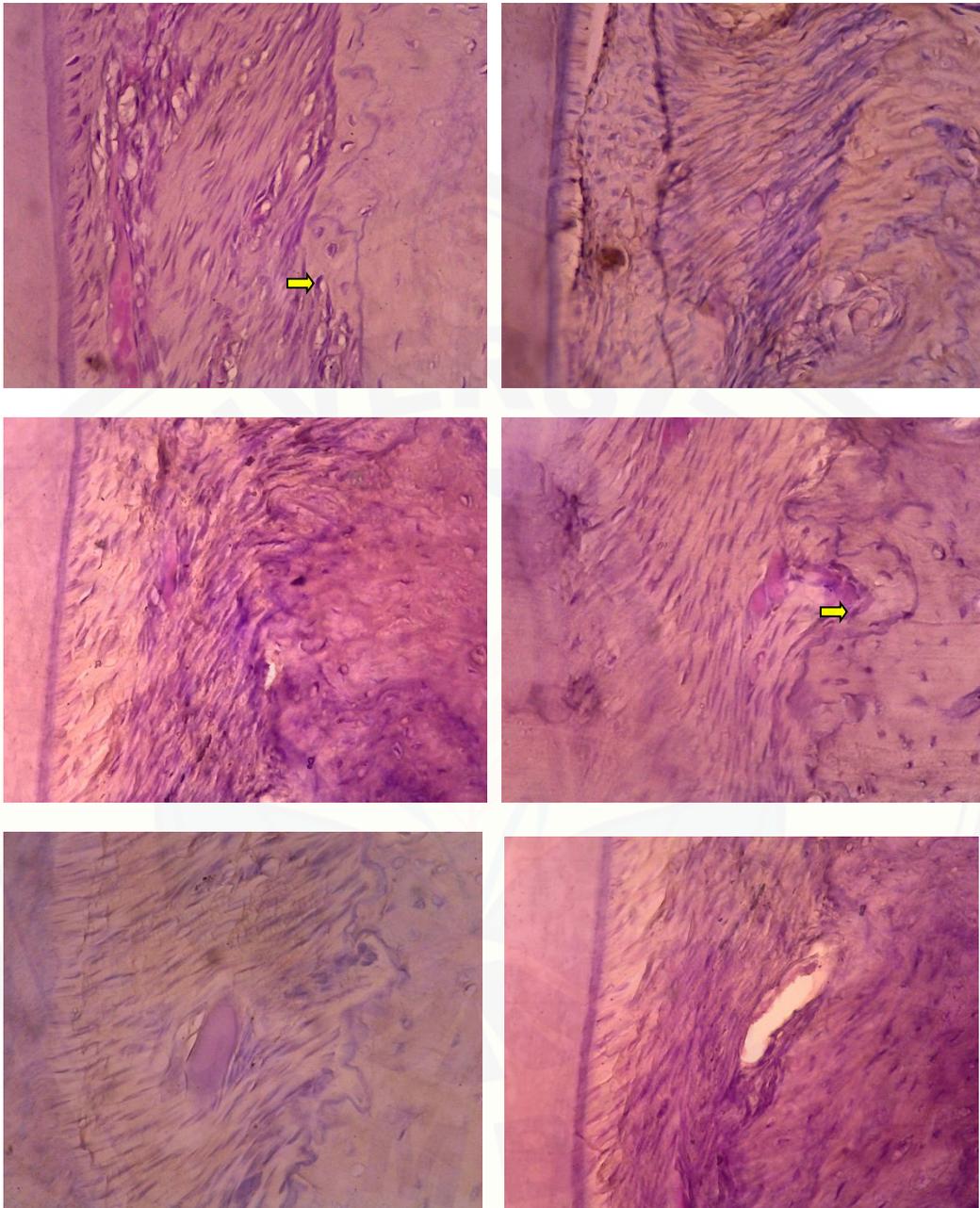
Keterangan: panah kuning menunjukkan sel osteoblas

M.3. Kelompok perlakuan ekstrak daun ungu 2,5%

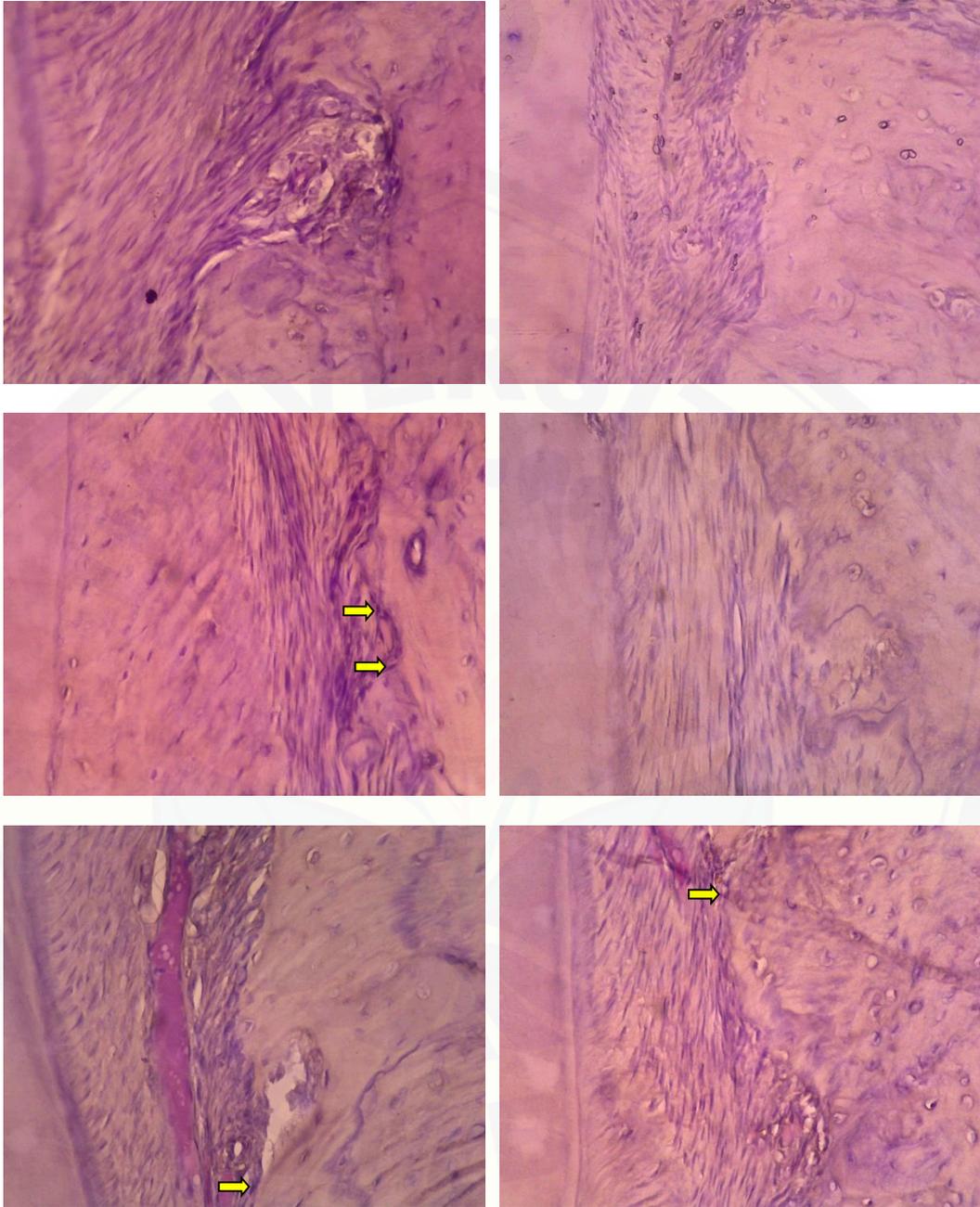


Keterangan: panah kuning menunjukkan sel osteoblas

M.4. Kelompok perlakuan ekstrak daun ungu 5%



## M.5. Kelompok perlakuan ekstrak daun ungu 10%



Keterangan: panah kuning menunjukkan sel osteoblas