



**PENGARUH GEL EKSTRAK DAUN KENITU (*Chrysophyllum
cainito L.*) TERHADAP KEPADATAN KOLAGEN PADA
PENYEMBUHAN LUKA BAKAR MUKOSA BUKAL
TIKUS WISTAR**

SKRIPSI

Oleh:

Innanisa Nur Azmi Hanafi

NIM 161610101070

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2020



**PENGARUH GEL EKSTRAK DAUN KENITU (*Chrysophyllum
cainito L.*) TERHADAP KEPADATAN KOLAGEN PADA
PENYEMBUHAN LUKA BAKAR MUKOSA BUKAL
TIKUS WISTAR**

SKRIPSI

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

Oleh:

Innanisa Nur Azmi Hanafi

NIM 161610101070

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

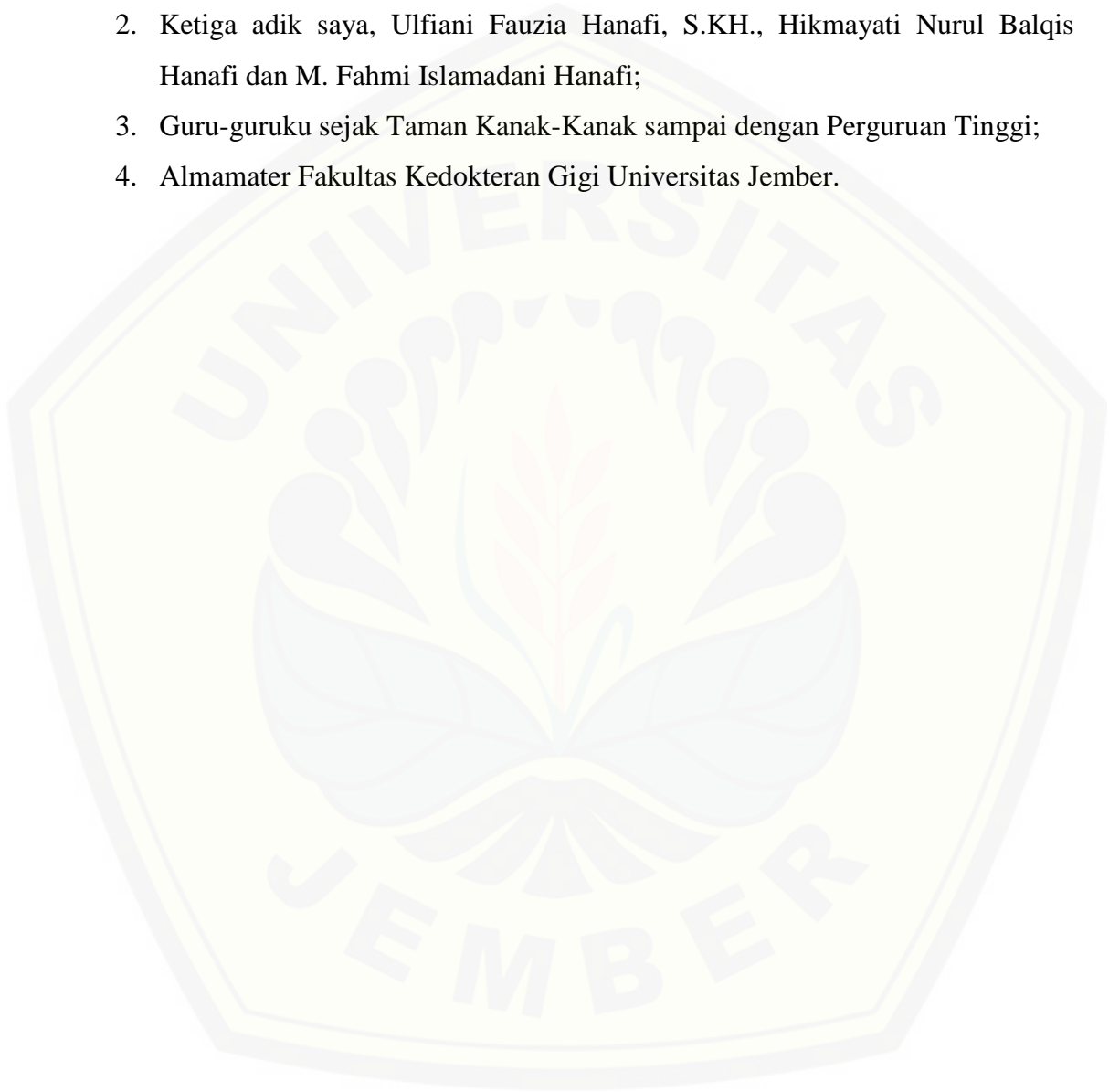
UNIVERSITAS JEMBER

2020

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua saya, Ayah Imam Hanafi, S.T dan Ibu Asri Murdini, S.T ;
2. Ketiga adik saya, Ulfiani Fauzia Hanafi, S.KH., Hikmayati Nurul Balqis Hanafi dan M. Fahmi Islamadani Hanafi;
3. Guru-guruku sejak Taman Kanak-Kanak sampai dengan Perguruan Tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

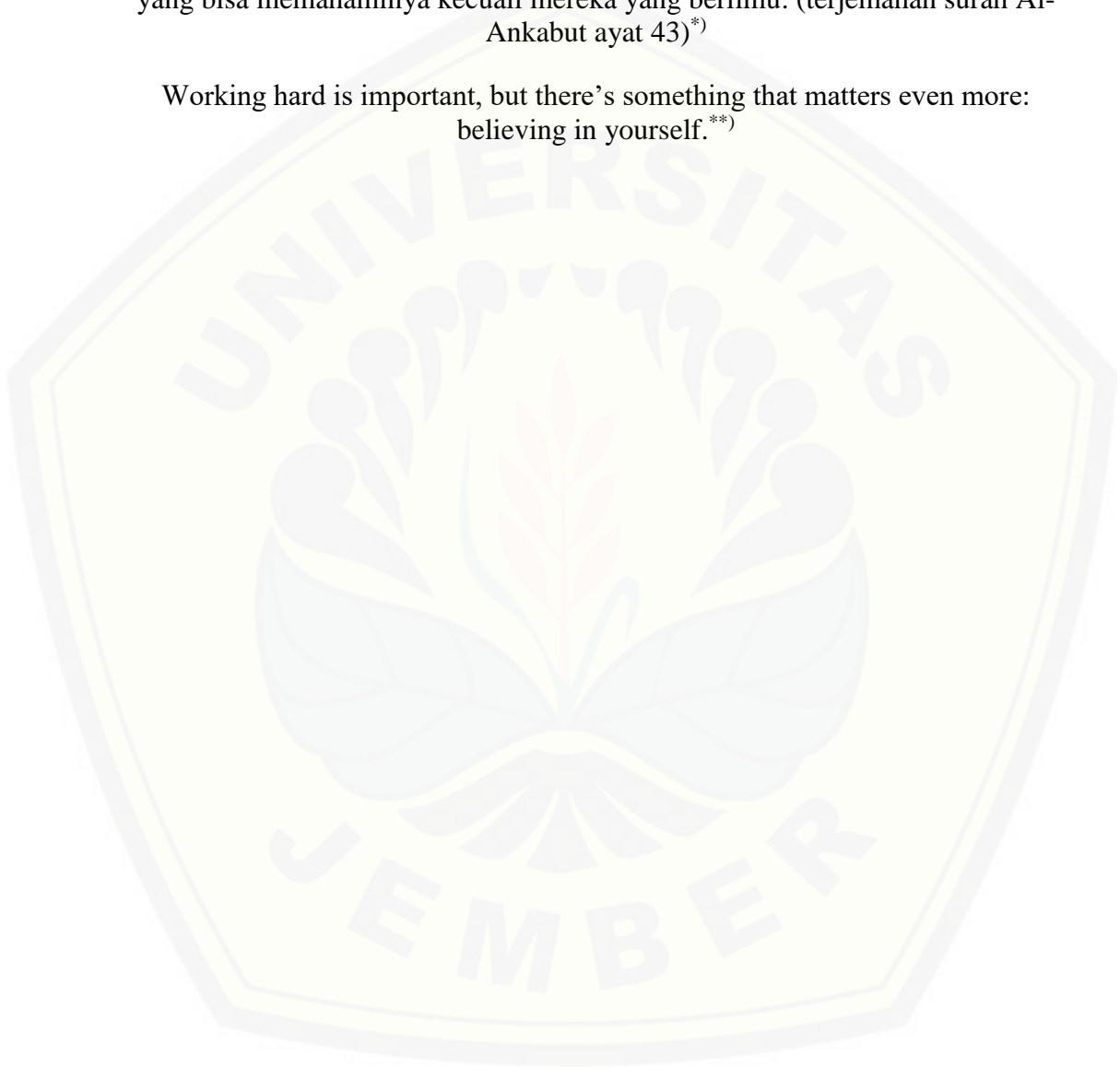


MOTO

وَتِلْكَ الْأَمْثَلُ نَضْرِبُهَا لِلنَّاسِ وَمَا يَعْقِلُهَا إِلَّا الْعَالِمُونَ

Dan perumpamaan-perumpamaan ini Kami buat untuk manusia. Dan tidak ada yang bisa memahaminya kecuali mereka yang berilmu. (terjemahan surah Al-Ankabut ayat 43)^{*)}

Working hard is important, but there's something that matters even more: believing in yourself.^{**)}



* Departemen Agama Republik Indonesia. 2009. *Al Qur'an Al-Karim*. Bandung: CV Penerbit Diponegoro.

** Rowling, J.K. 2003. *Harry Potter and The Order of The Phoenix*. London: Bloomsbury Publishing.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Innanisa Nur Azmi Hanafi

NIM : 161610101070

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Pengaruh Gel Ekstrak Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) terhadap Kepadatan Kolagen pada Penyembuhan Luka Bakar Mukosa Bukal Tikus Wistar" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 16 Juli 2020

Yang menyatakan,

Innanisa Nur Azmi Hanafi

NIM 161610101070

SKRIPSI

**PENGARUH GEL EKSTRAK DAUN KENITU (*Chrysophyllum
cainito L.*) TERHADAP KEPADATAN KOLAGEN PADA
PENYEMBUHAN LUKA BAKAR MUKOSA BUKAL
TIKUS WISTAR**

Oleh:

Innanisa Nur Azmi Hanafi

NIM 1610101070

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Winny Adriatmoko M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Muhammad Nurul Amin M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Gel Ekstrak Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) terhadap Kepadatan Kolagen pada Penyembuhan Luka Bakar Mukosa Bukal Tikus Wistar” karya Innanisa Nur Azmi Hanafi telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 16 Juli 2020

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

drg. Winny Adriatmoko, M.Kes.

NIP. 195610121984031002

drg. Muhammad Nurul Amin, M.Kes

NIP. 197702042002121002

Dosen Penguji Utama

Dosen Penguji Pendamping

drg. Izzata Barid, M.Kes

NIP. 196805171997022001

drg. Zainul Cholid, Sp.BM

NIP. 197105141998021001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost

NIP. 196901121999601001

RINGKASAN

Pengaruh Gel Ekstrak Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) terhadap Kepadatan Kolagen pada Penyembuhan Luka Bakar Mukosa Bukal Tikus Wistar; Innanisa Nur Azmi Hanafi, 161610101070; 2020: 71 Halaman; Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

Luka pada mukosa mulut sering ditemui dalam praktik kedokteran gigi, salah satunya adalah luka bakar. Luka bakar pada mukosa mulut dapat mengganggu fungsi normal mulut pasien dan menimbulkan rasa sakit ketika makan, mengunyah dan berbicara. Beberapa luka bakar disebabkan oleh trauma iatrogenic selama prosedur perawatan gigi dan rongga mulut. Daun Kenitu berpengaruh dalam proses penyembuhan luka terutama pembentukan kolagen pada tahap proliferasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh dari ekstrak daun Kenitu terhadap kepadatan kolagen pada proses penyembuhan luka bakar mukosa bukal tikus Wistar.

Penelitian ini menggunakan eksperimen laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*, yaitu dengan membandingkan rata-rata persentase kepadatan kolagen antara empat kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok terdiri dari empat sampel yang telah dilakukan pembuatan luka bakar pada mukosa bukal kiri menggunakan *amalgam stopper* diameter 2 mm yang telah dipanaskan. Kelompok kontrol diberi gel Placebo, sedangkan kelompok perlakuan diberi gel ekstrak daun Kenitu 2%. Eutanasia dilakukan 12 jam setelah pemberian gel pada hari ke-4, ke-7, ke-10 dan ke-13. Jaringan luka bakar mukosa bukal kiri tikus diambil untuk dibuat menjadi preparat jaringan dan dilakukan pewarnaan menggunakan *Trichrome Masson*. Pengamatan kepadatan kolagen dilakukan dengan mengambil gambar menggunakan kamera *Optilab Advance Plus* pada 3 lapang pandang. Pengolahan gambar dilakukan menggunakan aplikasi *ImageJ 1.5.2t* untuk mendapatkan nilai rata-rata persentase kepadatan kolagen pada tiap kelompok. Selanjutnya, dilakukan analisis data menggunakan program SPSS.

Hasil pengamatan menunjukkan pada kelompok perlakuan yang diberi gel ekstrak daun Kenitu memiliki persentase kepadatan kolagen yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol yang diberi gel placebo. Hasil uji *LSD* menunjukkan kelompok kontrol dan perlakuan hari ke-7 dan ke-13 memiliki perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$), sedangkan pada kelompok kontrol dan perlakuan hari ke-4 dan ke-10 memiliki perbedaan yang tidak signifikan ($P > 0,05$). Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian gel ekstrak daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) berpengaruh dalam meningkatkan kepadatan kolagen pada penyembuhan luka bakar mukosa bukal tikus Wistar.

PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT atas segala berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Gel Ekstrak Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) terhadap Kepadatan Kolagen pada Penyembuhan Luka Bakar Mukosa Bukal Tikus Wistar”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Kedua orang tua saya, Ayah Imam Hanafi, S.T dan Ibu Asri Murdini, S.T atas dukungan, kerja keras dan curahan kasih sayang;
2. Ketiga adik saya, Ulfiani Fauzia Hanafi, S.KH., Hikmayati Nurul Balqis Hanafi dan M. Fahmi Islamadani Hanafi yang selalu memberikan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini;
3. drg. Winny Adriatmoko, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Muhammad Nurul Amin, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Pendamping;
4. drg. Izzata Barid, M.Kes selaku Dosen Penguji Utama dan drg. Zainul Cholid, Sp.BM selaku Dosen Penguji Pendamping;
5. drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik;
6. Teman penelitian saya, Septiana. Terima kasih atas kerja sama dan semangat selama ini;
7. Nimas, Alfian, Amalia, Hasna, Nagara, Astrid, Pintan dan Favinas yang memberikan dukungan selama penelitian ini;
8. Seluruh teman-teman satu kelompok Tutorial dari semester satu hingga tujuh yang telah membantu saya melewati kehidupan perkuliahan di FKG;
9. Sahabat-sahabatku Shafira, Diah, Dandy, Ilham dan Usama yang selalu memberikan dukungan, menghibur dan menemani selama ini;

10. Sahabat-sahabatku mbak Cesha, Lukas dan Okta yang menemani, memberikan motivasi dan semangat selama tinggal di Jember;
11. Seluruh teman-teman seperjuangan FKG angkatan 2016. Terima kasih atas kerjasama dan kebersamaan selama ini;
12. Pihak-pihak lain yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini. Pak Agus, ibu Wahyu dan ibu Nur selaku staf Laboratorium Biomedik FKG Universitas Jember, pak Ujang selaku staf Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember, analis Laboratorium Analisis Terpadu FTP Universitas Jember dan analis Laboratorium Farmasetikan Fakultas Farmasi Universitas Jember.
13. Semua pihak yang telah membantu kegiatan penelitian secara langsung maupun tidak langsung hingga tersusunnya skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca semua.

Jember, 16 Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN.....	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Mukosa Mulut.....	5
2.2 Luka.....	7
2.3 Luka Bakar Mukosa Rongga Mulut.....	9
2.4 Penyembuhan Luka	10
2.5 Kolagen.....	12

2.4.1	Pengertian Kolagen	12
2.4.2	Struktur dan Macam Kolagen	12
2.6	Daun Kenitu	14
2.5.1	Deskripsi Umum Kenitu.....	14
2.5.2	Morfologi Tanaman Kenitu.....	15
2.5.3	Kandungan Kimia dan Khasiat Daun Kenitu.....	15
2.7	Kerangka Konseptual	17
2.8	Hipotesis	18
BAB 3.	METODOLOGI PENELITIAN	19
3.1	Jenis Penelitian	19
3.2	Rancangan Penelitian.....	19
3.3	Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.3.1.	Tempat Penelitian.....	20
3.3.2.	Waktu Penelitian	20
3.4	Variabel Penelitian	20
3.4.1	Variabel Bebas	20
3.4.2	Variabel Terikat.....	20
3.4.3	Variabel Terkendali.....	20
3.5	Definisi Operasional Penelitian	21
3.5.1	Daun Kenitu	21
3.5.2	Luka bakar pada Mukosa Bukal Tikus Wistar	22
3.5.3	Kepadatan Serabut Kolagen	23
3.5.4	Waktu pengorbanan hewan coba.....	23
3.6	Sampel Penelitian	24
3.6.1	Besar Sampel.....	24
3.6.2	Kriteria Sampel	24

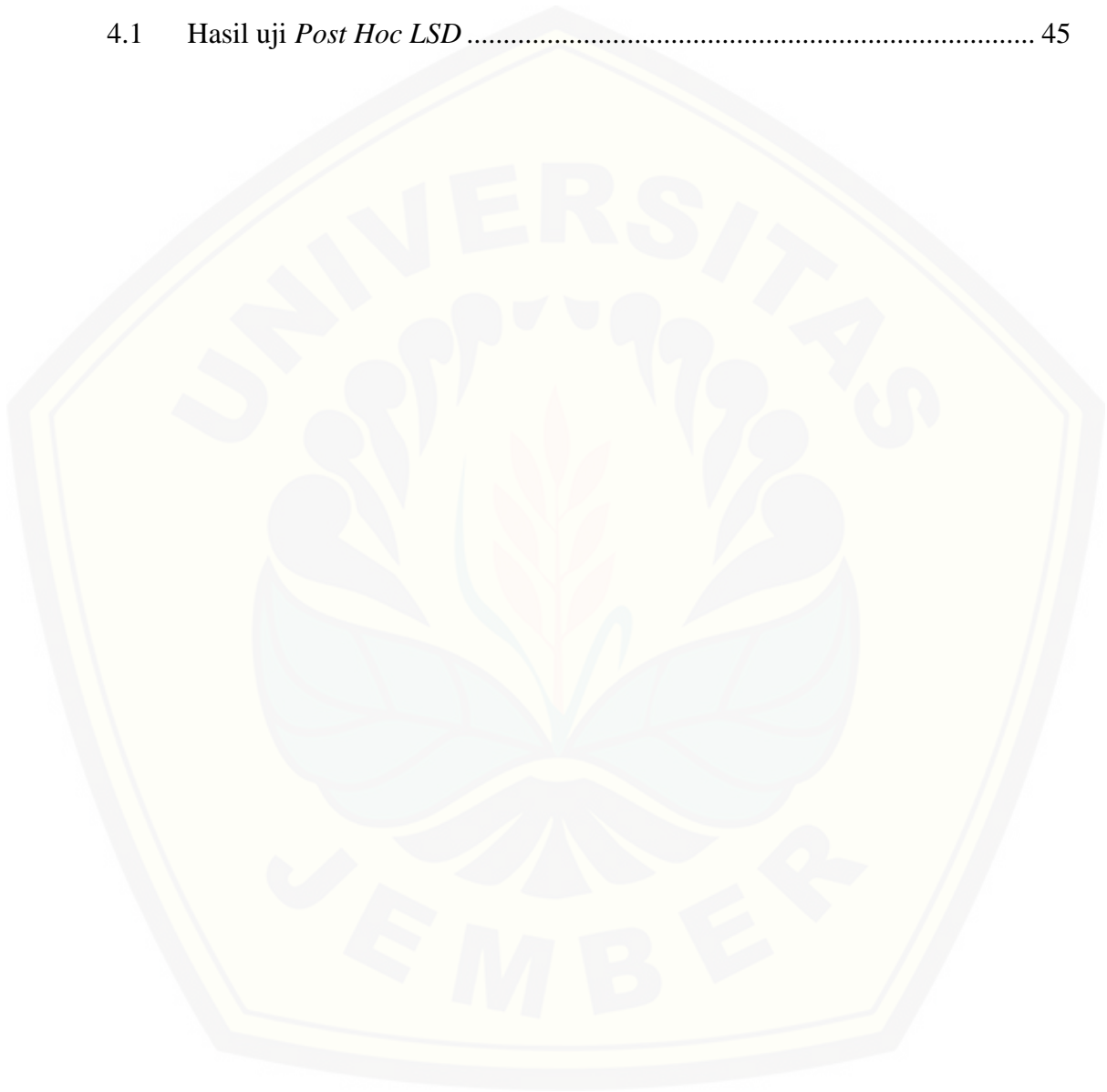
3.6.3	Pengelompokan Sampel Penelitian	24
3.7	Alat dan Bahan Penelitian	26
3.7.1	Alat	26
3.7.2	Bahan	28
3.8	Penghitungan Dosis dan Konsentrasi	29
3.8.1	Dosis obat anastesi	29
3.8.2	Konsentrasi Gel Ekstrak daun Kenitu	30
3.9	Prosedur Penelitian	30
3.9.1	Persiapan	30
3.9.2	Perlakuan Hewan Coba	33
3.9.3	Aplikasi Gel Ekstrak Daun Kenitu 2%	35
3.9.4	Eutanasia Hewan Coba	35
3.9.5	Tahap Pembuatan Sediaan	36
3.9.6	Tahap Pewarnaan <i>Trichrome Masson</i>	37
3.9.7	Tahap Pengamatan dan Perhitungan Kepadatan Kolagen	37
3.9.8	Tahap Penggunaan Aplikasi <i>ImageJ 1.52t</i>	38
3.10	Analisis Data	39
3.11	Alur Penelitian	41
BAB 4.	Hasil dan pembahasan	42
4.1	Hasil Penelitian	42
4.2	Analisis Data	44
4.3	Pembahasan	45
BAB 5.	Kesimpulan dan Saran	50
5.1	Kesimpulan	50
5.2	Saran	50

DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	59



DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Pengelompokan Sampel Penelitian	25
4.1 Hasil uji <i>Post Hoc</i> LSD	45

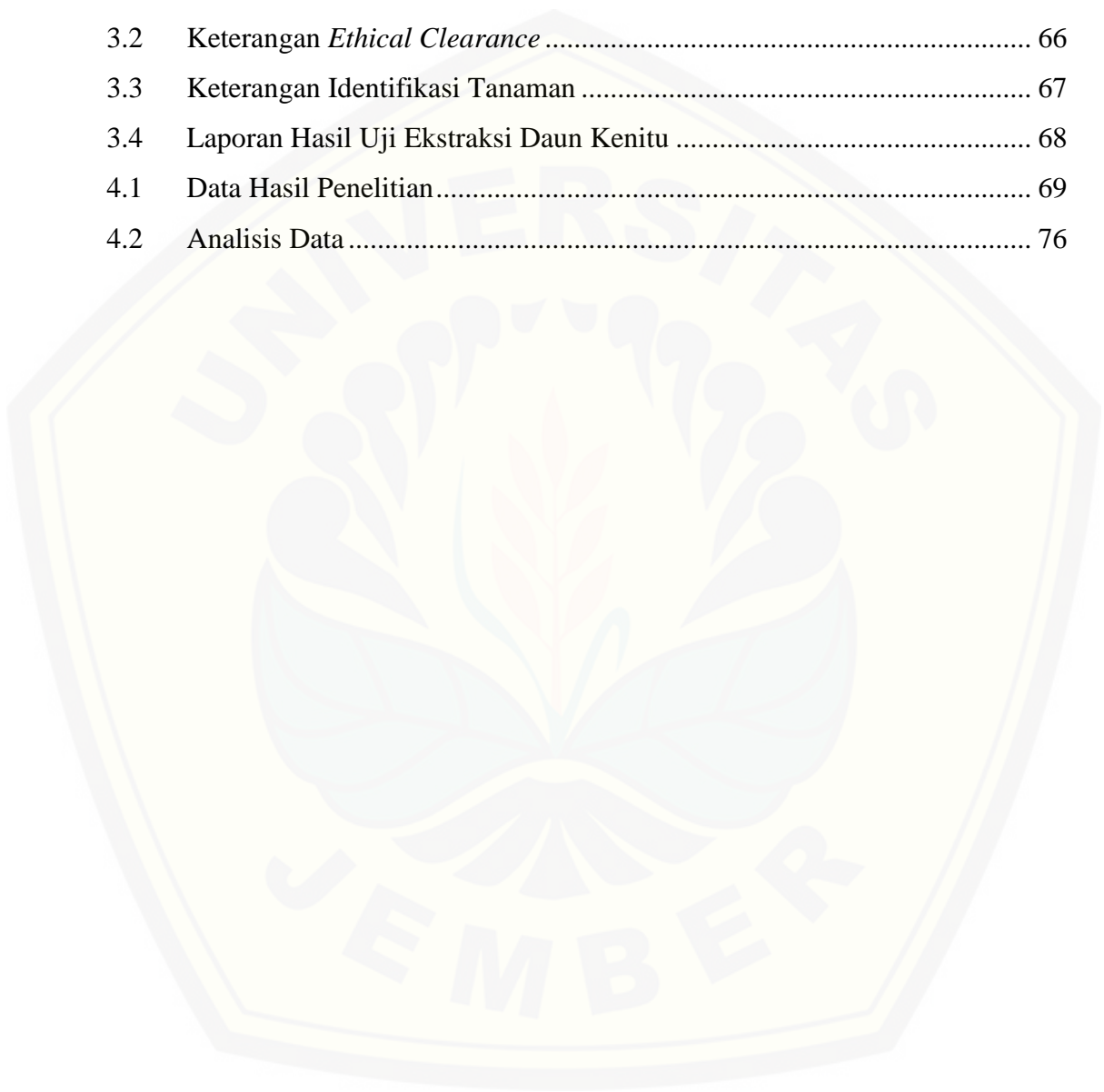


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur histologi mukosa mulut.....	6
2.2 Lapisan epitel skuamosa bertingkat pada mukosa mulut.....	6
2.3 Proses penyembuhan luka pada tahap inflamasi	10
2.4 Proses penyembuhan luka pada tahap proliferasi	11
2.5 Proses penyembuhan luka pada tahap maturasi	12
2.6 Kerangka konseptual	17
3.1 Skema rancangan penelitian.....	19
3.2 Daun Kenitu	21
3.3 Luka bakar mukosa bukal tikus wistar.....	22
3.4 Luka bakar mukosa bukal tikus wistar setelah terdeskuamasi.....	22
3.5 Gambaran histologi jaringan mukosa bukal tikus wistar sebelum diolah menggunakan aplikasi <i>ImageJ</i>	23
3.6 Alur Penelitian	41
4.1 Hasil pengambilan gambar histologi menggunakan kamera <i>optilab advance plus</i>	42
4.2 Penetapan nilai konstan threshold pada kanal biru	43
4.3 Diagram rata-rata persentase kepadatan kolagen mukosa bukal tikus Wistar jantan yang diberi perlakuan dengan gel placebo (kontrol) dan gel ekstrak daun Kenitu 2% (perlakuan)	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Dokumentasi Alat dan Bahan	59
3.2 Keterangan <i>Ethical Clearance</i>	66
3.3 Keterangan Identifikasi Tanaman	67
3.4 Laporan Hasil Uji Ekstraksi Daun Kenitu	68
4.1 Data Hasil Penelitian.....	69
4.2 Analisis Data	76



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka adalah hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh (Sjamsuhidajat, R & Wim, 2004). Luka pada rongga mulut salah satunya disebabkan oleh cedera termal (Mortazavi dkk., 2016). Luka akibat cedera termal disebabkan oleh makanan dan minuman panas yang dikonsumsi dan cedera akibat ketidaksengajaan dokter gigi (trauma iatrogenik) seperti penggunaan bahan cetak termoplastik dan kontak antara mukosa rongga mulut dengan instrumen dental yang panas (Najm, 2013).

Luka bakar pada rongga mulut memiliki prevalensi 24%, diantaranya pasien anak-anak dan dewasa muda (Koray dan Tosun, 2019). 77,3% dari keseluruhan kasus yang terjadi terdapat pada mukosa bukal (Cowan dkk., 2013). Luka bakar muncul dalam bentuk jaringan nekrotik yang dapat mengelupas dan dikelilingi oleh eritema (Anura, 2014).

Terapi luka bakar pada mukosa rongga mulut yang umumnya digunakan secara topikal yaitu irigasi menggunakan saline, antibiotik (Koray dan Tosun, 2019), analgesik lokal, glukokortikoid topikal (Gupta dkk., 2018), antiseptik dalam obat kumur (Sunarjo dkk., 2015), dan asam hialuronat (Wulandari dkk., 2015). Glukokortikoid dapat mengurangi reaksi radang. Obat kumur yang mengandung *chlorhexidine gluconate* 0,2% atau *benzydamin hydrochloride*, *dyclonine* dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Sunarjo dkk., 2015). Asam hialuronat dapat mempercepat proses penyembuhan luka dengan mempengaruhi proses migrasi dan mitosis dari fibroblas serta epitel, namun penggunaannya dapat merangsang reaksi alergi dan harganya relatif mahal (Wulandari dkk., 2015).

Lesi akibat cedera termal umumnya dapat sembuh dengan sendirinya, namun dengan pemberian terapi dapat menghindari adanya kontaminasi selama proses penyembuhan (Koray dan Tosun, 2019). Selain itu, rasa sakit yang dikeluhkan pasien dapat mengganggu fungsi bicara dan mastikasi. Oleh karena itu, dibutuhkan rencana perawatan yang efisien untuk membantu pasien mengurangi keluhan dan mempercepat proses penyembuhan (Deshmukh dan Bagewadi, 2014).

Salah satu terapi alternatif penyembuhan luka adalah dengan memanfaatkan tanaman Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.). Tanaman Kenitu tumbuh di wilayah beriklim tropis dan dapat tumbuh di hampir semua jenis tanah. Tanaman ini tumbuh dengan baik di tanah yang subur, sistem irigasi yang baik dan sedikit asam (Lim, 2013). Di Indonesia, tanaman Kenitu dapat dijumpai di daerah Jawa Timur dan daerah pegunungan rendah (Hidayat dkk., 2007).

Daun Kenitu dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi dan antihipersensitif (Meira dkk., 2014). Daun Kenitu memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, fenol, sterol, triterpene (Koffi dkk., 2009), ursolat, β -sitosterol, lupeol dan asam galat (Shailajan dan Gurjar, 2014). Kandungan senyawa fenol dalam daun Kenitu berpotensi sebagai antiinflamasi (Fabiyyi dkk., 2012). Kandungan asam galat berperan sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Chia dkk., 2010). Kandungan asam ursolat berperan sebagai antiinflamasi (Kaewthawee dan Brimson, 2013). Kandungan flavonoid mempercepat proses penyembuhan luka dengan berperan sebagai antioksidan (Balakrishnan dkk., 2014), antibakteri dan mempercepat proses perubahan prokolagen menjadi kolagen (Galicka dan Nazaruk, 2007; Lim dan Kim, 2007). Antioksidan dalam daun Kenitu berfungsi merangsang pembentukan kolagen (Toripah dkk., 2014), sedangkan antibakteri dalam daun Kenitu dapat menghambat aktivitas *Streptococcus mutans* (Prashith dkk., 2014). Aktivitas penyembuhan luka dalam daun Kenitu dapat mempercepat proses inflamasi dengan meningkatkan kandungan hidrosiprolin, heksosamin dan protein jaringan granulasi. Peningkatan hidrosiprolin dan heksosamin menunjukkan terjadinya stabilisasi serat dan peningkatan kepadatan kolagen oleh aktivitas proliferasi sel (Shailajan dan Gurjar, 2016).

Kolagen merupakan struktur dasar yang membentuk rangka ekstrasel pada hampir seluruh jaringan (Murray, 2014). Kolagen berfungsi sebagai cikal bakal jaringan baru, mendeposisi matriks ekstraseluler, merekatkan sel-sel jaringan yang telah bermigrasi ke daerah luka, memperkuat dan mendukung jaringan ekstraseluler (Novitasari dkk., 2017). Serat kolagen pada mukosa mulut secara histologis dapat ditemukan pada lapisan lamina propia (Nanci, 2018). Semua jenis kolagen terdiri dari struktur tripel heliks yang membentuk tropokolagen. Tropokolagen merupakan

unit struktural dasar kolagen yang terdiri dari tiga serat (Murray, 2014). Struktur triple helix kolagen terdiri atas tiga asam amino, yaitu glisin, prolin dan hidroksiprolin (Shoulders dan Raines, 2009).

Gel merupakan salah satu bentuk dari sediaan topikal. Sediaan Gel dipilih karena sifat padat, lunak dan kenyal sehingga mudah diaplikasikan. Selain itu, sediaan gel memiliki kelebihan yaitu daya sebar yang lebih baik, tidak menghambat fungsi fisiologi zat (Elmitra, 2017) dan kemampuan penetrasi zat ke jaringan yang lebih baik (Rinaldi, 2019). Ekstrak daun Kenitu dapat diolah menjadi sediaan gel sebagai obat topikal dalam penyembuhan luka (Shailajan dan Gurjar, 2016). Selain itu daun Kenitu mudah dicari (Handayani dkk., 2017) dan selama ini, pemanfaatannya masih kurang karena hanya dianggap sebagai limbah (Ningsih, 2016)

Berdasarkan uraian-uraian di atas, peneliti tertarik untuk mengkaji pengaruh dari ekstrak daun Kenitu terhadap kepadatan kolagen pada proses penyembuhan luka bakar mukosa bukal tikus wistar.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, permasalahan yang timbul adalah apakah ada pengaruh pemberian gel ekstrak daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan luka bakar mukosa bukal tikus Wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan luka bakar mukosa bukal tikus Wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Dapat memberikan informasi ilmiah dan sebagai bahan pertimbangan terapi alternatif bagi masyarakat tentang peran daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) terhadap kepadatan kolagen pada penyembuhan luka bakar mukosa bukal.
2. Dapat memberikan informasi ilmiah tenaga kesehatan khususnya dibidang kedokteran gigi agar dapat memanfaatkan bahan herbal daun Kenitu yang mudah didapat sebagai terapi alternatif penyembuhan luka bakar mukosa bukal.
3. Dapat digunakan sebagai acuan untuk melakukan penelitian lebih lanjut.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mukosa Mulut

Mukosa mulut secara anatomis berada di antara kulit dan mukosa saluran cerna. Mukosa mulut berfungsi sebagai organ sensorik, tempat aktivitas dan sekresi kelenjar serta untuk melindungi organ dan jaringan yang lebih dalam dari rongga mulut. Struktur histologis mukosa mulut terdiri dari epitel, lamina propia dan submucosa (Gambar 2.1) (Nanci, 2018). Secara histologis, mukosa mulut dibagi menjadi tiga jenis mukosa, meliputi:

a. *Lining mucosa*

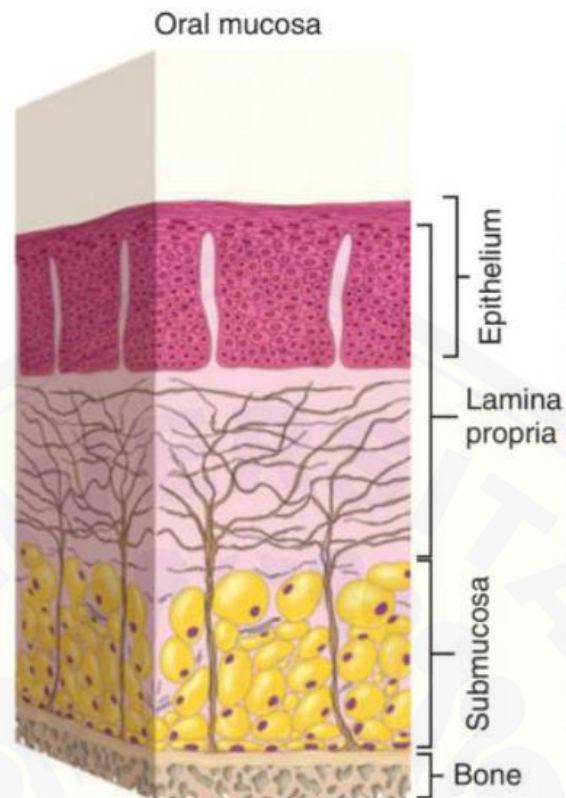
Lining mucosa dilapisi oleh epitel skuamosa bertingkat non-keratin dan didasari oleh lamina propia yang elastis. Epitel skuamosa bertingkat tersusun dari stratum superfisial, stratum spinosum, stratum basal, dan membrane basal (Gambar 2.2) (Hand dan Frank, 2014). Jenis mukosa ini terdapat pada mukosa bukal, labial, dasar mulut, ventral lidah, palatum molle dan mukosa alveolar. Lamina propia pada mukosa bukal mengandung kolagen, beberapa serat elastic dan kaya akan pembuluh darah. Mukosa melekat erat pada otot dibawahnya oleh kolagen dan elastin. Pada lapisan submukosa dapat ditemukan jaringan ikat kolagen padat dengan lemak, kelenjar ludah minor, dan kadang-kadang ditemukan kelenjar sebacea (Nanci, 2018).

b. *Masticatory mucosa*

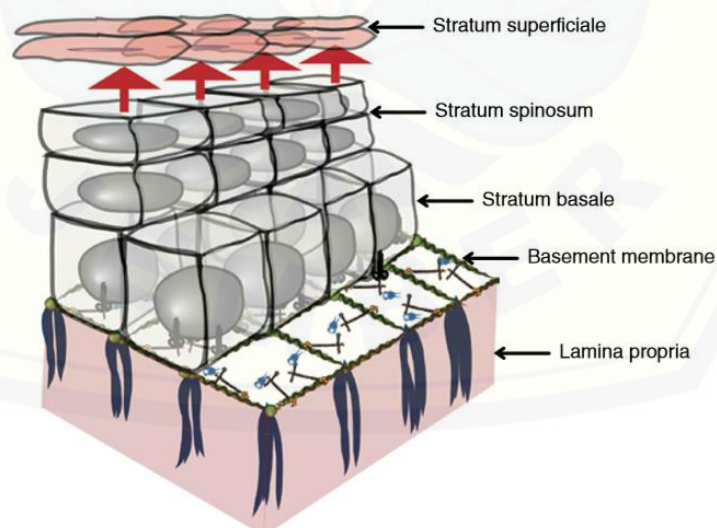
Masticatory mucosa meliputi palatum durum dan gingiva. Jenis mukosa ini selalu terkena pengunyahan dan umumnya terlapisi oleh epitel skuamosa bertingkat yang mengalami keratinisasi (ortokeratinisasi atau parakeratinisasi) (Nanci, 2018).

c. *Specialized mucosa*

Specialized mucosa terdapat pada permukaan dorsal dari lidah. Epitel skuamosa bertingkat pada mukosa tipe ini membentuk tiga jenis papilla lidah (Nanci, 2018).



Gambar 2.1 Struktur histologi mukosa mulut (Sumber: Nanci, 2018)



Gambar 2.2 Lapisan epitel skuamosa bertingkat pada mukosa mulut (Sumber: Hand dan Frank, 2014)

2.2 Luka

Luka adalah hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh yang terjadi akibat trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan (Sjamsuhidajat dan Jong, 2010). Luka ditandai dengan rusaknya jaringan tubuh seperti jaringan ikat, otot, dan kulit yang disertai rusaknya saraf dan robeknya pembuluh darah sehingga terjadi perdarahan (Abdurrahmat, 2014). Luka dapat di golongan menurut struktur anatomi, sifat, proses penyembuhan dan lama penyembuhan (Kartika dkk., 2015).

- a. Berdasarkan struktur anatomi, yaitu: superfisial (melibatkan epidermis), *partial thickness* (melibatkan lapisan epidermis dan dermis) dan *full thickness* (melibatkan epidermis, dermis, lapisan lemak, fascia dan dapat sampai ke tulang)
- b. Berdasarkan sifat, meliputi:
 - 1) Terbuka
Luka terbuka adalah keadaan di mana jaringan luar (kulit) maupun jaringan di bawah kulit mengalami kerusakan (Sutawijaya, 2009).
 - 2) Tertutup
Luka tertutup adalah keadaan di mana luka masih terlindungi oleh jaringan luar (kulit) tetapi terjadi kerusakan di jaringan bagian dalam. Jaringan di bawah kulit tidak berkontak langsung dengan dunia luar (Sutawijaya, 2009).
 - 3) Abrasi
Abrasi adalah kerusakan epidermis kulit atau epitel membran mukosa karena tekanan benda keras, tumpul atau kasar (Parinduri, 2017).
 - 4) Kontusio
Kontusio adalah pecahnya pembuluh darah karena tekanan atau kekerasan yang menimbulkan penggumpalan darah pada jaringan (ekimosis) (Parinduri, 2017).

5) Insisi

Insisi adalah luka yang disebabkan oleh benda tajam atau alat pemotong. Secara klinis, luka ini memiliki garis tepian luka rapi, rata dan rapat (Wombeogo dan Kuubire, 2014).

6) Laserasi

Laserasi adalah robeknya jaringan oleh benda tumpul akibat adanya reaksi tertarik dan tegang permukaan tubuh yang melampaui batas elastisitasnya (Parinduri, 2017).

7) Penetrasi

Penetrasi adalah luka akibat adanya benda asing yang masuk kedalam jaringan tubuh (Akbar dkk., 2019).

8) *Puncture* (luka tusuk)

Puncture adalah luka yang timbul karena tertusuknya jaringan oleh benda runcing seperti paku atau jarum (Kartika dkk., 2015).

c. Berdasarkan proses penyembuhan, dapat diklasifikasikan menjadi tiga, yaitu:

- 1) Penyembuhan primer, umumnya terjadi setelah luka insisi dan berlangsung dari internal ke eksternal. Tipe ini memiliki ciri tepi luka dapat menyatu kembali dengan permukaan bersih disertai tidak ada jaringan yang hilang.
- 2) Penyembuhan sekunder dimulai dari proses pembentukan jaringan granulasi pada dasar luka dikarenakan adanya jaringan yang hilang.
- 3) Penyembuhan primer tertunda, umumnya disertai infeksi karena proses penyembuhannya lama dan dibutuhkan penutupan luka secara manual.

d. Berdasarkan lama penyembuhan

- 1) Luka akut terjadi dalam waktu 2-3 minggu.
- 2) Luka kronis terjadi dalam waktu 4-6 minggu dan tidak disertai dengan tanda-tanda sembuh.

Luka dapat digolongkan sebagai luka akut apabila proses penyembuhan yang berlangsung normal, tetapi juga dapat digolongkan sebagai luka kronis apabila penyembuhannya terlambat atau terdapat infeksi (Kartika dkk., 2015).

2.3 Luka Bakar Mukosa Rongga Mulut

Luka pada mukosa rongga mulut mengandung lebih sedikit mediator pertahanan tubuh, pembuluh darah dan profibrotik. Namun, kandungan sel-sel sumsum tulang lebih banyak, proses re-epitelisasi lebih tinggi dan proliferasi fibroblas lebih cepat dari pada luka pada kulit (Glim dkk., 2013). Luka pada rongga mulut umumnya disebabkan oleh cedera mekanik, termal dan kimiawi (Mortazavi dkk., 2016). Cedera termal menyebabkan luka bakar dengan cara menghancurkan sel atau mengganggu fungsi metabolisme sel sepenuhnya sehingga terjadi kematian sel (Kannan dkk., 2014).

Luka bakar ditandai dengan lesi erusif dengan batas eritematosa di sekitar mukosa yang memutih (Phore dan Panchal, 2017), nyeri dan dapat mengalami deskuamasi (Koray dan Tosun, 2019), biasanya melibatkan area palatal dan pasien memiliki riwayat makan atau minum sesuatu yang panas (Phore dan Panchal, 2017). Selain itu, luka juga dapat diakibatkan oleh cedera karena ketidaksengajaan dokter gigi (trauma iatrogenik) (Najm, 2013).

Makanan yang umumnya dapat menyebabkan luka tersebut seperti *pizza* yang mengandung keju panas (Singla dkk., 2016) serta makanan yang dingin di luar dan sangat panas didalam ketika dipanaskan dengan *microwave* (Kannan dkk., 2014). Trauma iatrogenik seperti penggunaan bahan cetak termoplastik dan kontak antara mukosa rongga mulut dengan instrumen dental yang panas (Najm, 2013). Luka bakar yang muncul dalam bentuk jaringan nekrotik yang dapat mengelupas dan dikelilingi oleh eritema (Anura, 2014). Pada lesi ringan, luka akan sembuh dalam waktu seminggu (Koray dan Tosun, 2019).

Keparahan luka bakar tergantung pada luas, kedalaman, lokasi dan usia. Berdasarkan kedalamannya, luka bakar diklasifikasikan menjadi empat tingkatan. Luka yang diakibatkan oleh makanan panas dikelompokkan sebagai luka bakar tingkat pertama dan kedua (McDonald III dkk., 2015).

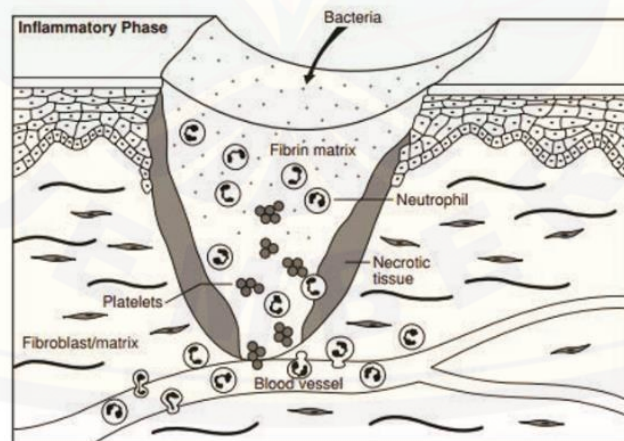
2.4 Penyembuhan Luka

Pada saat terjadi luka, tubuh akan merespon luka yang diawali proses peradangan sebagai pertahanan pertama untuk mencegah luka menjadi semakin parah (Abdurrahmat, 2014). Tahapan ini disebut tahap hemostasis dan inflamasi yang kemudian berlanjut ke tahap proliferasi dan tahap remodeling (Vieira dkk., 2015). Proses penyembuhan luka membutuhkan senyawa kimiawi yang berfungsi menjaga jaringan yang terluka dari infeksi sekunder mikroorganisme dan membentuk struktur yang menutup luka (Abdurrahmat, 2014).

Proses penyembuhan luka terdiri dari tiga tahap yang dapat berjalan secara tumpang tindih (Kartika dkk., 2015), yaitu:

a. Tahap inflamasi

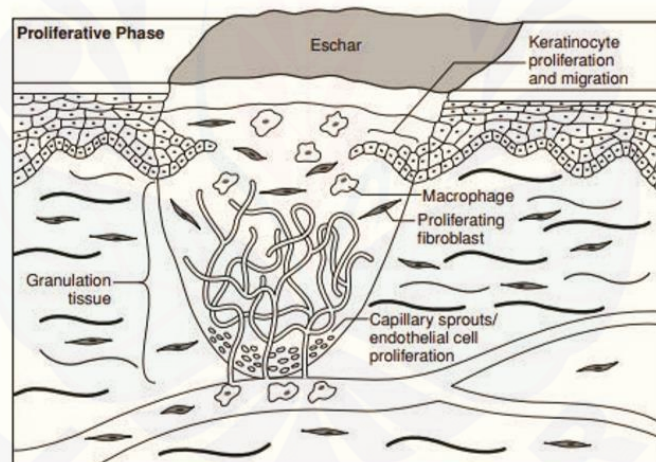
- 1) Mulai terjadi setelah terjadi luka sampai hari ke-4 (Mardiyantoro dkk., 2018).
- 2) Proses yang terjadi secara spontan berupa pembekuan darah.
- 3) Ciri yang muncul: *tumor, rubor, dolor, color, function laesa*.
- 4) Proses yang terjadi berupa hemostasis dan proses fagositosis dan migrasi sel sel radang (Primadina dkk., 2019), lihat Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Proses penyembuhan luka pada tahap inflamasi (Sumber: Kartika dkk., 2015)

b. Tahap proliferasi

- 1) Terjadi pada hari ke-4 sampai ke-21 pasca timbulnya luka (Mardiyantoro dkk., 2018).
- 2) Terjadi pembentukan jaringan granulasi yang ditandai dengan luka berwarna merah dan mengkilat, lihat Gambar 2.4.
- 3) Jaringan granulasi tersusun dari fibroblas, sel inflamasi, pembuluh darah baru (angiogenesis), fibronektin, dan asam hialuronat.
- 4) Pada 24 jam pertama akan terjadi proses epitelisasi yang diawali dengan penebalan lapisan epidermis tepi luka.
- 5) Proses produksi kolagen diawal dengan aktivasi sel-sel fibroblas
- 6) Terjadi proses proses neoangiogenesis, pembentukan fibroblas dan reepitelisasi (Primadina dkk., 2019).

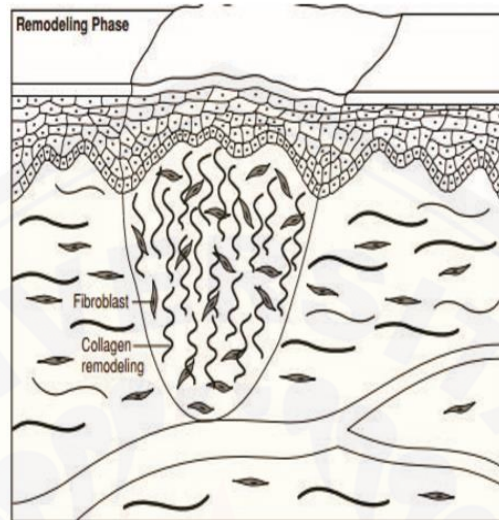


Gambar 2.4 Proses penyembuhan luka pada tahap proliferasi (Sumber: Kartika dkk., 2015)

c. Tahap maturasi

- 1) Proses ini terjadi pada beberapa minggu setelah terjadi luka hingga 1 tahun (Mardiyantoro dkk., 2018).
- 2) Jaringan parut terbentuk 50-80%, lihat Gambar 2.5.
- 3) Aktivitas seluler dan vaskulerisasi akan berkurang.

- 4) Terjadi pertumbuhan epitel, pembentukan jaringan parut dan peningkatan kekuatan serta integritas jaringan baru (Primadina dkk., 2019).



Gambar 2.5 Proses penyembuhan luka pada tahap maturasi (Sumber: Kartika dkk., 2015)

2.5 Kolagen

2.5.1 Pengertian Kolagen

Kolagen adalah protein berserat yang membentuk lebih dari 25% massa protein dalam tubuh manusia (Murray, 2014) sehingga sering disebut sebagai protein terbanyak dalam tubuh (Sherwood, 2013). Kolagen berperan penting dalam memperkuat dan mendukung jaringan ekstraseluler (Kumar dkk, 2013). Selain itu, kolagen juga berperan sebagai komponen matriks jaringan penghubung yang berfungsi dalam sistem pertahanan tubuh untuk mencegah penyebaran mikroorganisme yang berhasil menembus epitel (Junqueira dkk., 2012).

2.5.2 Struktur dan Macam Kolagen

Kolagen merupakan protein fibrosa penyusun utama jaringan ikat. Komposisi kolagen terdiri dari 33% glisin, 21% prolin dan hidroksiprolin (Marks *et al*, 2000). Kolagen merupakan struktur dasar yang membentuk rangka ekstrasel

pada hampir seluruh jaringan (Murray, 2014). Kolagen berbentuk serat yang tahan terhadap stres longitudinal (Sherwood, 2013). Serat kolagen berstruktur tipis dan panjang dengan diameter yang bervariasi antara 20-90 nm (Junqueira dkk., 2012). Untaian serat kolagen dan keratin yang bersilangan akan memberikan kekuatan dan kelenturan pada kulit (Murray, 2014).

Semua jenis kolagen terdiri dari struktur tripel heliks yang membentuk tropokolagen. Tropokolagen merupakan unit struktural dasar kolagen yang terdiri dari tiga serat. Tripel heliks pada kolagen terdiri dari tiga rantai polipeptida yang beruntai, memuntir secara kidal dan saling membungkus secara kinan satu sama lain. Puntiran pada tripel heliks yang saling berlawanan di tambah dengan komponen polipeptidanya memberikan kekuatan resisten terhadap penguraian. Ikatan hidrogen antar rantai polipeptida menyebabkan tripel heliks lebih stabil. Kumpulan serat kolagen dewasa akan membentuk batang panjang (Murray, 2014). Gambaran histologis kolagen dapat terlihat berwarna merah muda dengan pewarnaan Hematoksin Eosin dan berwarna biru atau hijau dengan pewarnaan *Trichrome Masson* (Fawcett, 2002). *Trichrome Masson* akan mewarnai kolagen dengan warna biru apabila diberi *anilin blue* (Dey, 2018) dan akan mewarnai kolagen dengan warna hijau apabila diberi *light green* (Chen dkk., 2017).

Pada tubuh manusia, ditemukan 25 tipe kolagen berbeda yang tersusun lebih dari 30 rantai polipeptida yang berbeda. Klasifikasi kolagen berdasarkan struktur yang dibentuknya antara lain (Murray, 2014).

- a. Kelas pembentuk fibril : kolagen tipe I, II, III, V dan XI
- b. Kelas mirip jarring : kolagen tipe IV, VIII dan X
- c. Kelas FACIT : kolagen tipe IX, XII, XIV, XVI dan XIX
- d. Kelas filamen bermanik-manik : kolagen tipe VI
- e. Kelas *anchoring fibril* : kolagen tipe VII
- f. Kelas domain tipe membrane : kolagen tipe XIII dan XVII
- g. Lain-lain : kolagen tipe XV dan XVIII

Kolagen secara histologis berada pada lamina propia dalam mukosa rongga mulut. Tipe kolagen yang paling banyak ditemukan pada mukosa rongga mulut adalah tipe I dan tipe III. Selain itu, kolagen tipe IV, V, dan VII juga dapat

ditemukan pada mukosa rongga mulut. Kolagen tipe IV dan VII dapat dilihat pada lamina basal. Kolagen tipe V akan ditemukan pada jaringan yang mengalami inflamasi (Nanci, 2018).

2.6 Daun Kenitu

2.6.1 Deskripsi Umum Kenitu

Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) berasal dari dataran rendah Amerika Tengah dan Hindia Barat. Kenitu disebut juga *star apple* termasuk dalam famili Sapotaceae. Tanaman ini dapat tumbuh di daerah tropis, terutama di daerah yang memiliki curah hujan serta kelembaban tinggi dan pada ketinggian 425 meter di atas permukaan laut. Kenitu tergolong tanaman hermafrodit yang memiliki ketinggian 10-30 meter dan dapat berumur menahun. Pohon Kenitu dewasa tidak dapat hidup dalam suhu lingkungan kurang dari $-2,22^{\circ}\text{C}$ sedangkan pohon Kenitu muda pada suhu $-0,56^{\circ}\text{C}$ (Morton, 2004).

Taksonomi tanaman Kenitu sebagai berikut (USDA, 2019):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Subdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dileniidae
Ordo	: Ebenales
Famili	: Sapotaceae
Genus	: <i>Chrysophyllum</i> L.
Spesies	: <i>Chrysophyllum cainito</i> L.

Di Indonesia, tanaman Kenitu dapat ditemukan di Jawa Timur dan daerah pegunungan rendah. Di kabupaten Jember, terdapat tiga varietas tanaman Kenitu yang dapat ditemui yaitu Kenitu hijau buah bulat (bulat kecil dan bulat besar), Kenitu hijau buah lonjong dan Kenitu ungu buah bulat (Hidayat dkk., 2007).

2.6.2 Morfologi Tanaman Kenitu

Tanaman Kenitu tergolong tanaman berakar tunggang, berbatang kayu, tegak dan kulit batang berwarna abu-abu gelap hingga putih (Das et al, 2010 dalam Shailajan dan Gurjar, 2014). Batangnya berdiameter lebih dari 60 cm, bergalur, bertekstur padat dan permukaan kulitnya keras (Lim dan Lim, 2013). Jika dilukai batangnya, tanaman ini dapat mengeluarkan getah pekat berwarna putih. Bunga Kenitu terdiri dari 5 kelopak berbentuk bundar dan mahkota berbentuk tabung dengan panjang 4 mm serta bercuping 5 (Das et al, 2010 dalam Shailajan dan Gurjar, 2014). Daun Kenitu memiliki bentuk lonjong dengan bagian atas berkilau dan bagian bawah berambut halus (Yahia, 2011). Pohon Kenitu dapat menghasilkan buah setelah berumur 5-6 tahun (Lim dan Lim, 2013). Buah Kenitu memiliki ukuran seperti buah apel dengan kulit yang halus dan licin. Jika buah Kenitu dibelah maka akan terlihat bentuk bintang (Yahia, 2011).

2.6.3 Kandungan Kimia dan Khasiat Daun Kenitu

Ekstrak daun Kenitu mengandung alkaloid dan sterol sebagai antioksidan yang dapat menurunkan kadar gula darah pada dosis ≥ 20 g/l dan akan bersifat toksik pada dosis 30 g/l (Koffi dkk., 2009). Penelitian lain menyebutkan bahwa daun Kenitu mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, sterol, triterpene (Koffi dkk., 2009), ursolat, β -sitosterol, lupeol dan asam galat (Shailajan dan Gurjar, 2014). Kandungan senyawa fenol dalam daun Kenitu berpotensi sebagai antiinflamasi (Fabiya dkk., 2012). Kandungan asam galat berperan sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Chia dkk., 2010). Kandungan asam ursolat berperan sebagai antiinflamasi (Kaewthawee dan Brimson, 2013). Kandungan flavonoid berfungsi sebagai antibakteri, mempercepat proses perubahan prokolagen menjadi kolagen (Lim dan Kim, 2007; Galicka dan Nazaruk, 2007) dan antioksidan sehingga akan mempercepat proses penyembuhan luka (Balakrishnan dkk., 2014).

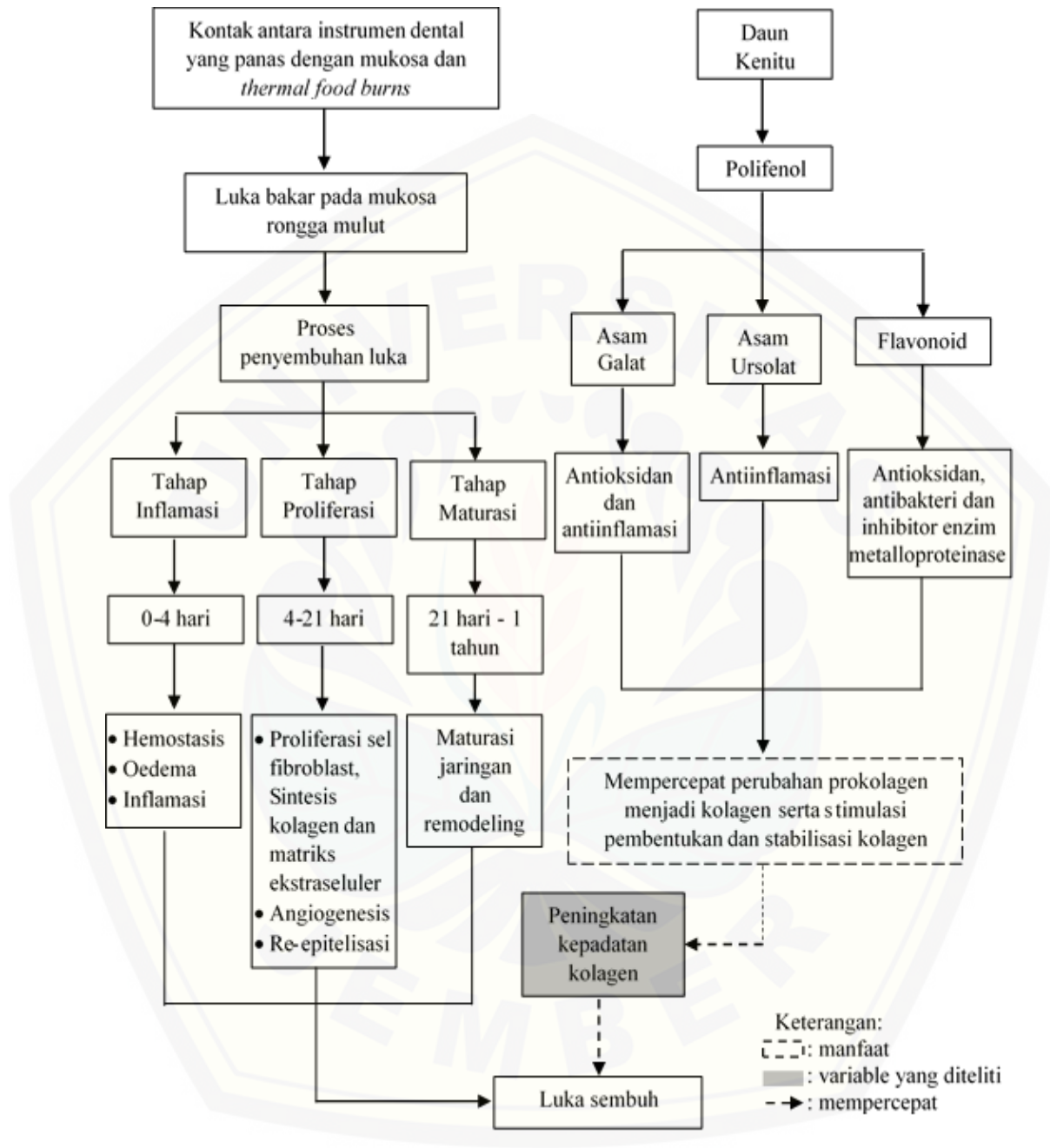
Daun Kenitu dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi dan antihipersensitif (Meira dkk., 2014). Antioksidan dalam daun Kenitu berfungsi merangsang pembentukan kolagen (Toripah dkk., 2014), sedangkan aktivitas

antibakteri dalam daun Kenitu dapat menghambat aktivitas *Streptococcus mutans* (Prashith dkk., 2014).

Di Venezuela rebusan daun Kenitu dimanfaatkan sebagai obat pereda nyeri dada. Warga Kuba di Miami mengolah daun Kenitu untuk ramuan obat kanker (Morton, 2004). Sebuah penelitian menyebutkan daun Kenitu memiliki potensi meningkatkan kepadatan kolagen dan stabilisasi serat dalam proses penyembuhan luka (Shailajan dan Gurjar, 2016).

Aktivitas penyembuhan luka dalam daun Kenitu dapat mempercepat proses inflamasi dengan meningkatkan kandungan hidroksiprolin, heksosamin dan protein jaringan granulasi yang menunjukkan terjadi aktifitas proliferasi sel, peningkatan kepadatan kolagen dan stabilisasi serat. Ekstrak daun Kenitu 2% dapat diolah menjadi sediaan salep atau gel sebagai obat topikal dalam penyembuhan luka (Shailajan dan Gurjar, 2016).

2.7 Kerangka Konseptual



Gambar 2.6 Kerangka konseptual

2.8 Hipotesis

Pemberian gel ekstrak daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) meningkatkan kepadatan kolagen pada penyembuhan luka bakar mukosa bukal tikus Wistar.



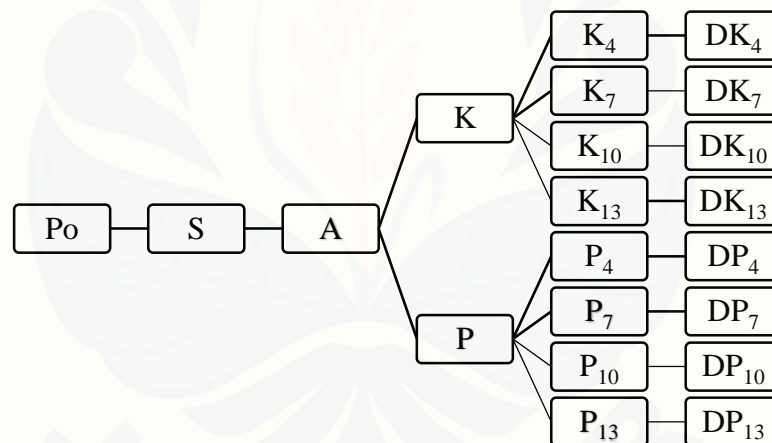
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratoris.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan pos tes dengan kelompok kontrol (*the post test only control group designs*) yaitu melakukan pengukuran setelah perlakuan diberikan, kemudian hasilnya dibandingkan dengan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2012). Skema rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Po : Populasi tikus *Wistar*.

S : Tikus *Wistar* jantan berumur 2-3 bulan dengan berat 150-200 gram, normal, sehat dan aktif.

A : Adaptasi hewan coba selama 7 hari.

K : Kelompok kontrol negatif (tikus wistar dibuat luka bakar dan diberi placebo (CMC 3%) secara topikal setiap 2 kali sehari)

P : Kelompok perlakuan (tikus wistar dibuat luka bakar dan diberi gel ekstrak daun Kenitu 2% secara topikal setiap 2 kali sehari)

DK : Kepadatan kolagen kelompok K

DP : Kepadatan kolagen kelompok P
Angka 4, 7, 10 dan 13 menunjukkan hari dilakukannya eutanasia

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

3.3.1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di beberapa tempat, yaitu:

- a. Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember untuk identifikasi tanaman Kenitu.
- b. Laboratorium Analisis Terpadu Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak daun Kenitu.
- c. Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk pembuatan gel ekstrak daun Kenitu 2%.
- d. Laboratorium Fisiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk perlakuan terhadap hewan coba.
- e. Laboratorium Histologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pembuatan preparat dan pengamatan jaringan.

3.3.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2019 – Januari 2020.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Gel ekstrak daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) 2%.

3.4.2 Variabel Terikat

Kepadatan kolagen pada proses penyembuhan luka bakar mukosa bukal tikus wistar pada hari ke-4, hari ke-7, hari ke-10 dan hari ke-13.

3.4.3 Variabel Terkendali

- a. Kriteria hewan coba
- b. Tempat dan cara pemeliharaan

- c. Cara pembuatan gel ekstrak daun Kenitu
- d. Cara pemberian, waktu, dan dosis gel ekstrak biji Kenitu yang diberikan
- e. Cara pengambilan jaringan luka
- f. Cara pembuatan sediaan jaringan
- g. Pengecatan sediaan
- h. Cara pengamatan kepadatan serabut kolagen

3.5 Definisi Operasional Penelitian

3.5.1 Daun Kenitu

Daun Kenitu yang digunakan adalah daun Kenitu tua dengan ciri-ciri daun bagian atasnya berwarna hijau tua dan bagian bawahnya berwarna cokelat. Daun Kenitu tua diambil sebanyak 5-6 helai dari pangkal cabang (lihat Gambar 3.2). Daun Kenitu di cuci bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Daun Kenitu dipisahkan dari tangkai dan tulang daunnya.



Daun Kenitu tua berwarna hijau tua di permukaan atas (kiri) dan berwarna cokelat di permukaan bawah (kanan).

Gambar 3.2 Daun Kenitu

3.5.2 Luka bakar pada Mukosa Bukal Tikus Wistar

Hewan coba diberi kondisi luka bakar pada mukosa bukal kiri dengan membuat luka menggunakan *amalgam stopper* diameter ± 2 mm yang telah dipanaskan di atas bunsen selama 1 menit. Kemudian *amalgam stopper* yang telah dipanaskan disentuhkan pada mukosa bukal tikus selama 3 detik. Luka bakar yang didapat pada awalnya berwarna kecoklatan seperti Gambar 3.3. Nantinya, luka tersebut terdeskuamasi sehingga terlihat jaringan luka dengan batas eritematosa di sekitar mukosa yang memutih seperti pada Gambar 3.4.



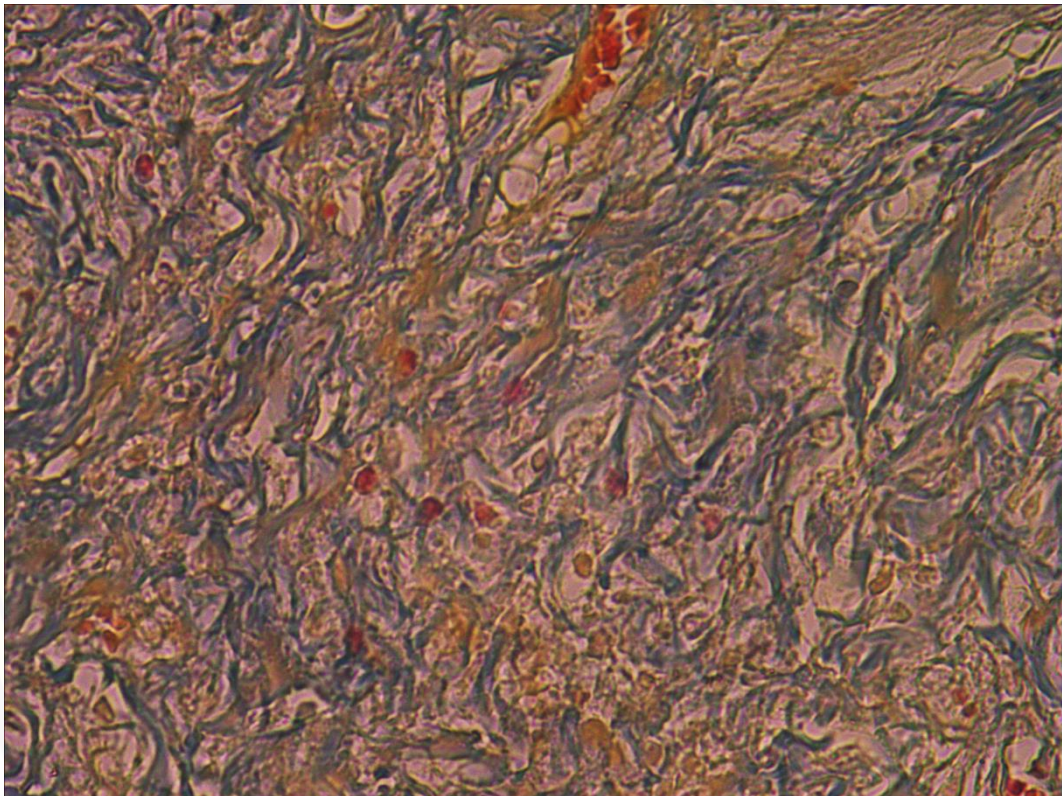
Gambar 3.3 Luka bakar mukosa bukal tikus wistar



Gambar 3.4 Luka bakar mukosa bukal tikus wistar setelah terdeskuamasi

3.5.3 Kepadatan Serabut Kolagen

Serabut kolagen bersifat *acidophilic*, sehingga akan berwarna biru dengan pewarnaan *Trichrome Masson*. Kolagen memiliki gambaran histologis berupa serat memanjang, sejajar, paralel dan berliku-liku saat diamati dengan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x (lihat Gambar 3.5). Kolagen di mukosa bukal dapat ditemukan pada lapisan lamina propia.



Gambar 3.5 Gambaran histologi jaringan mukosa bukal tikus wistar sebelum diolah menggunakan aplikasi *ImageJ*

3.5.4 Waktu pengorbanan hewan coba

Hewan coba dikorbankan 12 jam setelah pemberian gel pada hari ke-4, ke-7, ke-10 dan ke-13.

3.6 Sampel Penelitian

3.6.1 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ditentukan dengan menggunakan rumus *federer*, dengan r adalah jumlah sampel penelitian dan t adalah jumlah kelompok perlakuan, maka:

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

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

$$(r-1)7 \geq 15$$

$$(r-1) \geq 15/7$$

$$r-1 \geq 2,14$$

$$r \geq 3,14$$

$$r \geq 4$$

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, besar sampel minimal yang dibutuhkan untuk setiap kelompok perlakuan adalah 3,14 kemudian dibulatkan menjadi 4 ekor. Sehingga, jumlah total sampel yang dibutuhkan dalam penelitian adalah 32 ekor.

3.6.2 Kriteria Sampel

Kriteria sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah

- Tikus putih berusia 2-3 bulan dengan jenis kelamin jantan *strain Wistar*.
- Tikus Wistar dengan berat 150-200 gram.
- Pakan tikus dengan pellet *Turbo*[®]
- Tikus dalam kondisi sehat yang ditandai dengan tidak ada luka, tidak ada cacat tubuh dan berat badan normal.

3.6.3 Pengelompokan Sampel Penelitian

Sampel berjumlah 32 ekor tikus wistar jantan dibagi menjadi dua kelompok yang masing-masing terdiri dari enam belas ekor, yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P). Setiap kelompok kemudian dibagi menjadi empat

subkelompok yang masing-masing terdiri dari empat ekor tikus. Pengelompokan sampel dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Pengelompokan sampel penelitian

Kelompok	Sub-kelompok	Keterangan	Jumlah sampel
K	Hari ke-4	Tikus diberikan gel placebo (CMC 3%) 2 kali sehari pasca perlakuan hingga hari keempat. Tikus dieutanasia 12 jam setelah pemberian gel placebo terakhir.	4
	Hari ke-7	Tikus diberikan gel placebo (CMC 3%) 2 kali sehari pasca perlakuan hingga hari ketujuh. Tikus dieutanasia 12 jam setelah pemberian gel placebo terakhir.	4
	Hari ke-10	Tikus diberikan gel placebo (CMC 3%) 2 kali sehari pasca perlakuan hingga hari kesepuluh. Tikus dieutanasia 12 jam setelah pemberian gel placebo terakhir.	4
	Hari ke-13	Tikus diberikan gel placebo (CMC 3%) 2 kali sehari pasca perlakuan hingga hari ketiga belas. Tikus dieutanasia 12 jam setelah pemberian gel placebo terakhir.	4
P	Hari ke-4	Tikus diberikan gel ekstrak daun Kenitu 2% 2 kali sehari pasca perlakuan hingga hari keempat. Tikus dieutanasia 12 jam setelah pemberian gel ekstrak daun kenitu 2% terakhir.	4
	Hari ke-7	Tikus diberikan gel ekstrak daun Kenitu 2% 2 kali sehari pasca perlakuan hingga hari ketujuh. Tikus dieutanasia 12 jam setelah pemberian gel ekstrak daun kenitu 2% terakhir.	4
	Hari ke-10	Tikus diberikan gel ekstrak daun Kenitu 2% 2 kali sehari pasca perlakuan hingga hari kesepuluh. Tikus dieutanasia 12 jam setelah pemberian gel ekstrak daun kenitu 2% terakhir.	4

	Hari ke-13	Tikus diberikan gel ekstrak daun Kenitu 2% 2 kali sehari pasca perlakuan hingga hari ketiga belas. Tikus dieutanasia 12 jam setelah pemberian gel ekstrak daun kenitu 2% terakhir.	4
--	------------	--	---

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

Gambar dokumentasi alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian terdapat dalam Lampiran 3.1.

3.7.1 Alat

- a. Alat untuk perlakuan hewan coba
 - 1) Kandang terbuat dari plastik, berbentuk persegi empat berukuran 40x30x10 cm³ dengan tutup dari anyaman kawat
 - 2) Timbangan untuk menimbang tikus (*Neraca Ohaus, Germani*[®])
 - 3) Tempat makan dan minum tikus
 - 4) Sarung tangan (*Everglove*[®])
 - 5) Masker (*Sensi*[®])
 - 6) Syringe tanpa jarum 1 ml (*Onemed*[®])
 - 7) Gelas ukur
 - 8) *Rat dental chair*
 - 9) *Amalgam stopper 2 mm*
 - 10) Bunsen
- b. Alat untuk eutanasia dan pengambilan sampel jaringan mukosa bukal
 - 1) *Dysposable syringe 1ml (Onemed*[®])
 - 2) Scalpel dan blade scalpel (*Onemed*[®])
 - 3) Pinset kedokteran gigi (*Pakistan*[®])
 - 4) Sarung tangan (*Everglove*[®])
 - 5) Masker (*Sensi*[®])
 - 6) Gunting bedah (*Onemed*[®])
 - 7) Papan parafin

- 8) Pot salep
 - 9) Pinset anatomi (*Onemed*[®])
 - 10) Wadah/stoples tertutup
 - 11) Kain lap
 - 12) Arteri clam (*Onemed*[®])
 - 13) Spidol
- c. Alat untuk ekstraksi daun Kenitu dan pembuatan gel ekstrak daun Kenitu
- 1) Sarung tangan (*Everglove*[®])
 - 2) Masker (*Sensi*[®])
 - 3) Mortar dan pestle
 - 4) Mesin penggiling
 - 5) Stoples kaca
 - 6) Ayakan/mesh
 - 7) Pipet
 - 8) Beaker glass
 - 9) Gelas ukur
 - 10) *Rotary evaporator*
 - 11) *Histological basket*
 - 12) Corong
 - 13) Solet
 - 14) Elenmeyer
 - 15) Pengaduk
- d. Alat untuk pembuatan preparat histologi
- 1) Sarung tangan (*Everglove*[®])
 - 2) Masker (*Sensi*[®])
 - 3) Rak slide
 - 4) *Deck glass (Menzel Glazer)*[®]
 - 5) *Object glass (Citoglass)*[®]
 - 6) Mikroskop binokuler (*Olympus CX 21*[®])
 - 7) Mikrotom
 - 8) Corong

- 9) Kertas saring/mesh
 - 10) *Staining jar*
 - 11) *Slide warmer*
 - 12) *Waterbath*
 - 13) *Automatic tissue processor*
 - 14) Almari pendingin
- e. Alat untuk pengamatan dan pengambilan gambar histologi
- 1) Mikroskop binokuler (*Olympus CX 21®*)
 - 2) *Optilab advance plus*

3.7.2 Bahan

- a. Daun Kenitu
- b. CMC
- c. Larutan ketamin
- d. Larutan xylazine
- e. Etanol
- f. Gel placebo berbasis *carboxy methyl cellulosa* (CMC 3%)
- g. Gel ekstrak daun Kenitu 2%
- h. Akuades steril
- i. *Acid fuchsine*
- j. *Phosphomolibdic*
- k. *Aniline blue*
- l. Alkohol (97%, 95% dan 80%)
- m. *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%
- n. Parafin bubuk
- o. *Xylol*
- p. Minuman tikus (*Aqua®*)
- q. Makanan tikus wistar (*Turbo®*)
- r. Sekam

3.8 Penghitungan Dosis dan Konsentrasi

3.8.1 Dosis obat anastesi

Menurut Mulawarmanti dkk (2015), obat anastesi yang digunakan pada tikus dengan dosis ketamin 25 mg/kg berat badan dan dosis xylazine 15 mg/kg berat badan. Perhitungan dosis ketamin yang digunakan apabila berat badan tikus 200 gram sebagai berikut.

$$\begin{aligned} \text{Dosis ketamin} &= 25 \text{ mg/kgBB} \times \text{BB tikus} \\ &= 25 \text{ mg/kgBB} \times 200 \text{ gBB} \\ &= 25 \text{ mg/kgBB} \times 200/1000 \text{ kgBB} \\ &= 25 \text{ mg/kgBB} \times 0,2 \text{ kgBB} \\ &= 5 \text{ mg} \end{aligned}$$

Ketamin yang digunakan dalam penelitian ini memiliki konsentrasi 100 mg / 1 ml, maka dosis ketamin yang dibutuhkan adalah:

$$\begin{aligned} \frac{100 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} &= \frac{5 \text{ mg}}{X} \\ X &= 0,05 \text{ ml} \end{aligned}$$

Sehingga dosis ketamin yang digunakan antara 0,05 ml.

Perhitungan dosis xylazine yang digunakan apabila berat badan tikus 200 gram sebagai berikut.

$$\begin{aligned} \text{Dosis xylazine} &= 15 \text{ mg/kgBB} \times \text{BB tikus} \\ &= 15 \text{ mg/kgBB} \times 200 \text{ gBB} \\ &= 15 \text{ mg/kgBB} \times 200/1000 \text{ kgBB} \\ &= 15 \text{ mg/kgBB} \times 0,2 \text{ kgBB} \\ &= 3 \text{ mg} \end{aligned}$$

Xylazine yang digunakan dalam penelitian ini memiliki konsentrasi 100 mg / 1 ml, maka dosis xylazine yang dibutuhkan adalah:

$$\begin{aligned} \frac{100 \text{ mg}}{1 \text{ ml}} &= \frac{3 \text{ mg}}{X} \\ X &= 0,03 \text{ ml} \end{aligned}$$

Sehingga dosis xylazine yang digunakan antara 0,03 ml

3.8.2 Konsentrasi Gel Ekstrak daun Kenitu

Sediaan gel ekstrak daun Kenitu diberikan secara topikal dengan konsentrasi 20g/l pada mukosa bukal kiri tikus yang telah diberi perlakuan luka bakar (Koffi dkk., 2009). Hasil perhitungan konsentrasi ekstrak daun Kenitu adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Diketahui: } 1 \text{ g} &= 1 \text{ ml} \\ 1 \text{ ppm} &= 1 \text{ mg/l} \\ &= 1 \text{ mg/kg} \\ &= 1 \text{ mg}/1.000.000 \text{ mg} \\ 1 \text{ ppm } (\%) &= 1 \text{ mg}/1.000.000 \text{ mg} \times 100 \\ &= 1/10.000\% \\ \text{Dosis efektif} &= 2 \text{ 0g/l} = 20.000 \text{ mg/l} = 20.000 \text{ ppm} \\ \text{Konsentrasi ekstrak daun Kenitu } (\%) &= 20.000 \times 1/10.000 \% \\ &= 20.000 : 10.000\% \\ &= 2\% \end{aligned}$$

Jadi, konsentrasi dari ekstrak daun Kenitu yang digunakan yaitu 2%.

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Persiapan

a. Uji *Ethical Clearance*

Sebelum dilakukan penelitian, hewan coba dan prosedur penelitian akan melalui proses pengujian kelayakan etik (*ethical clearance*) di Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pelaksanaan uji *ethical clearance* dilakukan untuk memastikan bahwa hewan coba dan prosedur penelitian layak dan sesuai dengan *standart operasional procedure* (SOP) untuk dilakukan penelitian. Keterangan *ethical clearance* terdapat pada Lampiran 3.2.

b. Persiapan Hewan Coba

Persiapan hewan coba pada masing masing kandang diberi label seperti pada pengelompokan hewan yaitu K dan P. Selama tujuh hari, tumbuh kembang tikus diamati. Kebutuhan makan tikus diberi pakan standar tikus wistar yang beredar di pasar, yaitu jenis konsentrat dengan merek dagang *Turbo*[®] dan minuman air mineral dengan merek dagang *Aqua*[®]. Pemberiannya harus diperhatikan dengan benar sehingga tidak kekurangan. Hal ini dimaksudkan agar kondisi yang didapat pada semua tikus sama dan dapat dikelompokkan sesuai kriteria.

Kandang untuk hewan coba berupa bak plastik dengan penutup dari kawat yang sudah dicat agar tidak berkarat. Kandang tikus dilengkapi dengan tempat makan, minum standar dan diberi pencahayaan yang cukup. Kandang diletakkan pada ruangan bersuhu ruang 20°C -25°C dan terhindari dari paparan sinar matahari langsung. Lingkungan sekitar dikondisikan tenang agar hewan coba tidak stres dan pencahayaan diusahakan 12 jam mendapat cahaya dan 12 jam tidak mendapatkan cahaya. Kandang hewan coba beralaskan sekam kayu yang diganti dua hari sekali. Adaptasi hewan coba dilakukan sebelum hewan coba diberi perlakuan.

c. Identifikasi Tanaman Kenitu

Identifikasi tanaman sangat penting dilakukan untuk memastikan tanaman tersebut adalah tanaman yang sama seperti yang telah disepakati di tingkat dunia. Untuk melakukan identifikasi diperlukan spesimen, herbarium, buku-buku flora, monografi kunci identifikasi, lembar identifikasi jenis dan bantuan dari ahlinya (Wahyuni dkk., 2016). Identifikasi tanaman Kenitu dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember. Keterangan identifikasi tanaman terdapat pada Lampiran 3.3.

d. Pembuatan Ekstrak Daun Kenitu

Prosedur pembuatan ekstrak daun Kenitu dilakukan berdasarkan metode penelitian Azwanida dkk. (2015) dengan sedikit modifikasi, antara lain:

- 1) Daun Kenitu yang digunakan adalah daun Kenitu tua dengan ciri-ciri daun bagian atasnya berwarna hijau tua dan bagian bawahnya berwarna cokelat. Daun Kenitu tua diambil sebanyak 5-6 helai dari pangkal cabang. Jarak tempat pengambil dengan jarak tempat ekstraksi sekitar 1-2 km dengan waktu tempuh sekitar 15 menit.
- 2) Daun Kenitu dibersihkan dan dipisahkan dari tangkainya.
- 3) Daun Kenitu diiris secara melintang dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari secara langsung.
- 4) Daun Kenitu yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk yang didapat kemudian di ayak dengan *mesh* hingga didapatkan serbuk yang lebih halus.
- 5) Lalu timbang sebanyak 250 gram serbuk daun Kenitu halus untuk dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% selama 72 jam.
- 6) Ekstrak yang didapat kemudian diletakkan pada tabung erlenmeyer. Lalu ekstrak dipekatkan dengan *rotatory evaporator* pada suhu 60°C.

Keterangan hasil uji ekstraksi daun Kenitu terdapat pada Lampiran 3.4

e. Pembuatan Gel Ekstrak Daun Kenitu 2%

- 1) Ukur akuades 97 ml menggunakan gelas ukur kemudian tuang ke dalam mortar.
- 2) 3 gram *carboxy methyl cellulose* (CMC) diukur menggunakan timbangan analitik, lalu ditambahkan ke dalam mortar yang telah berisi akuades.
- 3) Aduk dan dihaluskan menggunakan pastel hingga membentuk gel CMC 3% yang berwarna bening.
- 4) Ekstrak kental daun Kenitu diukur sebanyak 2 gram, kemudian dimasukkan ke dalam mortar. Lalu tambahkan gel CMC sebanyak 98 gram dan diaduk hingga diperoleh gel ekstrak daun Kenitu 2%.

3.9.2 Perlakuan Hewan Coba

- a. Setelah hewan coba diadaptasikan selama satu minggu, mukosa bukal kiri tikus diberi perlakuan luka bakar. Prosedur yang dilakukan adalah sebagai berikut:
 - 1) Tikus dianastesi menggunakan kombinasi ketamin-xylazine melalui injeksi intramuscular pada kaki tikus dengan dosis ketamin 25 mg/kg dan xylazine 15 mg/kg.
 - 2) Tikus diletakkan pada *rat dental chair* setelah teranastesi. Ciri-ciri tikus yang teranastesi adalah kondisi tikus perlahan lemas dan tidak bergerak.
 - 3) Buat luka pada mukosa bukal kiri tikus menggunakan *amalgam stopper* dengan luas penampang ± 2 mm yang telah dipanaskan di atas bunsen.
- b. Perlakuan hewan coba dimulai sejak hari pertama luka terbentuk dan dilakukan setiap hari hingga tikus dieutanasia sesuai dengan dengan hari yang telah ditentukan (hari ke-4, hari ke-7, hari ke-10 dan hari ke-13). Perlakuan yang diberikan yaitu:
 - 1) Kelompok kontrol (K) yang terdiri dari 16 ekor tikus. Tikus-tikus dilakukan perlukaan pada mukosa bukal kiri lalu dibiarkan proses penyembuhan normal dengan pemberian gel CMC 3% hingga tikus dieutanasia, kemudian di ambil jaringan bukal kirinya untuk proses pembuatan sediaan preperat jaringan.
 - a) Sub kelompok K hari ke-4 : pemberian gel CMC 3% dilakukan 2 kali sehari setiap hari hingga hari ke-4 setelah pembuatan luka bakar yaitu pada pukul 06.00 WIB dan pukul 18.00 WIB. Sebanyak 4 ekor tikus Wistar jantan dieutanasia setelah 12 jam dari pemberian gel CMC 3%. Kemudian, di ambil jaringan bukal kiri untuk selanjutnya dilakukan proses pembuatan jaringan.
 - b) Sub kelompok K hari ke-7 : pemberian gel CMC 3% dilakukan 2 kali sehari setiap hari hingga hari ke-7 setelah pembuatan luka bakar yaitu pada pukul 06.00 WIB dan pukul 18.00 WIB. Sebanyak 4 ekor tikus Wistar jantan dieutanasia setelah 12 jam dari pemberian gel CMC 3%. Kemudian, di ambil jaringan bukal kiri untuk selanjutnya dilakukan proses pembuatan jaringan.

- c) Sub kelompok K hari ke-10 : pemberian gel CMC 3% dilakukan 2 kali sehari setiap hari hingga hari ke-10 setelah pembuatan luka bakar yaitu pada pukul 06.00 WIB dan pukul 18.00 WIB. Sebanyak 4 ekor tikus Wistar jantan dieutanasia setelah 12 jam dari pemberian gel CMC 3%. Kemudian, di ambil jaringan bukal kiri untuk selanjutnya dilakukan proses pembuatan jaringan.
 - d) Sub kelompok K hari ke-13 : pemberian gel CMC 3% dilakukan 2 kali sehari setiap hari hingga hari ke-13 setelah pembuatan luka bakar yaitu pada pukul 06.00 WIB dan pukul 18.00 WIB. Sebanyak 4 ekor tikus Wistar jantan dieutanasia setelah 12 jam dari pemberian gel CMC 3%. Kemudian, di ambil jaringan bukal kiri untuk selanjutnya dilakukan proses pembuatan jaringan.
- 2) Kelompok perlakuan (P), yang terdiri dari 16 ekor tikus. Tikus-tikus dilakukan perlukaan pada mukosa bukal kiri lalu dibiarkan proses penyembuhan normal dengan pemberian gel ekstrak daun Kenitu 2% hingga tikus dieutanasia, kemudian di ambil jaringan bukal kirinya untuk proses pembuatan sediaan preparat jaringan.
- a) Sub kelompok P hari ke-4 : pemberian gel ekstrak daun Kenitu 2% dilakukan 2 kali sehari setiap hari hingga hari ke-4 setelah pembuatan luka bakar yaitu pada pukul 06.00 WIB dan pukul 18.00 WIB. Sebanyak 4 ekor tikus Wistar jantan dieutanasia setelah 12 jam dari pemberian gel ekstrak daun Kenitu 2%. Kemudian, di ambil jaringan bukal kiri untuk selanjutnya dilakukan proses pembuatan jaringan.
 - b) Sub kelompok P hari ke-7 : pemberian gel ekstrak daun Kenitu 2% dilakukan 2 kali sehari setiap hari hingga hari ke-7 setelah pembuatan luka bakar yaitu pada pukul 06.00 WIB dan pukul 18.00 WIB. Sebanyak 4 ekor tikus Wistar jantan dieutanasia setelah 12 jam dari pemberian gel ekstrak daun Kenitu 2%. Kemudian, di ambil jaringan bukal kiri untuk selanjutnya dilakukan proses pembuatan jaringan.

- c) Sub kelompok P hari ke-10 : pemberian gel ekstrak daun Kenitu 2% dilakukan 2 kali sehari setiap hari hingga hari ke-10 setelah dari pembuatan luka bakar yaitu pada pukul 06.00 WIB dan pukul 18.00 WIB. Sebanyak 4 ekor tikus Wistar jantan dieutanasia setelah 12 jam dari pemberian gel ekstrak daun Kenitu 2%. Kemudian, di ambil jaringan bukal kiri untuk selanjutnya dilakukan proses pembuatan jaringan.
- d) Sub kelompok P hari ke-13 : pemberian gel ekstrak daun Kenitu 2% dilakukan 2 kali sehari setiap hari hingga hari ke-13 setelah pembuatan luka bakar yaitu pada pukul 06.00 WIB dan pukul 18.00 WIB. Sebanyak 4 ekor tikus Wistar jantan dieutanasia setelah 12 jam dari pemberian gel ekstrak daun Kenitu 2%. Kemudian, di ambil jaringan bukal kiri untuk selanjutnya dilakukan proses pembuatan jaringan.

3.9.3 Aplikasi Gel Ekstrak Daun Kenitu 2%

Daerah sekitar luka bakar dibersihkan menggunakan *cotton pellet* sebelum aplikasi gel ekstrak daun Kenitu 2%. Gel diberikan pada mukosa bukal kiri tikus secara topikal menggunakan *syringe* tanpa jarum. Gel diberikan 2 kali sehari setiap hari yaitu pada pukul 06.00 WIB dan pukul 18.00 WIB. Gel diberikan hingga hari ke-4, ke-7, ke-10 dan ke-13. Kemudian dilakukan euthanasia setelah 12 jam dari pemberian gel ekstrak daun Kenitu 2% terakhir.

3.9.4 Eutanasia Hewan Coba

Eutanasia dilakukan 12 jam setelah pemberian gel ekstrak daun Kenitu 2% dan gel placebo terakhir yaitu pada hari ke-4, hari ke-7, hari ke-10 dan hari ke-13. Eutanasia hewan coba menggunakan metode over inhalasi dengan eter 5%. Tikus diletakkan kedalam wadah tertutup yang berisi kapas yang telah dibasahi eter 5% kemudian dilakukan pengambilan sampel.

3.9.5 Tahap Pembuatan Sediaan

Menurut Murti dkk. (2017), tahapan pembuatan preparat jaringan adalah sebagai berikut:

- a. Setelah tikus dikorbankan, dilakukan pengambilan jaringan sampel dengan metode biopsi insisi untuk pembuatan preparat jaringan
- b. Jaringan difiksasi selama kurang lebih 48 jam menggunakan larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10% agar tidak membusuk dan untuk melindungi struktur morfologi sel.
- c. Selanjutnya dilakukan dehidrasi menggunakan alkohol dengan konsentrasi bertingkat, dengan urutan alkohol 70 % selama 2 jam, alkohol 80% selama 2 jam, alkohol 90% selama 2 jam, alkohol 95% selama 2 jam, alkohol 100% (I) selama 2 jam, dan alkohol 100% (II) selama 2 jam.
- d. Proses *clearing* yaitu proses penjernihan jaringan dengan menggunakan *xylol*, dengan urutan *xylol* I selama 1 jam, *xylol* II selama 1 jam, *xylol* III selama 1 jam.
- e. Tahap impregnasi yaitu proses infiltrasi bahan *embedding* ke dalam jaringan pada suhu 60°C. Jaringan dibungkus dengan kertas saring yang diberi label kemudian dimasukkan ke dalam parafin cair, dengan urutan parafin 1 selama 1 jam, parafin 2 selama 1 jam, parafin 3 selama 1 jam.
- f. Penanaman dalam parafin. Cetakan dari bahan stainless steel dihangatkan di atas api bunsen, lalu pada setiap cetakan dimasukkan jaringan sambil diatur dan sedikit ditekan. Sementara ditempat lain telah disiapkan parafin cair dengan 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 dalam almari pendingin sebelum dilakukan pemotongan.
- g. Tahap penyayatan jaringan. Penyayatan dilakukan dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan berkisar 5 µm. Potongan tersebut diletakkan secara hati-hati di atas permukaan air dingin, dirapikan dengan kuas sampai tidak ada permukaan yang menggulung kemudian dengan kaca obyek sayatan jaringan diambil dan dikembangkan dalam *waterbath* bersuhu 37°C. Bentuk

irisan dirapikan kembalikan hingga jaringan mengembang, kemudian diletakkan di atas kaca obyektif yang telah diolesi *meyer egg albumin*, yang berfungsi sebagai bahan perekat. Kaca obyektif dengan jaringan di atasnya diletakkan di atas slide warmer selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah 24 jam preparat siap untuk diwarnai.

3.9.6 Tahap Pewarnaan *Trichrome Masson*

Tahap pewarnaan dengan *Trichrome Masson* antara lain (Dey, 2018):

- a. Deparafinisasi sediaan menggunakan larutan *clearing* yaitu sediaan dimasukkan ke dalam *xylol* pada 3 wadah masing-masing selama 3 menit.
- b. Rehidrasi sediaan dengan cara direndam dalam alkohol bertingkat dari 97%, 95% dan 80 % masing-masing selama 3 menit dan bilas dengan air mengalir.
- c. *Object glass* direndam dengan larutan 1 yang berisi *acid fuchsine* 0,5 gram dan akuades 100 ml selama 10 menit dan di bilas dengan air mengalir.
- d. *Object glass* direndam dengan larutan 2 yang berisi *phosphomolibdic acid* 1 gram dan akuades 100 ml selama 5 menit dan dibilas dengan air mengalir.
- e. *Object glass* direndam dalam larutan 3 yang berisi *aniline blue* 0,5 gram, *orange G* 2,0 gram, *oxalic acid* 1,0 gram dan akuades 100 ml selama 5 menit dan dibilas dengan air mengalir.
- f. Dehidrasi sediaan dengan alkohol bertingkat 80%, 95% dan 97% lalu keringkan.
- g. *Clearing* sediaan dengan cara sediaan dimasukkan ke dalam *xylol* pada 3 wadah masing-masing selama 3 menit.
- h. *Mounting* menggunakan *Canada balsam* dan ditutup dengan gelas penutup.

3.9.7 Tahap Pengamatan dan Perhitungan Kepadatan Kolagen

Pengamatan preparat histologis menggunakan mikroskop binokuler *Olympus CX 21*[®] dengan kamera *Optilab Advance Plus* beserta driver *Optilab 3.0* yang dilakukan dengan tiga lapang pandang. Tahapan pengamatan antara lain:

- a. Daerah luka ditentukan dengan perbesaran 40x
- b. Daerah yang diamati ditentukan dengan perbesaran 400x
- c. Daerah yang diamati kemudian difoto menggunakan kamera Optilab *Advance Plus* pada mikroskop binokuler. Proses perhitungan kepadatan kolagen diamati dengan aplikasi *ImageJ 1.52t*.

3.9.8 Tahap Penggunaan Aplikasi *ImageJ 1.52t*

Menurut Chen dkk. (2017) terdapat empat tahapan utama dalam mengukur kepadatan kolagen dengan aplikasi *ImageJ 1.52t* dengan sedikit modifikasi antara lain (Lihat Gambar 3.1) (Chen *et al*, 2017):

- a. Install aplikasi *ImageJ 1.52t* dan plugin

Setelah melakukan instalasi aplikasi *ImageJ*, kemudian buka aplikasi tersebut. Setelah itu, melakukan akuisisi gambar dengan empat tahap antara lain:

- 1) Buka gambar dengan klik “*File*” lalu “*Open*”. Pilih gambar yang akan digunakan.
- 2) Seluruh gambar harus dalam kondisi identik dengan jaringan histologis yang diamati. Untuk menghindari jarak pendek pada skala abu-abu (0-255), eksposur otomatis dan *white balance* harus dimatikan. Seluruh gambar harus didigitalkan dan disimpan dalam format file gambar yang ditandai tanpa tag (*tiff*) dengan RGB 24-bit dan resolusi 4100 × 3075 piksel.

- b. Pengaturan skala

Skala diukur dengan “*Straight*” *line tool*. Kemudian untuk mengatur panjang bilah skala di kotak, maka buka menu “*Analyze*” pilih “*Set Scale*”. Atur panjang garis pada “*Known Distance*” dan mengatur unit satuan (μm) dalam kotak “*Unit of Length*” di bawah kotak dialog “*Set Scale*”.

- c. *Color deconvolution*

Pemisahan melalui *color deconvolution* menyediakan cara untuk memisahkan serat kolagen dari daerah yang tumpang tindih. Dasar dari metode ini adalah untuk memisahkan kanal warna dengan melakukan transformasi ortonormal

dari informasi RGB gambar. Selama *color deconvolution*, gambar dibuka, dan langkah-langkah berikut diterapkan.

- 1) Gambar yang telah diinput kemudian dikonversi ke gambar RGB dengan membuka menu "Image", klik kotak "Type", dan memilih perintah "RGB Color" untuk mengonversi gambar.
- 2) Gambar dengan pewarnaan *Trichrome Masson* diproses menggunakan plugin "Color Deconvolution" dengan mengklik "Color Deconvolution" di menu "Plugins". Setelah kotak dialog "Color Deconvolution" muncul, pilih "Masson Trichrome" pada kotak "Vectors" untuk mendekonvolusikan gambar ke dalam kanal merah, biru dan hijau; kanal biru diidentifikasi sebagai serat kolagen.

d. Kuantifikasi serat kolagen.

Daerah serat kolagen yang berwarna biru diukur dengan membuka menu "Image", klik pada kotak "Adjust", dan mengisolasi area biru dari serat kolagen menggunakan alat "Threshold". Ambang warna disesuaikan secara manual hingga seluruh area biru disorot dalam warna merah. Kemudian, langkah-langkah pengukuran area ambang dilakukan sebagai berikut:

- 1) Buka kotak dialog "Set Measurements" di bawah menu "Analyze".
- 2) Centang "Area", "Integrated Intensity", "Area Fraction" dan "Limit to Threshold" lalu klik "Ok".
- 3) Klik "Measurement" di bawah menu "Analyze". Hasilnya akan disajikan di jendela "Result" dalam bentuk persentase kepadatan kolagen.

Analisis berbasis area ini digunakan untuk mengekstraksi dan mengukur wilayah minat berdasarkan warna dari gambar.

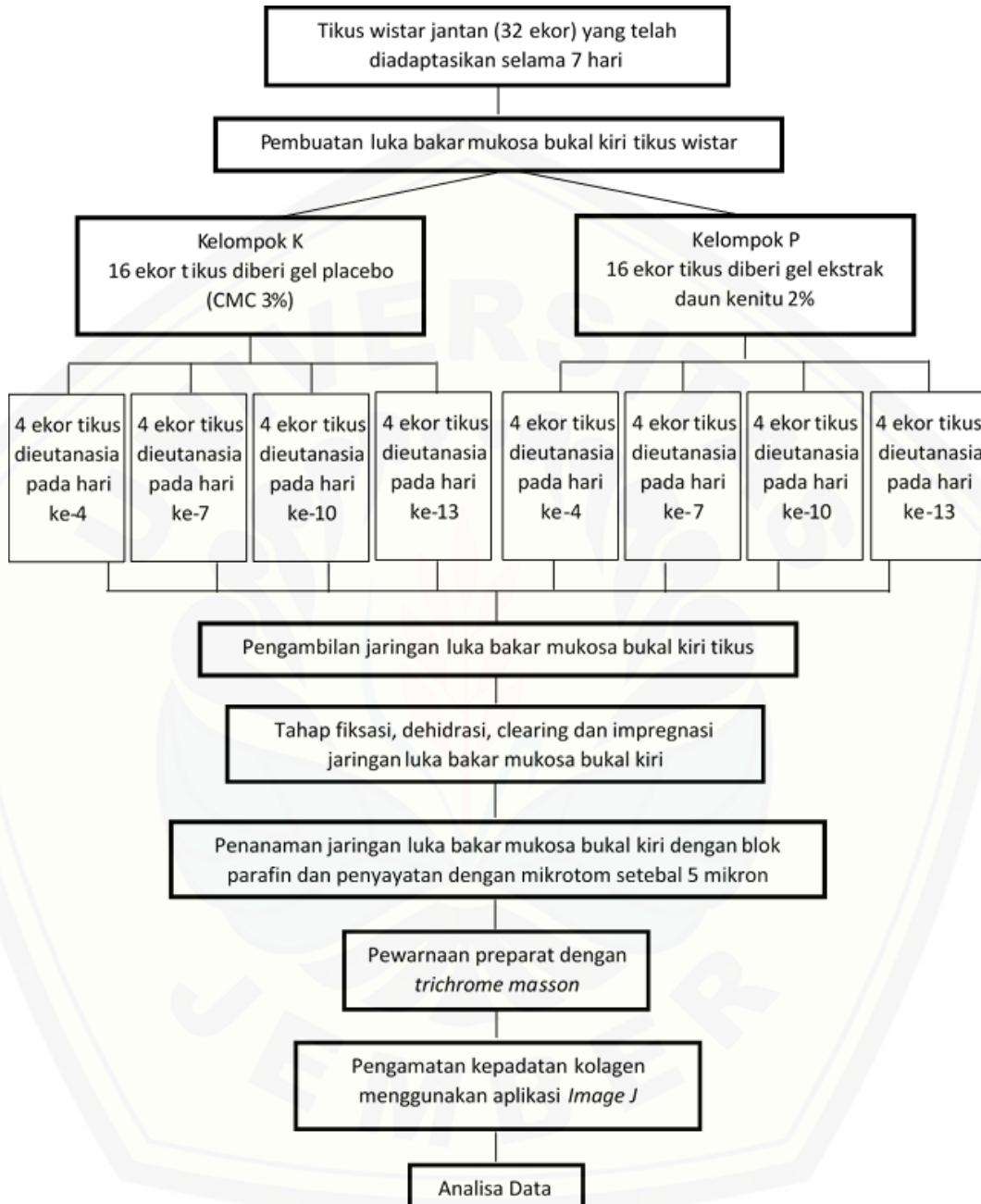
3.10 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Lavene*. Nilai signifikansi (p) $> 0,05$ menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen. Selanjutnya, dilakukan uji parametrik menggunakan uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *LSD*

(*Least Significant Differece*) untuk mengetahui perbedaan pada masing-masing kelompok. Nilai signifikansi (p) $< 0,05$ menunjukkan data berbeda secara signifikan (Halim dkk., 2019). Analisis data dilakukan dengan bantuan program statistik SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versi 25.00.



3.11 Alur Penelitian



Gambar 3.6 Gambar 3.5 Alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian ini, diperoleh kesimpulan bahwa pemberian gel ekstrak daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) berpengaruh dalam meningkatkan kepadatan kolagen pada penyembuhan luka bakar mukosa bukal tikus Wistar.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan yaitu:

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada mediator penyembuhan luka yang lain selain kepadatan kolagen.
- b. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai aplikasi ekstrak daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) dengan bentuk sediaan lain.
- c. Penelitian ini dilakukan pada luka bakar mukosa bukal tikus wistar sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai aplikasi gel ekstrak daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) pada luka di lokasi yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrahmat, A. S. 2014. Luka, peradangan dan pemulihan. *Jurnal Entropi*. 9(1): 72-23.
- Akbar, M., N. Helijanti, M. A. Munir, dan A. Sofyan. 2019. Conjunctival laceration of the tarsalis palpebra inferior et causing by a fishing hook. *Journal Medical Profession*. 1(2):152-166.
- Anura, A. 2014. Traumatic oral mucosal lesions : a mini review and clinical update. *OHDM*. 13(2): 254-259.
- Azwanida, N. 2015. A review on the extraction methods use in medical plants, principle, strength and limitation. *Medical and Aromatic Plant*. 4(03): 3-8.
- Balakrishnan, B., S. Paramasivam, dan A. Arulkumar. 2014. Evaluation of the lemongrass plant (*Cymbopogon citratus*) extracted in different solvents for antioxidant and antibacterial activity against human pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 4(1): S134-S139.
- Berman, B., A. Maderal, dan B. Raphael. 2017. Keloids and hypertrophic scars: pathophysiology, classification, and treatment. *Dermatologic Surgery*. 43: S3–S18.
- Brand, H. S., A. J. M. Ligtenberg, dan E. C. I. Veerman. 2014. Saliva and wound healing. *Monographs in Oral Science*. 24:52–60.
- Chen, Y., Q. Yu, dan C. B. Xu. 2017. A convenient method for quantifying collagen fibers in atherosclerotic lesions by imagej software. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 10(10):14904–14910.
- Chia, Y. C., R. Rajbanshi, C. Calhoun, dan R. H. Chiu. 2010. Anti-neoplastic effects of gallic acid, a major component of toona sinensis leaf extract, on oral squamous carcinoma cells. *Molecules*. 15(11): 8377-8389.
- Cowan, D., B. Ho, K. J. Sykes, dan J. L. Wei. 2013. International journal of pediatric otorhinolaryngology pediatric oral burns : a ten-year review of

patient characteristics , etiologies and treatment outcomes. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 77(8): 1325–1328.

Das, A., I. R. Dato, B. N. Badaruddin dan B. Amiya. 2010. A Brief Review on *Chrysophyllum caimito*. *IJPI's Journal of Pharmacognosy and Herbal Formulations*. 1(1): 1-7.

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

Dewi, A. K. 2019. Pembentukan kolagen dalam menentukan kualitas penyembuhan luka. *Majalah Biomorfologi*. 25(1): 17-20.

Dey, P. 2018. *Connective tissue stain: principle and procedure*. Dalam Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology. Singapura: Springer.

Elmitra. 2017. *Dasar-dasar Farmasetika dan Sediaan Semi Solid*. Yogyakarta: Grup Penerbitan CV Budi Utama.

Eming, S. A., T. Krieg, dan J. M. Davidson. 2007. Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*. 127(3) : 514-525.

Fabiyi, O. A., A. Olubunmi, O. S. Adeyemi, dan G. A. Olatunji. 2012. Antioxidant and cytotoxicity of β -amyrin acetate fraction from *bridelia ferruginea* leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(2): S981–S984.

Fawcett, D. W. 2002. *Buku Ajar Histologi*. Jakarta: EGC.

Galicka, A. dan J. Nazaruk. 2007. Stimulation of collagen biosynthesis by flavonoid glycosides in skin fibroblasts of osteogenesis imperfecta type I and the potential mechanism of their action. *International journal of molecular medicine*. 20(6): 889-895.

Glim, J. E., M. Van Egmond, F. B. Niessen, V. Everts, dan R. H. J. Beelen. 2013. Detrimental dermal wound healing: What can we learn from the oral mucosa.

International Journal of tissue repair and regeneration. 21(5): 648-660.

Gupta, D. S., D. V. Lohe, dan D. R. Bhowate. 2018. Comparison of efficacy of natural honey and triamcinolone acetone (0.1%) in the healing of oral ulcers—a clinical study. *Journal of Apitherapy*. 3(1): 1–8.

Halim, S., Girsang, E., Lister, I. N. E., dan Nasution, A. N. 2019. Effectivity of Gel Ethanolic Extract of Senggani Leaves (*Melastoma candidum* D. Don) In Increasing The Number of Fibroblast Cells and Thickness of Collagen Fibers Against Socket Wound after Tooth Extraction on Male White Rats. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS)*. 60(1): 159-173.

Hand, A. R. dan M. E. Frank. 2014. *Fundamentals of Oral Histology and Physiology*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

Handayani, S., S. Atun, N. Aznam, dan K. S. Budiasih. 2017. Penyuluhan dan pelatihan teknologi pemanfaatan tanaman obat berbasis kearifan dan sumber daya alam local untuk perbaikan tingkat kesehatan masyarakat desa Karang Sari Wedomartani Sleman. *J Pengabdian Masyarakat MIPA dan Pendidikan MIPA*. 1(1): 1-5.

Hidayat, M. A., U. Umiyah, dan E. U. Ulfa. 2007. Uji aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak metanol beberapa varian buah Kenit (Chrysophyllum cainito L.) dari daerah Jember. *Journal of Biological Researches*. 13(1): 45–50.

Junqueira, L.C., J. Carneiro, dan Robert. 2012. *Histologi Dasar. Edisi 12*. Jakarta: EGC

Kaewthawee, N. dan S. Brimson. 2013. The effects of ursolic acid on cytokine production via the mapk pathways in leukemic T-cells. *EXCLI Journal*. 12: 102-114.

Kannan, S., B. Chandrasekaran, S. Muthusamy, P. Sidhu, dan N. Suresh. 2014. Thermal burn of palate in an elderly diabetic patient. *Gerodontology*. 31(2): 149–152.

Kartika, R. W., B. Bedah, J. Paru, dan A. P. Luka. 2015. Perawatan luka kronis dengan modern dressing. *CDK-230*. 42(7): 546-550.

- Koffi, N., A. K. Ernest, T. Marie-solange, K. Beugré, dan Z. G. Noël. 2009. Effect of aqueous extract of chrysophyllum cainito leaves on the glycaemia of diabetic rabbits. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 3(10): 501–506.
- Koray, M. dan T. Tosun. 2019. *Oral Mucosal Trauma and Injuries*. Dalam Trauma in Dentistry. London: IntechOpen.
- Kumar, V., R. S. Cotran dan S. L. Robbins. 2013. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Edisi 7. Jakarta: EGC.
- Lee, H. S., S. E. Jung, S. K. Kim, Y. S. Kim, S. Sohn, dan Y. C. Kim. 2017. Low-level light therapy with 410 nm light emitting diode suppresses collagen synthesis in human keloid fibroblasts: an in vitro study. *Annals of Dermatology*. 29(2): 149–155.
- Lim, H. dan H. P. Kim. 2007. Inhibition of mammalian collagenase , matrix metalloproteinase-1, by naturally-occurring flavonoids. *Planta medica*. 73(12): 1267-1274.
- Lim, T. K. dan T. K. Lim. 2013. *Chrysophyllum cainito* : Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants. Dordrecht: Springer.
- Marks, D. B., A. D. Marks dan Collen M. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar : Sebuah Pendekatan Klinis*. Jakarta: EGC.
- McDonald III, R. W., K. Fraivillig, A. Shciano, E. Vansant dan L. Hansen. 2015. Dissolvable Strip For Treatment of Oral Thermal Burns. *U.S. Patent Application*. 14/573,420.
- Mehrotra, D. 2019. *Premalignant Conditions of the Oral Cavity*. Singapore: Springer
- Meira, N. A., L. C. Klein, L. W. Rocha, Z. M. Quintal, F. D. Monache, V. Cechinel Filho, dan N. L. M. Quintão. 2014. Anti-inflammatory and anti-hypersensitive effects of the crude extract, fractions and triterpenes obtained from chrysophyllum cainito leaves in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 151(2): 975–983.

- Mortazavi, H., Y. Safi, M. Baharvand, dan S. Rahmani. 2016. Diagnostic features of common oral ulcerative lesions: an updated decision tree. *International Journal of Dentistry*. 2016: 1-14.
- Morton, J. 2004. *Fruits of Warm Climates*. Miami: Creative Resource System.
- Mulawarmanti, D. dan N. Prameswari. 2015. Efektifitas Perbandingan Kombinasi Clindamycin dan Ekstrak *Nannochloropsis Oculata* Terhadap Peningkatan Kepadatan Kolagen Pada Osteomielitis Mandibula. *DENTA Jurnal Kedokteran Gigi*. 9(1): 64-73.
- Murray, R. K. 2014. *Biokimia Harper Edisi 27*. Jakarta: EGC.
- Murti, D. A., M. N. Salim dan M. Sabri. 2017. Efektifitas salep getah jarak pagar (*Jatropha curcas* L) pada fase epitelisasi penyembuhan luka sayat kulit mencit (*Mus musculus*) dengan pewarnaan masson trichrome. *Jimvet*. 01(3): 465–472.
- Najm, M. J. 2013. Prevalence of oral mucosal lesions in patients attending college of dentistry – Basrah university. *Mustansiria Dental Journal*. 10(1): 116–123.
- Nanci, A. 2018. *Ten Cate's oral histology : development, structure and function. Edisi 9*. Saint Louis: Elsevier.
- Neves, C. R., J. Buskermolen, S. Roffel, T. Waaijman, M. Thon, E. Veerman, dan S. Gibbs. 2019. Human saliva stimulates skin and oral wound healing in vitro. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. 13(6): 1079-1092.
- Ningsih, I. Y. 2016. Studi etnofarmasi penggunaan tumbuhan obat oleh suku tengger di kabupaten Lumajang dan Malang, Jawa Timur. *Pharmacy*. 13(01): 10-20.
- Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Parinduri, A. G. 2017. Trauma tumpul. *Jurnal Ibnu Sina Biomedika*. 1(2):29–36.
- Peate, I. 2017. *Fundamentals of Applied Pathophysiology: An Essential Guide for Nursing and Healthcare Students*. New Jersey: John Wiley & Sons.

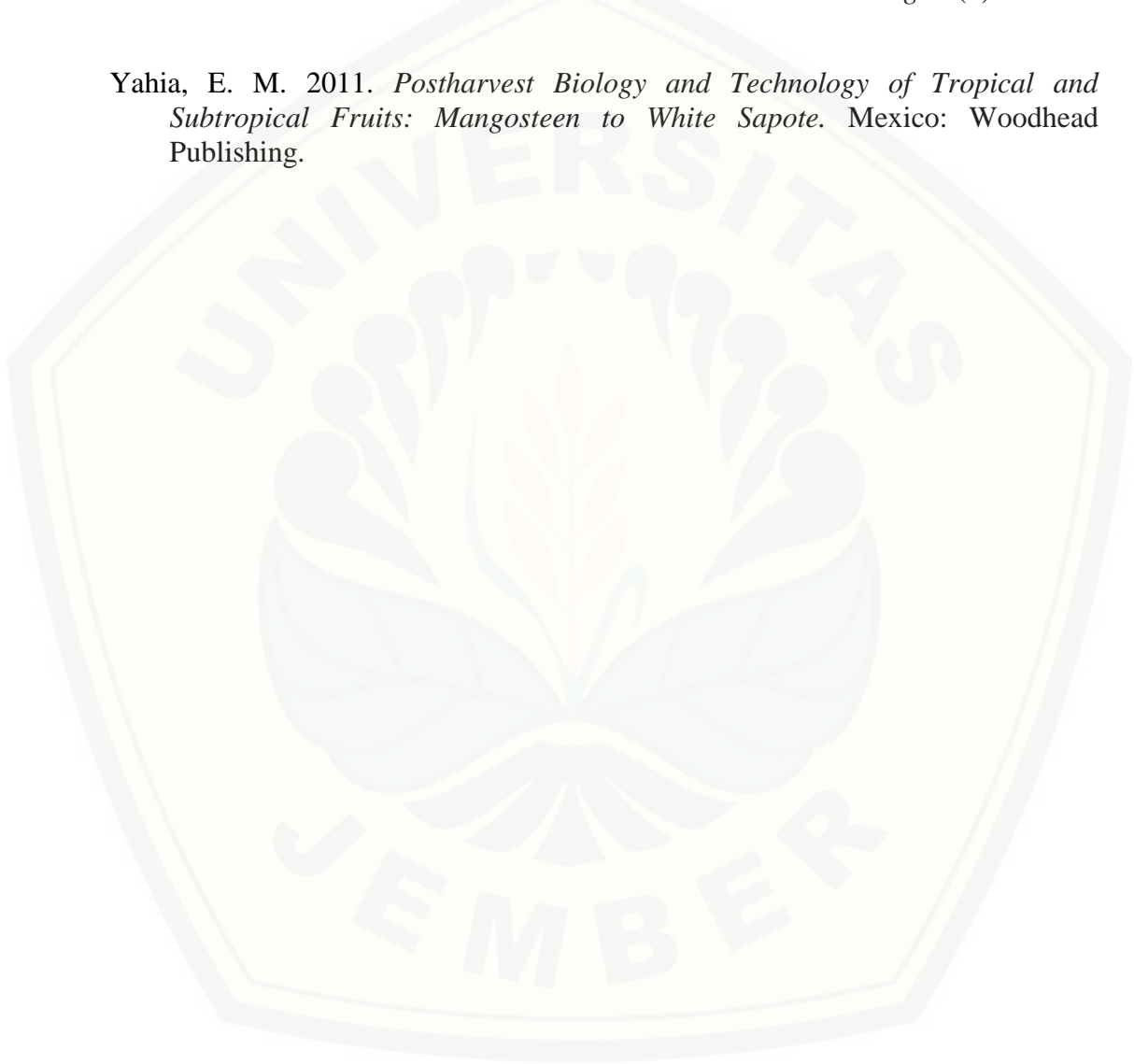
- Phore, S. dan R. S. Panchal. 2017. Traumatic oral lesions: pictorial essay. *Medical Journal of Dr. D. Y. Patil Visyapeeth*. 11(2): 94-98.
- Prashith, K., H. Raghavendra, N. Mallikarjun, D. Swathi, Y. Suchitha, K. Anil, dan K. Vinayaka. 2014. Elemental analysis and biological activities of *chrysophyllum roxburghii* g. don (sapotaceae) leaves. *Science, Technology and Arts Research Journal*. 3(1): 14-20.
- Primadina, N., A. Basori, dan D. S. Perdanakusuma. 2019. Proses penyembuhan luka ditinjau dari aspek mekanisme seluler dan molekuler. *Qanun Medika - Medical Journal Faculty of Medicine Muhammadiyah Surabaya*. 3(1): 31-43.
- Rajan, V. dan R. Murray. 2008. The duplicitous nature of inflammation in wound repair. *Wound Practice & Research: Journal of the Australian Wound Management Association*. 16(3): 122-129.
- Rinaldi, R., F. Fauziah, dan Y. Musfira. 2019. Studi formulasi dan efektivitas gel ekstrak etanol daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap penyembuhan luka bakar pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Jurnal Dunia Farmasi*. 4(1): 23-33.
- Robinson, J. K., C. W. Hanke, R. D. Sengelmann, dan D. M. Siegel. 2014. *Surgery of the Skin*. Philadelphia : Saunders Elsevier Health Sciences.
- Serra, M. B., W. A. Barroso, N. N. Da Silva, S. D. N. Silva, A. C. R. Borges, I. C. Abreu, dan M. O. D. R. Borges. 2017. From inflammation to current and alternative therapies involved in wound healing. *International Journal of Inflammation*. 2017: 1-17.
- Shailajan, S. dan D. Gurjar. 2014. Pharmacognostic and phytochemical evaluation of *Chrysophyllum cainito* Linn. leaves. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 26(1): 106-111.
- Shailajan, S. dan D. Gurjar. 2016. Wound healing activity of *Chrysophyllum cainito* L. leaves: evaluation in rats using excision wound model. *Journal of Young Pharmacists*. 8(2): 96-103.
- Sherwood, L. 2013. *Human Anatomy and Physiology from Cell to System*. Dalam Fisiologi Manusia Dari Sel Ke Sistem. Edisi 8. Jakarta: EGC.

- Shoulders, M. D. dan R. T. Raines. 2009. Collagen structure and stability. *Annual Review of Biochemistry*. 78: 929-958.
- Singla, S., A. Verma, S. Goyal, I. Singla, dan A. Shetty. 2016. Injuries to oral soft tissues by different factors: a clinical study. *Indian Journal of Multidisciplinary Dentistry*. 6(1): 7-10.
- Sjamsuhidajat dan D. Jong. 2010. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta: EGC.
- Sjamsuhidajat, R. dan Wim. 2004. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Edisi 3. Jakarta: EGC.
- Sunarjo, L., Salikun, dan H. Rimbyastuti. 2015. Peranan pasta manggis terhadap kesembuhan ulkus akibat luka gores (pemeriksaan histo patologi anatomi). *Jurnal Riset Kesehatan*. 4(2): 779–785.
- Sutawijaya, R. B. 2009. *Gawat Darurat*. Yogyakarta: Aulia Publising.
- Toripah, S. S., J. Abidjulu, dan F. Wehantouw. 2014. Aktivitas antioksidan dan kandungan total fenolik ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* LAM). *Pharmacol*. 3(4): 37-43.
- USDA. 2019. *Chrysophyllum caimito* L. Star Apple. <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=CHCA10>. [Diakses pada 3 September 2019].
- Vieira, A. E., C. E. Repeke, S. De Barros Ferreira, P. M. Colavite, C. C. Biguetti, R. C. Oliveira, G. F. Assis, R. Taga, A. P. F. Trombone, dan G. P. Garlet. 2015. Intramembranous bone healing process subsequent to tooth extraction in mice: micro-computed tomography, histomorphometric and molecular characterization. *PLoS ONE*. 10(5): e0128021.
- Wahyuni, D. K., W. Ekasari, J. R. Witono dan H. Purnobasuki. 2016. *Toga Indonesia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Wombeogo dan Kuubire. 2014. *Trauma and Emergency Health Care Manual: A Guide for Nursing and Medical Students*. Bloomington: Author House.
- Wong, J. W., C. Gallant-Behm, C. Wiebe, K. Mak, D. A. Hart, H. Larjava, dan L.

Häkkinen. 2009. Wound healing in oral mucosa results in reduced scar formation as compared with skin: evidence from the red duroc pig model and humans. *Wound Repair and Regeneration*. 17(5): 717–729.

Wulandari, D. T., I. Karsini, dan D. Mulawarmanti. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun Mangrove Api-Api Putih (*Avicennia Alba*) terhadap kesembuhan ulkus traumatikus. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*. 9(1): 90-100.

Yahia, E. M. 2011. *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits: Mangosteen to White Sapote*. Mexico: Woodhead Publishing.



LAMPIRAN

Lampiran 3.1 Dokumentasi Alat dan Bahan

1. Alat Penelitian



Kandang Hewan Coba



Keterangan:

1. Timbangan digital
2. Eter
3. Tissue
4. Pinset

5. Arteri clam
6. Gunting bedah
7. Cutter
8. Spidol

9. Sarung tangan
10. *Rat dental chair*



Toples/Wadah Tertutup



Disposible Syringe



Keterangan :

1. Mikroskop binokuler *Olympus CX 21*®
2. *Automatic Tissue Processor*



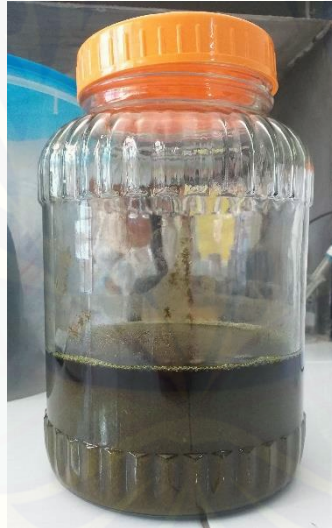
Mikrotom



Slide Warmer



Mesin penggiling



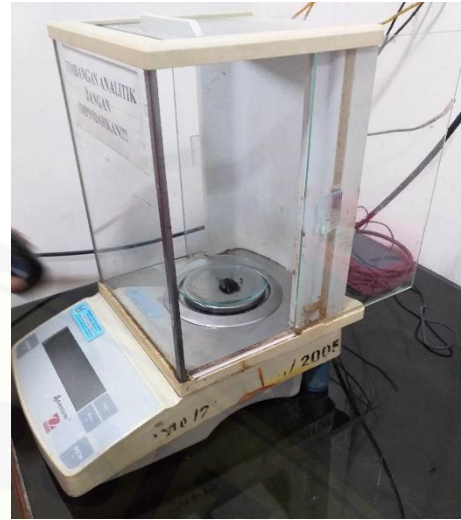
Toples kaca



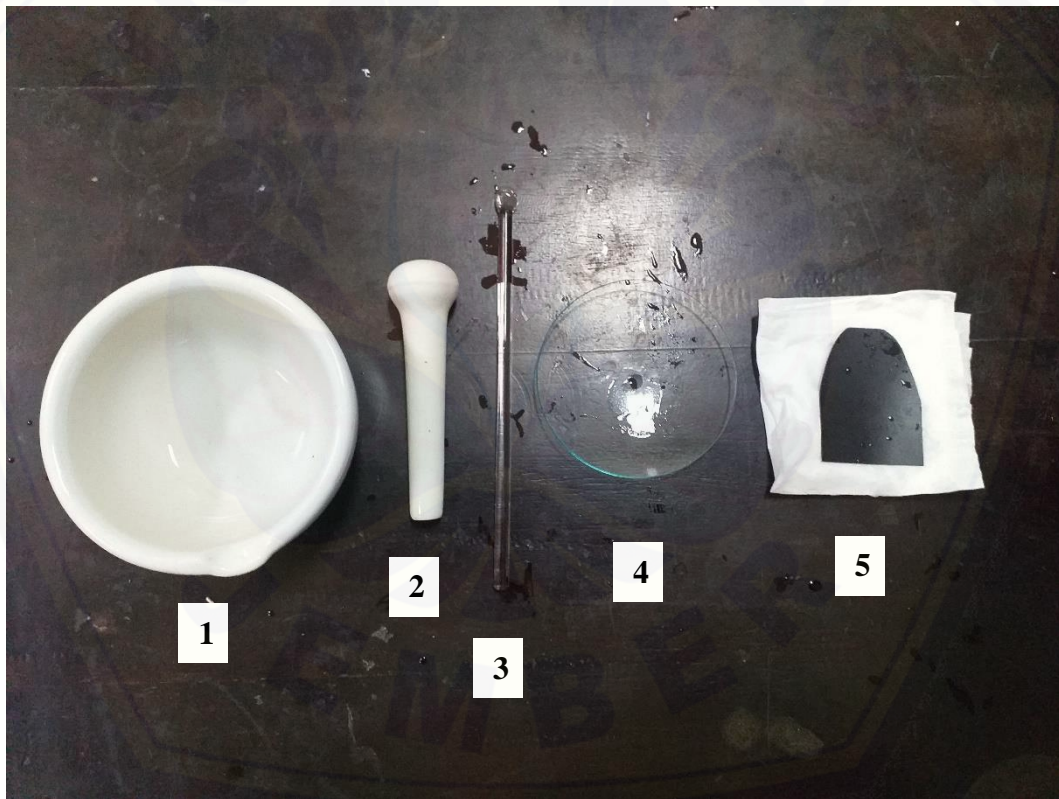
Rotary evaporator



Pot salep

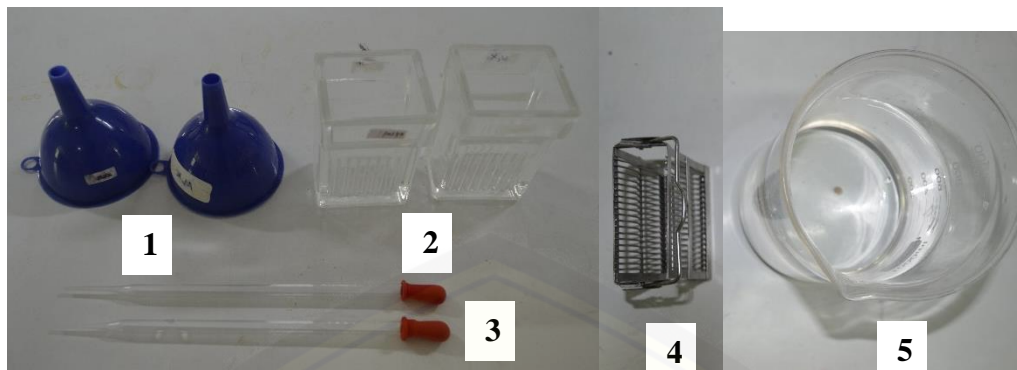


Timbangan analitik



Keterangan:

1. Mortar
2. Alu
3. Pengaduk
4. Gelas arloji
5. Solet



Keterangan:

1. Corong
2. *Staining jar*
3. Pipet
4. *Histological basket*
5. beaker glass



Optilab advance plus

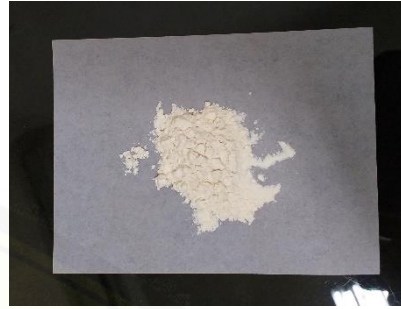


Waterbath

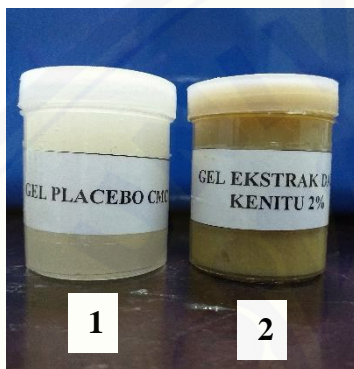
2. Bahan Penelitian



Daun Kenitu



CMC



1

2



3

4



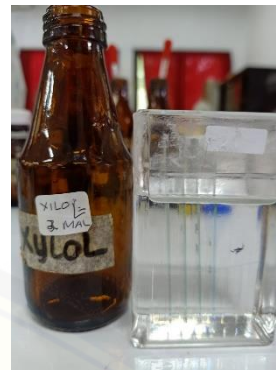
5

6

7

Keterangan :

1. Gel placebo (CMC 3%)
2. Gel ekstrak daun Kenitu 2%
3. Xylazine
4. Ketamin
5. *acid fuchsine*
6. *Phosphomolibdic*
7. *aniline blue*

*Xylol 1**Xylol 2*

Keterangan :


1. Alkohol 97% (1)
2. Alkohol 97% (2)
3. Alkohol 95% (1)
4. Alkohol 95% (2)
5. Alkohol 80%

Lampiran 3.2 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>ETHIC COMMITTEE APPROVAL No.811/UN25.8/KEPK/DL/2019</p>	
<p>Title of research protocol : " Effect of Star Apple (<i>Chrysophyllum Cainito</i> L.) Leaf Extract Gel on Collagen Dentistry on Burns Healing of Buccal Mucosa in Wistar Rats"</p>	
Document Approved	: Research Protocol
Pincipal investigator	: Innanisa Nur Azmi Hanafi
Member of research	: -
Responsible Physician	: Innanisa Nur Azmi Hanafi
Date of approval	: November 2019- Januari 2020
Place of research	: Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
<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, January 15th 2020</p>	
<p>Dean of Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>   (dra. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros.)	<p>Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>   (Dra. I. Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si.)

Lampiran 3.3 Keterangan Identifikasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
LABORATORIUM TANAMAN
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 49/PL17.3.1.02/LL/2019

Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember No: 7204/UN25.8.TL/2019 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Innanisa Nur Azmi Hanafi
NIM : 161610101070
Jur/Fak/PT : Fakultas Kedokteran Gigi/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Ericales; Famili: Sapotaceae; Genus: Chrysophyllum; Spesies: Chrysophyllum cainito, L.



Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 6 Desember 2019
Kad. Laboratorium Tanaman



Ir. Lilik Mastuti, MP
NIP. 195808201987032001

Lampiran 3.4 Laporan Hasil Ekstraksi Daun Kenitu

 Lab. AT	LABORATORIUM ANALISIS TERPADU JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN UNIVERSITAS JEMBER Kampus Tegalboto Jl. Kalimantan 37 – Jember 68121 Telp/Fax.: 0331-321786/0331-321784 - Email: labat_unej@yahoo.com			
LAPORAN HASIL UJI No. 19/LHU/LAT/2019				
Nomor Analisis :	19/11/2019	Nama Pengirim :	Innanisa Nur Azmi H.	
Contoh :	Daun kenitu	Alamat :	FKG UNEJ	
Diterima Tanggal :	04 November 2019			
Catatan Contoh :	Sampel diterima dalam kemasan plastik dalam bentuk daun kering			
Kode Sampel	Parameter Uji	Satuan	Hasil Uji	Metode Uji
A	Rendemen	gram	53,7146	Ekstraksi
Catatan : Parameter uji sesuai permintaan				
Jember, 20 November 2019 Kepala Laboratorium Analisis Terpadu  Dr. Puspita Sari, S.TP, M.Agr NIP. 197203011998022001				
Hal 1 dari 1 (Page 1 of 1)				

Lampiran 4.1 Data Hasil Penelitian

Kelompok Kontrol (gel placebo) Hari Ke-4

Tikus	Lapang Pandang	Hasil	Rata-rata
1	A	41,854	40,833
	B	37,808	
	C	42,836	
2	A	41,714	42,4
	B	43,198	
	C	42,289	
3	A	39,519	41,161
	B	41,7	
	C	42,264	
4	A	42,418	43,259
	B	43,345	
	C	44,015	

Kelompok Kontrol (gel placebo) Hari Ke-7

Tikus	Lapang Pandang	Hasil	Rata-rata
1	A	47,236	40,523
	B	32,877	
	C	41,455	
2	A	42,331	42,922
	B	39,96	
	C	46,474	
3	A	42,953	42,847
	B	43,387	

	C	42,202	
4	A	44,815	43,782
	B	43,818	
	C	42,714	

Kelompok Kontrol (gel placebo) Hari Ke-10

Tikus	Lapang Pandang	Hasil	Rata-rata
1	A	48,206	42,701
	B	40,171	
	C	39,725	
2	A	44,304	43,273
	B	42,109	
	C	43,406	
3	A	44,022	43,381
	B	43,067	
	C	43,053	
4	A	51,368	42,84
	B	38,506	
	C	38,646	

Kelompok Kontrol (gel placebo) Hari Ke-13

Tikus	Lapang Pandang	Hasil	Rata-rata
1	A	55,563	44,108
	B	41,74	
	C	35,021	
2	A	47,339	44,483

	B	42,283	
	C	43,826	
3	A	37,202	43,305
	B	42,026	
	C	50,687	
4	A	53,014	45,981
	B	40,316	
	C	44,613	

Kelompok Perlakuan (gel ekstrak daun Kenitu 2%) Hari Ke-4

Tikus	Lapang Pandang	Hasil	Rata-rata
1	A	45,577	44,62
	B	43,994	
	C	44,29	
2	A	42,805	42,553
	B	42,011	
	C	42,843	
3	A	41,614	41,759
	B	40,519	
	C	43,144	
4	A	44,844	43,743
	B	43,833	
	C	42,552	

Kelompok Perlakuan (gel ekstrak daun Kenitu 2%) Hari Ke-7

Tikus	Lapang Pandang	Hasil	Rata-rata
1	A	41,261	42,138
	B	41,703	
	C	43,45	
2	A	47,706	45,063
	B	43,549	
	C	43,934	
3	A	42,496	43,898
	B	44,334	
	C	44,864	
4	A	58,541	47,699
	B	39,2	
	C	45,355	

Kelompok Perlakuan (gel ekstrak daun Kenitu 2%) Hari Ke-10

Tikus	Lapang Pandang	Hasil	Rata-rata
1	A	44,096	45,2
	B	45,184	
	C	46,321	
2	A	47,159	45,156
	B	45,68	
	C	42,63	
3	A	45,177	46,778
	B	46,045	
	C	49,114	

4	A	41,879	42,113
	B	41,112	
	C	43,349	

Kelompok Perlakuan (gel ekstrak daun Kenitu 2%) Hari Ke-13

Tikus	Lapang Pandang	Hasil	Rata-rata
1	A	51,312	47,681
	B	44,913	
	C	46,818	
2	A	50,516	47,321
	B	43,935	
	C	47,512	
3	A	45,804	46,304
	B	49,035	
	C	44,072	
4	A	55,099	49,255
	B	40,857	
	C	51,808	

Kelompok Kontrol (Gel Placebo)

Sub Kelompok	Sampel	Kepadatan Kolagen (%)	Jumlah (%)	Rata-Rata (%)	Standar Deviasi
Hari Ke-4	1	40,833	167,653	41,913	1,123
	2	42,400			
	3	41,161			
	4	43,259			
Hari Ke-7	1	40,523	170,074	42,5185	1,396

	2	42,922			
	3	42,847			
	4	43,782			
Hari Ke-10	1	42,701	172,195	43,04875	0,329
	2	43,273			
	3	43,381			
	4	42,84			
Hari Ke-13	1	44,108	177,877	44,46925	1,121
	2	44,483			
	3	43,305			
	4	45,981			

Kelompok Perlakuan (Gel Ekstrak Daun Kenitu 2%)

Sub Kelompok	Sampel	Kepadatan Kolagen (%)	Jumlah (%)	Rata-Rata (%)	Standar Deviasi
Hari Ke-4	1	44,62	172,675	43,16875	1,265
	2	42,553			
	3	41,759			
	4	43,743			
Hari Ke-7	1	42,138	178,798	44,6995	2,333
	2	45,063			
	3	43,898			
	4	47,699			
Hari Ke-10	1	45,2	179,247	44,81175	1,951
	2	45,156			
	3	46,778			
	4	42,113			

Hari Ke-13	1	47,681	190,561	47,64025	1,224
	2	47,321			
	3	46,304			
	4	49,255			

Keterangan : Kepadatan kolagen dalam persentase *pixel area* dihitung menggunakan aplikasi *ImageJ 1.52t* dengan *plugin* “*Color Deconvolution*”.



Lampiran 4.2 Analisis Data

Uji Normalitas

Tests of Normality				
	Keterangan	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Pertambahan kepadatan kolagen	Placebo hari ke-4	.928	4	.584
	Placebo hari ke-7	.867	4	.287
	Placebo hari ke-10	.895	4	.405
	Placebo hari ke-13	.959	4	.771
	Kenitu hari ke-4	.975	4	.874
	Kenitu hari ke-7	.987	4	.943
	Kenitu hari ke-10	.904	4	.453
	Kenitu hari ke-13	.970	4	.839

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Pertambahan kepadatan kolagen	Based on Mean	1.068	7	24	.413
	Based on Median	.764	7	24	.623
	Based on Median and with adjusted df	.764	7	13.444	.626
	Based on trimmed mean	1.028	7	24	.438

Uji *One-way Anova*

ANOVA					
Pertambahan kepadatan kolagen					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	91.024	7	13.003	6.146	.000
Within Groups	50.777	24	2.116		
Total	141.801	31			

Uji *post hoc Least Significant Differece (LSD)*

Multiple Comparisons						
Dependent Variable: Pertambahan kepadatan kolagen						
LSD						
(I) Keterangan	(J) Keterangan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Placebo hari ke-4	Placebo hari ke-7	-.605250	1.028522	.562	-2.72801	1.51751
	Placebo hari ke-10	-1.135500	1.028522	.281	-3.25826	.98726
	Placebo hari ke-13	-2.556000*	1.028522	.020	-4.67876	-.43324
	Kenitu hari ke-4	-1.255500	1.028522	.234	-3.37826	.86726
	Kenitu hari ke-7	-2.786250*	1.028522	.012	-4.90901	-.66349
	Kenitu hari ke-10	-2.898500*	1.028522	.010	-5.02126	-.77574

	Kenitu hari ke-13	-5.727000*	1.028522	.000	-7.84976	-3.60424
Placebo hari ke-7	Placebo hari ke-4	.605250	1.028522	.562	-1.51751	2.72801
	Placebo hari ke-10	-.530250	1.028522	.611	-2.65301	1.59251
	Placebo hari ke-13	-1.950750	1.028522	.070	-4.07351	.17201
	Kenitu hari ke-4	-.650250	1.028522	.533	-2.77301	1.47251
	Kenitu hari ke-7	-2.181000*	1.028522	.044	-4.30376	-.05824
	Kenitu hari ke-10	-2.293250*	1.028522	.035	-4.41601	-.17049
	Kenitu hari ke-13	-5.121750*	1.028522	.000	-7.24451	-2.99899
	Placebo hari ke-10	Placebo hari ke-4	1.135500	1.028522	.281	-.98726
Placebo hari ke-7		.530250	1.028522	.611	-1.59251	2.65301
Placebo hari ke-13		-1.420500	1.028522	.180	-3.54326	.70226
Kenitu hari ke-4		-.120000	1.028522	.908	-2.24276	2.00276
Kenitu hari ke-7		-1.650750	1.028522	.122	-3.77351	.47201
Kenitu hari ke-10		-1.763000	1.028522	.099	-3.88576	.35976
Kenitu hari ke-13		-4.591500*	1.028522	.000	-6.71426	-2.46874
Placebo hari ke-13		Placebo hari ke-4	2.556000*	1.028522	.020	.43324
	Placebo hari ke-7	1.950750	1.028522	.070	-.17201	4.07351

	Placebo hari ke-10	1.420500	1.028522	.180	-.70226	3.54326
	Kenitu hari ke-4	1.300500	1.028522	.218	-.82226	3.42326
	Kenitu hari ke-7	-.230250	1.028522	.825	-2.35301	1.89251
	Kenitu hari ke-10	-.342500	1.028522	.742	-2.46526	1.78026
	Kenitu hari ke-13	-3.171000*	1.028522	.005	-5.29376	-1.04824
Kenitu hari ke-4	Placebo hari ke-4	1.255500	1.028522	.234	-.86726	3.37826
	Placebo hari ke-7	.650250	1.028522	.533	-1.47251	2.77301
	Placebo hari ke-10	.120000	1.028522	.908	-2.00276	2.24276
	Placebo hari ke-13	-1.300500	1.028522	.218	-3.42326	.82226
	Kenitu hari ke-7	-1.530750	1.028522	.150	-3.65351	.59201
	Kenitu hari ke-10	-1.643000	1.028522	.123	-3.76576	.47976
	Kenitu hari ke-13	-4.471500*	1.028522	.000	-6.59426	-2.34874
	Kenitu hari ke-7	Placebo hari ke-4	2.786250*	1.028522	.012	.66349
Placebo hari ke-7		2.181000*	1.028522	.044	.05824	4.30376
Placebo hari ke-10		1.650750	1.028522	.122	-.47201	3.77351
Placebo hari ke-13		.230250	1.028522	.825	-1.89251	2.35301
Kenitu hari ke-4		1.530750	1.028522	.150	-.59201	3.65351

	Kenitu hari ke-10	-.112250	1.028522	.914	-2.23501	2.01051
	Kenitu hari ke-13	-2.940750*	1.028522	.009	-5.06351	-.81799
Kenitu hari ke-10	Placebo hari ke-4	2.898500*	1.028522	.010	.77574	5.02126
	Placebo hari ke-7	2.293250*	1.028522	.035	.17049	4.41601
	Placebo hari ke-10	1.763000	1.028522	.099	-.35976	3.88576
	Placebo hari ke-13	.342500	1.028522	.742	-1.78026	2.46526
	Kenitu hari ke-4	1.643000	1.028522	.123	-.47976	3.76576
	Kenitu hari ke-7	.112250	1.028522	.914	-2.01051	2.23501
	Kenitu hari ke-13	-2.828500*	1.028522	.011	-4.95126	-.70574
Kenitu hari ke-13	Placebo hari ke-4	5.727000*	1.028522	.000	3.60424	7.84976
	Placebo hari ke-7	5.121750*	1.028522	.000	2.99899	7.24451
	Placebo hari ke-10	4.591500*	1.028522	.000	2.46874	6.71426
	Placebo hari ke-13	3.171000*	1.028522	.005	1.04824	5.29376
	Kenitu hari ke-4	4.471500*	1.028522	.000	2.34874	6.59426
	Kenitu hari ke-7	2.940750*	1.028522	.009	.81799	5.06351
	Kenitu hari ke-10	2.828500*	1.028522	.011	.70574	4.95126