



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

**SKRIPSI**

Oleh

**Septiana Dwi Rahayu**

**NIM 161610101072**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2020**



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

**SKRIPSI**

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

oleh

**Septiana Dwi Rahayu**

**NIM 161610101072**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2020**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua saya tercinta, Ayah Guntoro dan Ibu Rahayuningsih atas segala kasih sayang, kesabaran, dukungan, nasihat, serta doa yang tiada henti diberikan sampai saat ini;
2. Kakak saya Desilia Nanda Pratama yang selalu memberikan semangat dan motivasi kepada saya;
3. Seluruh guru dan dosen yang telah mendidik dan membimbing saya sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

**MOTTO**

Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya  
(terjemahan surah Al-Baqarah ayat 286)\*)

Mengapa khawatir? Jika anda telah melakukan yang terbaik yang anda bisa, maka  
khawatir tidak akan membuatnya menjadi lebih baik \*\*)



---

\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2011. *Al Quran dan Terjemahannya*. Banten: PT Kalim

\*\*\*) Disney, W. 2019. *Why Worry? If You've Done the Very Best You Can Then Worrying Won't Make It Any Better: Walt Disney Quote for Manifesting*. Manifesto Publishers.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Septiana Dwi Rahayu

NIM : 161610101072

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Gel Ekstrak Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) terhadap Reepitelisasi 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,

Septiana Dwi Rahayu

161610101072

**SKRIPSI**

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

Oleh

Septiana Dwi Rahayu  
NIM 161610101072

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 Reepitelisasi pada Penyembuhan Luka Bakar Mukosa Bukal Tikus Wistar” karya Septiana Dwi Rahayu telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 16 Juli 2020

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

**Tim Penguji**

Dosen Penguji Ketua,

Dosen Penguji Anggota,

drg. Zainul Cholid, Sp.BM.  
NIP 197105141998021001

drg. Budi Yuwono, M.Kes.  
NIP 196709141999031002

**Tim Pembimbing**

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Pendamping,

drg. Winny Adriatmoko, M.Kes.  
NIP 195610121984031002

drg. Muhammad Nurul Amin, M.Kes  
NIP 197702042002121002

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember

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

## RINGKASAN

**Pengaruh Gel Ekstrak Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) terhadap Reepitelisasi pada Penyembuhan Luka Bakar Mukosa Bukal Tikus Wistar;** Septiana Dwi Rahayu, 161610101072; 2020: 70 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Luka bakar baik termal maupun kimiawi, menjadi penyebab kerusakan jaringan yang paling umum terjadi, setelah trauma mekanik. Terapi luka bakar berupa eliminasi faktor penyebab dan terapi simptomatis, seperti pemberian analgesik lokal, antiinflamasi topikal seperti kortikosteroid, asam hialuronat, salin, antibiotik. Namun, perlu diketahui penggunaan jangka panjang dari obat ini memiliki beberapa efek samping seperti menekan sistem imun dan atrofi sel epitel. Daun kenitu diketahui mengandung  $\beta$ -amyrin asetat, asam galat, asam ursolat, kuersetin,  $\beta$ -sitosterol, dan zat-zat lain yang berpotensi sebagai antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi. Pemanfaatan daun kenitu sebagai alternatif penyembuhan luka dinilai memiliki efek samping yang rendah sehingga lebih aman, dapat mengurangi limbah, dan mudah didapat khususnya di Kabupaten Jember. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengkaji pengaruh gel ekstrak daun kenitu terhadap reepitelisasi pada proses penyembuhan luka bakar mukosa bukal tikus wistar.

Jenis penelitian yang digunakan adalah *experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Sampel penelitian adalah tikus wistar jantan sebanyak 32 ekor yang dibagi menjadi delapan kelompok, yaitu empat kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan. Luka bakar dibuat pada mukosa bukal sebelah kiri menggunakan amalgam stopper diameter  $\pm 2$  mm yang telah dipanaskan. Pada kelompok kontrol diberikan gel placebo CMC dan pada kelompok perlakuan diberikan gel ekstrak daun kenitu 2 % dua kali sehari. Eutanasia dilakukan pada hari ke-4, hari ke-7, hari ke-10, dan hari ke-13 kemudian dilakukan pembuatan sediaan histologis dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Pengukuran ketebalan epitel dilakukan pada tiga lapang pandang

menggunakan mikroskop cahaya binokuler *Olympus CX 41* perbesaran 400x dengan bantuan *software Optilab viewer 2.2* dan *Image raster 3.0*. Setelah itu, data dianalisa menggunakan aplikasi SPSS.

Hasil rata-rata ketebalan epitel paling rendah terjadi pada kelompok kontrol hari ke-4 dan paling tinggi pada kelompok perlakuan hari ke-13. Rata-rata ketebalan epitel pada kelompok kontrol hari ke-4 adalah  $7,356 \pm 8,803 \mu\text{m}$ ; kontrol hari ke-7 adalah  $30,890 \pm 4,390 \mu\text{m}$ ; kontrol hari ke-10 adalah  $60,058 \pm 6,799 \mu\text{m}$ ; dan kontrol hari ke-13 adalah  $6,575 \pm 5,635 \mu\text{m}$ . Sedangkan hasil rata-rata ketebalan epitel pada kelompok perlakuan hari ke-4 adalah  $34,844 \pm 5,842 \mu\text{m}$ ; perlakuan hari ke-7 adalah  $56,519 \pm 1,642 \mu\text{m}$ ; perlakuan hari ke-10 adalah  $98,222 \pm 5,637 \mu\text{m}$ ; dan perlakuan hari ke-13 adalah  $101.825 \pm 17.204 \mu\text{m}$ .

Hasil analisa data menunjukkan terdapat perbedaan ketebalan epitel yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan memiliki rata-rata ketebalan epitel lebih besar daripada kelompok kontrol, artinya pada kelompok perlakuan proses reepitelisasi berlangsung lebih cepat. Selain itu, terdapat peningkatan ketebalan epitel yang signifikan sejak hari ke-4 hingga hari ke-10 pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, namun terdapat peningkatan yang tidak signifikan antara hari ke-10 dan hari ke-13. Kesimpulan dari penelitian ini adalah gel ekstrak daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dapat mempercepat proses reepitelisasi pada penyembuhan luka bakar mukosa bukal tikus wistar.

## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Gel Ekstrak Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) terhadap Reepitelisasi 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. Orang tua saya tercinta Ayah Guntoro dan Ibu Rahayuningsih, serta kakak saya Desilia Nanda Pratama, atas segala kasih sayang, kesabaran, dukungan, nasihat, serta doa yang tiada henti diberikan sampai saat ini;
2. drg. R Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. drg. Winny Adriatmoko, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Muhammad Nurul Amin, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam membimbing sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
4. drg. Zainul Cholid, Sp.BM. selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Budi Yuwono, M.Kes. selaku Dosen Penguji Anggota atas saran dan bimbingan untuk perbaikan skripsi ini;
5. drg. Erawati Wulandari M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Akademik atas arahan dan motivasi yang telah diberikan;
6. Pak Ujang, Mba Qoim, Bu Sollihatus, Mas Agus, dan Bu Wahyu selaku teknisi dan analis yang turut membantu dan membimbing selama penelitian;
7. Innanisa Nur Azmi Hanafi sebagai rekan penelitian yang turut membantu dalam penyusunan skripsi ini;
8. Teman-teman DEXTRA FKG 2016 atas bantuan, kebersamaan, dan dukungan selama ini;

9. Semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak mungkin disebutkan satu persatu.

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

Jember, 16 Juli 2020

Penulis



**DAFTAR ISI**

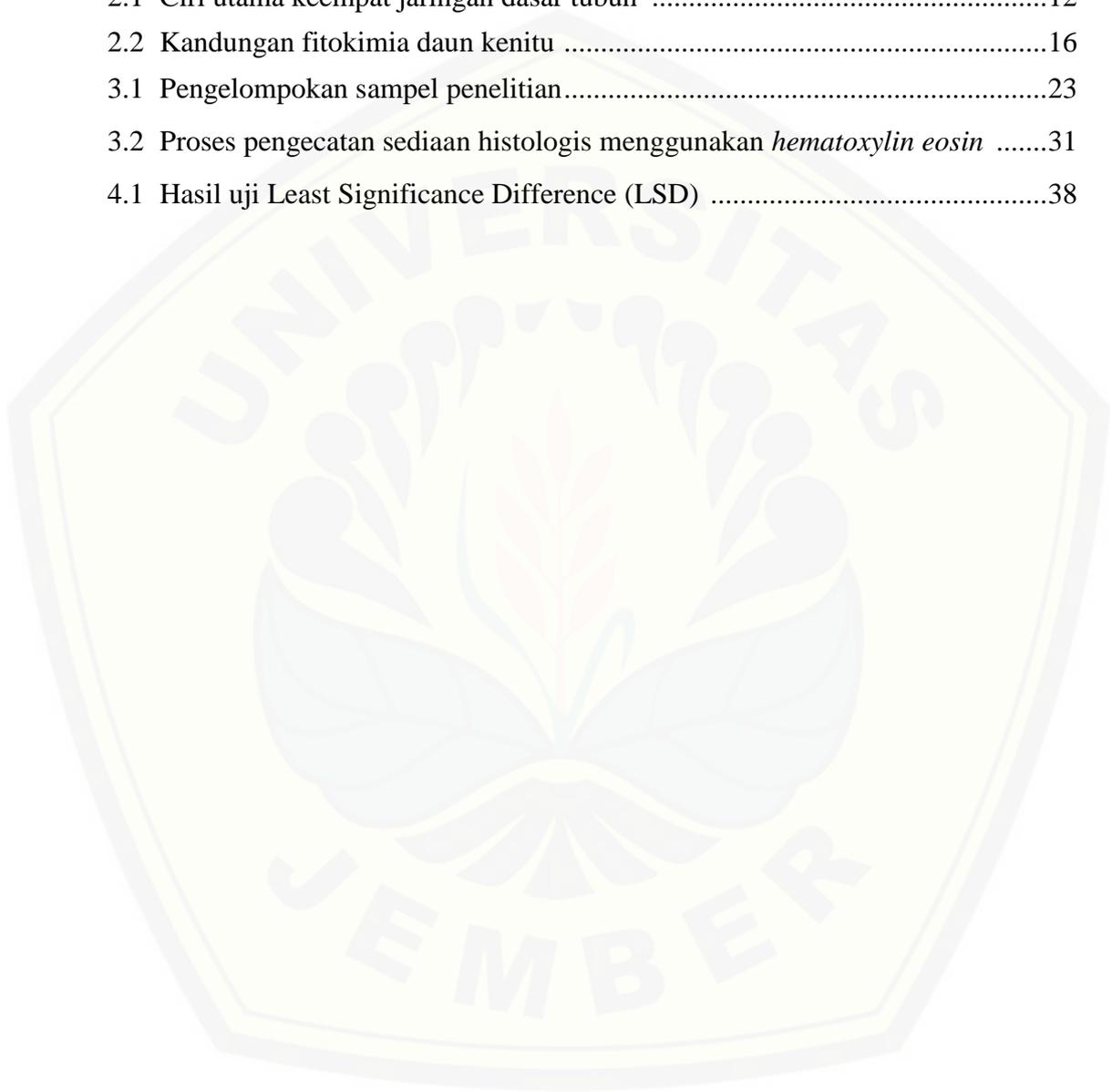
	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN BIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan</b> .....	3
<b>1.4 Mafaat</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Luka</b> .....	4
<b>2.2 Luka Bakar pada Mukosa Rongga Mulut</b> .....	4
<b>2.3 Proses Penyembuhan Luka Bakar pada Mukosa Rongga Mulut</b> .....	7
2.3.1 Fase Inflamasi.....	8
2.3.2 Fase Proliferasi (Granulasi dan Kontraksi) .....	9
2.3.3 Fase Remodeling (Maturase).....	11
<b>2.4 Epitel</b> .....	11
2.4.1 Pengertian dan Fungsi Jaringan Epitel .....	11
2.4.2 Gambaran Histologi Jaringan Epitel Mukosa Rongga Mulut .....	13
<b>2.5 Kenu</b> .....	14

2.5.1 Deskripsi dan Morfologi Tanaman Kenitu.....	14
2.5.2 Klasifikasi Tanaman Kenitu .....	14
2.5.3 Morfologi Tanaman Kenitu .....	15
2.5.4 Kandungan dan Efek Farmakologis Daun Kenitu .....	16
<b>2.6 Kerangka Konseptual Penelitian .....</b>	<b>18</b>
<b>2.7 Hipotesis .....</b>	<b>19</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 Rancangan Penelitian.....</b>	<b>20</b>
<b>3.3 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>21</b>
3.3.1 Tempat Penelitian .....	21
3.3.2 Waktu Penelitian .....	21
<b>3.4 Variabel Penelitian .....</b>	<b>21</b>
3.4.1 Variabel Bebas.....	21
3.4.2 Variabel Terikat.....	21
3.4.3 Variabel Terkendali .....	22
<b>3.5 Definisi Operasional .....</b>	<b>22</b>
3.5.1 Gel Ekstrak Daun Kenitu.....	22
3.5.2 Pemberian Gel Ekstrak Daun Kenitu.....	23
3.5.3 Ketebalan Epitel Mukosa Bukal .....	23
3.5.4 Luka Bakar pada Mukosa Bukal .....	23
<b>3.6 Sampel Penelitian .....</b>	<b>23</b>
3.6.1 Kriteria Sampel Penelitian.....	23
3.6.2 Besar Sampel Penelitian .....	24
3.6.3 Pengelompokan Sampel Penelitian .....	24
<b>3.7 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>25</b>
3.7.1 Alat Penelitian .....	25
3.7.2 Bahan Penelitian .....	26
<b>3.8 Penghitungan Dosis .....</b>	<b>26</b>
3.8.1 Dosis <i>Ketamine-Xylazine</i> .....	26
<b>3.9 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>27</b>
3.9.1 Persiapan.....	27

3.9.2 Perlakuan Hewan Coba .....	29
3.9.3 Eutanasia Hewan Coba.....	30
3.9.4 Pembuatan Sediaan Histologis .....	30
3.9.5 Pengukuran Ketebalan Epitel .....	32
<b>3.10 Analisis Data .....</b>	<b>33</b>
<b>3.11 Alur Penelitian .....</b>	<b>34</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>35</b>
<b>4.1 Hasil Penelitian .....</b>	<b>35</b>
<b>4.2 Analisis Data .....</b>	<b>38</b>
<b>4.3 Pembahasan .....</b>	<b>40</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>44</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>44</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>44</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>45</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>52</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Ciri utama keempat jaringan dasar tubuh .....	12
2.2 Kandungan fitokimia daun kenitu .....	16
3.1 Pengelompokan sampel penelitian.....	23
3.2 Proses pengecatan sediaan histologis menggunakan <i>hematoxylin eosin</i> .....	31
4.1 Hasil uji Least Significance Difference (LSD) .....	38



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Luka bakar pada mukosa bukal .....	6
2.2 Skema perbedaan penyembuhan luka antara mukosa rongga mulut dan kulit .....	7
2.3 Gambar mikroskopis struktur epitel mukosa rongga mulut ( <i>stratified squamous non-keratinized epithelium</i> ) dengan pewarnaan HE perbesaran 400x .....	13
2.4 Daun kenitu .....	15
2.5 Kerangka konseptual penelitian .....	18
3.1 Skema rancangan penelitian .....	19
3.2 Alur penelitian .....	19
4.1 Gambar mikroskopis pengukuran ketebalan epitel mukosa bukal tikus wistar pada bagian tengah luka dengan perbesaran 400x dan pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> .....	34
4.2 Histogram rata-rata ketebalan epitel ( $\mu\text{m}$ ) .....	35
4.3 Gambar mikroskopis <i>epithelial tongue</i> pada perbesaran 400x dengan pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> yang ditemukan pada tepi distal luka mukosa bukal tikus wistar .....	36
4.4 Gambar mikroskopis lapisan stratum korneum jaringan epitel mukosa bukal tikus wistar pada perbesaran 400x dan pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> yang ditemukan pada bagian tengah luka .....	37

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
3.1 <i>Ethical Clearance</i> .....	52
3.2 Surat Keterangan Identifikasi Tanaman .....	53
3.3 Laporan Hasil Ekstraksi Daun Kenitu .....	54
3.4 Dokumentasi Pembuatan Ekstrak Daun Kenitu .....	55
3.5 Dokumentasi Pembuatan Gel Placebo (CMC) dan Gel Ekstrak Daun Kenitu 2% .....	56
3.6 Dokumentasi Perlakuan Hewan Coba .....	57
3.7 Dokumentasi Pemrosesan Jaringan .....	58
3.8 Alat dan Bahan Penelitian .....	59
4.1 Gambar Mikroskopis Mukosa Bukal Tikus Wistar Pasca Pemberian Luka Bakar pada Perbesaran 40x dengan Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE) .....	63
4.2 Hasil Pengukuran Ketebalan Epitel .....	65
4.3. Hasil Analisis Statistik .....	66

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Luka adalah kerusakan jaringan yang disebabkan oleh adanya trauma mekanik, fisik (termal), maupun kimiawi. Luka bakar baik termal maupun kimiawi, menjadi penyebab kerusakan jaringan yang paling umum terjadi setelah trauma mekanik (Mardiyantoro dkk., 2018). Luka bakar pada mukosa rongga mulut sering terjadi pada anak-anak dan pasien muda, dimana umumnya disebabkan karena makanan atau minuman yang terlalu panas dengan prevalensi 24,6%, atau trauma iatrogenik seperti ketidaksengajaan praktisi ketika melakukan tindakan perawatan gigi dan mulut. Lokasi utama yang sering mengalami luka bakar rongga mulut yaitu mukosa bukal dengan prevalensi 77,3% (Regezi dan Verstraete, 2012; Cowan dkk., 2013).

Proses penyembuhan luka bakar secara umum terdiri atas tiga fase, yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling (maturase) (Tiwari, 2012). Pada fase inflamasi terjadi migrasi dan fagositosis oleh sel-sel inflamasi serta pelepasan mediator-mediator inflamasi. Fase proliferasi terdiri atas tiga proses utama antara lain, neoangiogenesis, pembentukan fibroblas, dan reepitelisasi. Sedangkan pada fase remodeling (maturasi), terjadi peningkatan integritas dan perkembangan jaringan baru (Mardiyantoro dkk., 2018; Primadina dkk., 2019). Reepitelisasi merupakan tahapan yang menjadi salah satu parameter utama dalam proses penyembuhan luka (Shai dan Maibach, 2005; Gupta dan Kumar, 2015).

Luka bakar pada mukosa rongga mulut secara normal dapat sembuh dengan sendirinya, namun keluhan seperti rasa sakit yang dialami pasien dapat menimbulkan gangguan pada fungsi bicara dan mastikasi. Oleh karena itu selain eliminasi faktor penyebab, diperlukan suatu terapi simtomatis untuk mengurangi keluhan yang dirasakan selama proses penyembuhannya (Deshmukh dan Bagewadi, 2014; Puspitasari dan Apriasari, 2017).

Obat yang digunakan dalam penyembuhan luka bakar umumnya berupa gel yang mengandung anti-inflamasi, antiseptik, dan anestesi topikal. Namun, perlu

diketahui penggunaan jangka panjang dari obat ini memiliki beberapa efek samping seperti menekan sistem imun, atrofi sel epitel, hiperpigmentasi, dan supresi adrenal (Rismana dkk., 2013; Coondoo dkk., 2014). Oleh karena itu, diperlukan suatu bahan alternatif yang memiliki efek samping rendah, salah satunya dengan menggunakan bahan-bahan herbal.

Saat ini telah terdapat penelitian mengenai manfaat bahan-bahan alam yang berpotensi sebagai obat untuk penyembuhan luka. Bahan-bahan tersebut antara lain madu (Gupta dkk., 2018), getah pohon yodium (Gani dkk., 2015), batang pohon pisang mauli (Puspitasari dan Apriasari, 2017), jahe merah (Hidayati dkk., 2015), dan teripang emas (Arundina dkk., 2015).

*Chrysophyllum cainito* L. atau yang dikenal dengan kenitu di Indonesia merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Pulau Jawa pada daerah hilir dan pegunungan rendah, khususnya Kabupaten Jember (Hidayat dkk., 2007). Pemanfaatan tanaman kenitu untuk saat ini terbatas sebagai peneduh dan penghijauan untuk mengurangi polusi udara karena pohonnya yang tinggi dan berdaun banyak, bahkan masih banyak warga Indonesia yang belum mengenal tanaman kenitu.

Beberapa literatur menyebutkan bahwa tanaman kenitu berpotensi sebagai tanaman herbal. Sebagai alternatif pengobatan, masing-masing bagian tanaman ini memiliki potensi yang berbeda-beda, mulai dari kulit pohon, buah, biji, dan daunnya (Meira dkk., 2014; Ningsih dkk., 2016; Shailajan dan Gurjar, 2016). Daun dari tanaman kenitu inilah yang banyak digunakan sebagai alternatif penyembuhan luka (Shailajan dan Gurjar, 2016).

Daun kenitu diketahui mengandung  $\beta$ -amyirin asetat, Asam galat, Asam ursolat, Flavonoid, dan zat-zat lain yang berpotensi sebagai antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi (Shailajan dan Gurjar, 2014; Ningsih dkk., 2016; Shailajan dan Gurjar, 2016). Efek antiinflamasi dalam daun kenitu dapat berpengaruh terhadap produksi sitokin dan *growth factor* yang berperan dalam migrasi dan maturasi keratinosit sehingga mempercepat pembentukan epitel (Fuadi dan Elfiah, 2015).

Keuntungan pemanfaatan daun kenitu sebagai alternatif penyembuhan luka yaitu efek samping yang rendah sehingga dinilai lebih aman, dapat mengurangi

limbah, dan mudah didapat khususnya di Kabupaten Jember. Namun kelemahannya masih perlu dikaji lagi mengenai efek farmakologis daun kenitu secara rinci dan dilakukan pengujian mengenai efektivitas dan toksisitas daun kenitu, khususnya pada manusia (Ningsih dkk., 2016).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti ingin mengkaji pengaruh dari gel ekstrak daun kenitu terhadap reepitelisasi pada proses penyembuhan luka bakar mukosa bukal tikus wistar.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini berdasarkan latar belakang tersebut yaitu, apakah terdapat pengaruh gel ekstrak daun kenitu *Chrysophyllum cainito* L. terhadap reepitelisasi pada luka bakar mukosa bukal tikus wistar?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu mengkaji pengaruh gel ekstrak daun kenitu *Chrysophyllum cainito* L. terhadap reepitelisasi pada luka bakar mukosa bukal tikus wistar.

## 1.4 Mafaat

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini antara lain sebagai berikut:

- a. Memberikan dasar ilmiah mengenai manfaat gel ekstrak daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dalam mempercepat proses reepitelisasi.
- b. Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai manfaat ekstrak daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dalam mempercepat proses penyembuhan luka.
- c. Sebagai bahan acuan untuk penelitian lebih lanjut.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Luka

Luka adalah suatu kondisi rusaknya jaringan baik karena jejas atau sengaja dibuat saat tindakan medis. Luka dapat disebabkan oleh berbagai hal, yang dibedakan menjadi tiga faktor yaitu faktor mekanik, fisik, dan faktor kimia. Faktor mekanik seperti trauma akibat benda tumpul maupun tajam; faktor fisik seperti paparan suhu panas atau dingin; sedangkan faktor kimia dapat berupa paparan zat asam maupun basa (Mardiyantoro dkk., 2018).

Luka diklasifikasikan berdasarkan sifat, proses penyembuhan, dan lama penyembuhan. Berdasarkan sifatnya, luka dibedakan menjadi abrasi, insisi, laserasi, luka terbuka, penetrasi, *puncture*, sepsis, dan lain-lain (Kartika dkk., 2015). Berdasarkan proses penyembuhannya, luka dibedakan menjadi: penyembuhan luka primer, yaitu tepi luka dapat menyatu kembali dan tidak terdapat jaringan yang hilang; penyembuhan luka sekunder, yaitu sebagian jaringan hilang dan penyembuhan luka dimulai dari pembentukan jaringan granulasi di dasar luka; dan penyembuhan luka tersier, yaitu penyembuhan luka yang berlangsung lambat akibat adanya infeksi atau faktor pengganggu yang lain (Mardiyantoro dkk., 2018). Berdasarkan lama penyembuhannya, luka dibedakan menjadi luka akut yang terjadi kurang dari tiga minggu dan luka kronis yang tidak terdapat tanda-tanda sembuh dalam jangka waktu 4-6 minggu (Kartika dkk., 2015).

### 2.2 Luka Bakar pada Mukosa Rongga Mulut

Luka bakar adalah kerusakan jaringan akibat kontak jaringan dengan agen termal, kimiawi, maupun elektrik (Betz dan Sowden, 2009). Luka bakar pada rongga mulut dapat timbul akibat makanan atau minuman yang terlalu panas, atau ketidaksengajaan praktisi ketika melakukan tindakan perawatan gigi dan mulut (Regezi dan Verstraete, 2012; Cowan dkk., 2013). Cowan dkk. (2013) menyebutkan dari 75 pasien pediatrik kasus luka bakar pada rongga mulut, 24,6%

diantaranya diakibatkan oleh makanan dan minuman panas. Pada seorang anak, luka bakar umumnya karena menelan bahan yang kaustik atau terkena setrum. Sedangkan pada orang dewasa, dapat disebabkan karena terhisapnya udara panas pada kecelakaan motor atau pesawat. Luka bakar berupa lesi abrasi juga sering merupakan akibat dari tertekannya bibir yang dalam keadaan teranastesi oleh pegangan henpis lurus, dimana dapat dihindari dengan adanya kerja sama yang baik antara operator dengan asisten operator. Selain itu, juga dilaporkan terdapat suatu kasus dimana seorang pasien menderita luka bakar pada rongga mulut akibat menggigit petasan dan terlambat melepaskannya pada saat petasan meledak (Pedersen 2012).

Luka bakar berdasarkan kedalamannya diklasifikasikan menjadi empat, antara lain:

- a. luka bakar derajat satu, yaitu terjadi sedikit kerusakan epitel pada laisan epidermis;
- b. luka bakar derajat dua, yaitu mencangkup lapisan epidermis dan sebagian lapisan dermis yang dibedakan menjadi *superficial partial-thickness* dan *deep partial-thickness*;
- c. luka bakar derajat tiga, yaitu luka bakar yang meliputi seluruh lapisan epidermis dan dermis;
- d. luka bakar derajat empat, yaitu luka bakar yang menimbulkan kerusakan hingga lapisan subkutan dengan melibatkan jaringan ikat, muskulus, tulang, atau struktur lain (Vorstenbosch dkk., 2017).

Luka bakar pada rongga mulut akibat benda panas pada dasarnya termasuk dalam luka bakar derajat satu dan dua yang dapat menimbulkan kemerahan, rasa sakit, dan melepuh (McDonald dkk., 2014). Luka bakar pada mukosa rongga mulut juga menjadi salah satu penyebab timbulnya ulkus (Cawson dan Odell, 2008; Glick dan Chair, 2015).

Secara klinis, luka bakar pada mukosa rongga mulut berupa lesi merah atau putih dengan tepi eritematus, sakit, dan terlihat adanya erosi. Pada luka bakar yang cukup parah, dapat terlihat jaringan nekrotik pada permukaan lesi (Koray dan

Tosun, 2019). Gambaran klinis luka bakar pada mukosa rongga mulut dapat dilihat pada gambar 2.1

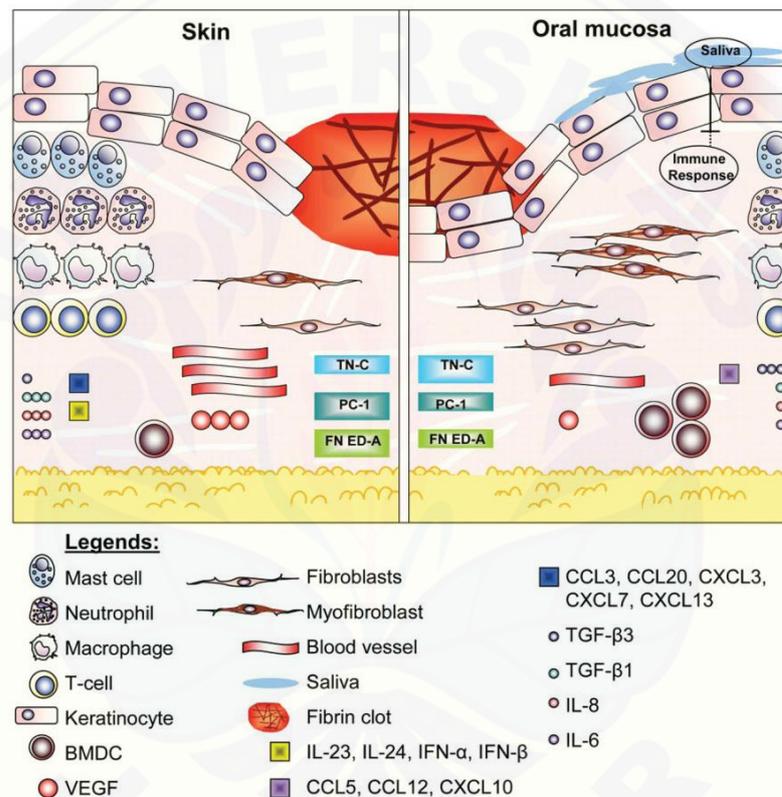


Gambar 2.1 Luka bakar pada mukosa bukal (Koray dan Tosun, 2019).

Luka bakar dengan lesi sederhana seperti di atas dapat sembuh dengan sendirinya dalam jangka waktu kurang lebih satu minggu, namun perawatan dapat dilakukan untuk menghindari kontaminasi selama proses penyembuhan luka (Koray dan Tosun, 2019). Selain itu, rasa sakit yang dialami penderita sering mengganggu fungsi rongga mulut seperti berbicara dan mastikasi, sehingga dapat berpengaruh pada asupan nutrisi dari penderita (Apriasari, 2012). Karena rasa sakit yang timbul dapat mempengaruhi kualitas hidup pasien, pilihan pertama yang dapat dilakukan adalah dengan pemberian obat secara topikal. Sediaan topikal khususnya gel memberikan beberapa keuntungan untuk terapi luka bakar karena nyaman dipakai, mudah meresap di kulit, memberikan rasa dingin, dan tidak lengket (Rismana dkk., 2013).

Obat-obatan yang digunakan untuk terapi luka bakar pada mukosa rongga mulut antara lain analgesik lokal, antiinflamasi topikal seperti kortikosteroid topikal (Gupta dkk., 2018), asam hialuronat (Wulandari dkk., 2015), salin, dan antibiotik (Koray dan Tosun, 2019). Salin dapat mempercepat penyembuhan luka bakar dan mencegah pertumbuhan dari bakteri. Terapi tambahan seperti terapi ozon dan *laser biomodulation* dapat dilakukan untuk manajemen rasa sakit. Sedangkan untuk luka yang cenderung meluas, dapat digunakan antibiotik untuk mencegah timbulnya infeksi (Koray dan Tosun, 2019).

Luka pada mukosa rongga mulut dapat sembuh lebih cepat daripada luka pada kulit dengan insidensi pembentukan *scar* lebih sedikit. Hal ini dipengaruhi oleh saliva yang memiliki hubungan erat dengan sistem imun manusia. Saliva mengandung *antimicrobial peptide* (AMP) histatin dan leptin yang dapat mempercepat proliferasi fibroblas dan keratinosit sehingga dapat mempercepat penutupan luka (Glim dkk., 2013). Secara sistematis, perbedaan penyembuhan luka pada mukosa rongga mulut dan kulit ditunjukkan pada gambar 2.2



Gambar 2.2. Skema perbedaan penyembuhan luka antara mukosa rongga mulut dan kulit (Glim dkk., 2013)

### 2.3 Proses Penyembuhan Luka Bakar pada Mukosa Rongga Mulut

Sesaat setelah terjadi luka bakar, jaringan akan mengalami suatu perubahan yang membentuk tiga zona konsentris. Tiga zona konsentris ini pertama kali diperkenalkan oleh Jackson (1953), yang terdiri atas zona koagulasi (sentral), zona stasis (intermedia), dan zona hiperemi (perifer). Zona koagulasi adalah area yang paling dekat dengan sumber trauma ditandai dengan penggumpalan dari protein dan

jaringan nekrosis serta terjadi thrombus pada pembuluh darah. Zona stasis berisi sel-sel vital dengan aliran darah menurun dan dapat berhenti dalam kurun waktu 24 jam apabila tidak segera dilakukan perawatan dalam kurun waktu 24–48 jam. Zona hiperemi vasodilatasi yang menunjukkan adanya dan inflamasi jaringan di sekitar luka. Umumnya zona hiperemi ini ditandai dengan warna kemerahan dan akan menggelap pada hari keempat (Kowalske, 2011; Vorstenbosch, 2017).

Luka bakar pada awal proses penyembuhan bersifat lebih steril daripada sebagian besar luka lainnya, namun dalam proses penyembuhannya luka bakar melibatkan interaksi sistemik khususnya pada luka yang cenderung parah dan meluas. Hal ini berhubungan dengan kebocoran kapiler sistemik, kehilangan cairan intravaskular, dan pergeseran cairan yang besar akibat pelepasan mediator inflamasi dan vasoaktif seperti histamin, prostaglandin, dan sitokin (Schaefer dan Lopez, 2019). Pada dasarnya proses penyembuhan luka bakar sama dengan penyembuhan luka jenis lain, yaitu terdiri atas fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling (maturase) (Tiwari, 2012).

### 2.3.1 Fase Inflamasi

Fase inflamasi terjadi sejak hari pertama hingga hari keempat setelah terjadinya jejas (Mardiyantoro dkk., 2018). Fase ini bertujuan untuk mencegah infeksi dari bakteri dan menyingkirkan jaringan mati yang dibedakan menjadi dua fase, yaitu fase inflamasi awal dan fase inflamasi akhir (Velnar dkk., 2009; Primadina dkk., 2019).

Pada fase inflamasi awal, segera setelah luka bakar, terjadi vasodilatasi dengan cairan ekstrasvasasi. Neutrofil adalah sel pertama yang akan bermigrasi menuju daerah radang dan memfagosit debris dan mikroorganismenya (Reinke dan Sorg, 2012). Fase ini ditandai dengan eritema, pembengkakan, panas, sakit, dan perubahan fungsi atau yang dikenal dengan *cardinal symptoms* yaitu *rubor, tumor, calor, dolor* dan *function laesa* (Mardiyantoro dkk., 2018; Primadina dkk., 2019). Neutrofil melepaskan mediator inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, memstimulasi VEGF dan IL-8, serta memulai proses *debridement* dengan melepaskan substansi

aktif antimikroba (*Cationic Antimicrobial Peptide/CAMP* dan *eicosanoid*) dan proteinase (*elastase*, *cathepsin G*, proteinase 3, dan *urokinase-type plasminogen activator*) (Reinke dan Sorg, 2012). Selain itu, *growth factor* yang telah dilepaskan akan menstimulasi sel untuk memproduksi kolagen yang selanjutnya akan membentuk matriks ekstraseluler (Mardiyantoro dkk., 2019)

Pada fase inflamasi akhir, makrofag akan muncul dan melanjutkan proses fagositosis (Velnar dkk., 2009). Setelah keluar dari pembuluh darah dan berkontak dengan matriks ekstraseluler, monosit akan berdiferensiasi menjadi makrofag dan memfagosit bakteri. Kemudian makrofag akan menyekresi enzim ekstraseluler yang merupakan salah satu substansi *matriks metalloprotein* (MMPs) untuk mendegradasi jaringan pada daerah jejas. MMPs bertanggungjawab untuk memindahkan jaringan devital, memperbaiki kerusakan jaringan, dan remodeling. Makrofag juga melepaskan sitokin dan *growth factor* seperti *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Transforming Growth Factor* (TGF)  $\beta$ , dan Interleukin-1 (IL-1) yang menstimulasi proliferasi fibroblas, produksi kolagen, pembentukan pembuluh darah baru, dan proses penyembuhan lainnya (Mardiyantoro dkk., 2018 dan Primadina dkk., 2019).

### 2.3.2 Fase Proliferasi (Granulasi dan Kontraksi)

Fase proliferasi pada mukosa rongga mulut berlangsung mulai hari ke-4 setelah timbulnya jejas hingga paling lama pada hari ke-21, tergantung pada ukuran jejas dan status kesehatan pasien (Mardiyantoro dkk., 2018). Tujuan dari fase ini adalah untuk regenerasi jaringan dan membentuk jaringan parut. Fase ini ditandai dengan jaringan granulasi yang kaya pembuluh darah baru, fibroblas, makrofag, granulosit, sel endotel, dan kolagen yang membentuk matriks ekstraseluler dan neovaskuler (Primadina dkk., 2019). Tiga proses utama pada fase proliferasi antara lain:

#### a. Neoangiogenesis

Neoangiogenesis merupakan pembentukan pembuluh darah baru yang terjadi secara alami di dalam tubuh. Pembentukan pembuluh darah baru berasal dari

kapiler-kapiler yang muncul dari pembuluh darah di sekitarnya. Umumnya ditandai dengan eritema pada daerah tersebut (Primadina dkk., 2019).

Langkah pertama pembentukan pembuluh darah baru adalah terjadinya ikatan antara *growth factor* dengan reseptornya pada sel endotel dari pembuluh darah yang ada sehingga mengaktifkan persinyalan kaskade intraseluler. Sel endotel yang telah aktif akan menyekresi enzim proteolitik yang dapat mendegradasi lamina basalis. Dengan demikian, sel endotel dapat bermigrasi dan berproliferasi untuk membentuk kuncup-kuncup kapiler yang nantinya akan beranastomosis untuk membentuk pembuluh darah baru (Reinke dan Sorg, 2012).

b. Pembentukan jaringan granulasi

Pada tahap ini, ditandai dengan meningkatnya jumlah fibroblas, granulosit, makrofag, kapiler, dan beberapa untaian kolagen. Sel yang mendominasi pada fase ini adalah fibroblast yang berperan dalam produksi kolagen dan substansi matriks ekstraseluler seperti fibronektin, glikosaminoglikan, proteoglikan, dan asam hialuronat. Pembentukan matriks ekstraseluler ini penting karena akan membentuk suatu *scaffold* sebagai tempat adhesi sel serta mengatur migrasi dan diferensiasi sel di dalamnya (Reinke dan Sorg, 2012).

c. Reepitelisasi

Pada fase reepitelisasi, sel-sel basal pada epitelium bergerak dari tepi luka menuju daerah luka dan menutupi daerah luka. Keratinosit merupakan sel yang bertanggungjawab pada proses reepitelisasi. Pada tahap akhir fase ini, keratinosit akan berdiferensiasi membentuk lapisan protektif terluar yaitu stratum korneum (Mardiyantoro, 2018).

Keratinosit yang teraktivasi akan melepaskan perlekatan hemidesmosomal dengan membran basal dan hubungan antara desmosomal lateral dengan keratinosit pada tepi luka juga menurun. Komunikasi antar keratinosit yang berdekatan dengan luka melalui *gap junction* juga berkurang melalui peningkatan fosforilasi connexin43, yang merupakan protein struktural utama epitel *gap junction*. Penurunan dari connexin43 di tepi luka tersebut yang menyebabkan mobilisasi keratinosit selama penyembuhan luka (Larjava, 2013).

Lapisan *single layer* sel keratinosit pada tepi luka akan berproliferasi dan bermigrasi dari membran basal ke permukaan luka. Keratinosit akan berikatan dengan kolagen tipe I dan bermigrasi menggunakan reseptor spesifik integrin melalui adhesi dan persinyalan sel. Sel keratinosit akan terus bermigrasi di atas matriks provisional menuju ke tengah luka, dan ketika sel-sel epitel ini telah bertemu di tengah luka, migrasi sel akan berhenti dan pembentukan membran basalis dimulai (Velnar dkk., 2009; Larjava, 2013).

### 2.3.3 Fase Remodeling (Maturase)

Fase remodeling (maturase) mukosa terjadi setelah semua tahapan di atas selesai yang berjalan hingga 2 tahun setelah mendapat jejas. Sel yang memiliki peran utama pada fase ini adalah fibroblas. Pada fase ini jaringan granulasi berhenti terbentuk dan mengalami apoptosis. Tahapan ini ditandai dengan penyusunan jaringan kolagen yang bertujuan untuk meningkatkan densitas sel dan kapiler sehingga menghasilkan *tensile strength* yang lebih baik pada daerah luka (Mardiyantoro, 2018). Terjadi keseimbangan antara proses sintesis dan degradasi kolagen serta matriks ekstraseluler pada fase ini. Kolagen yang berlebihan akan didegradasi oleh enzim kolagenase dan kemudian diserap (Primadina dkk., 2019). Selama fase remodeling (maturase), kolagen tipe III yang diproduksi pada fase proliferasi akan digantikan oleh kolagen yang lebih kuat yaitu kolagen tipe I (Reinke dan Sorg, 2012).

## 2.4 Epitel

### 2.4.1 Pengertian dan Fungsi Jaringan Epitel

Jaringan epitel adalah lapisan seluler yang menutupi permukaan dalam dan luar tubuh, termasuk kulit, lapisan pada pembuluh darah, melapisi rongga-rongga tubuh, membentuk berbagai organ dan kelenjar, serta melapisi duktus-duktusnya (Dorlan, 2011). Jaringan epitel terdiri atas sel-sel polihedral yang berhimpitan dengan substansi ekstraseluler yang sangat sedikit (Mescher, 2013). Epitel

dipisahkan dari jaringan ikat di bawahnya oleh suatu membran yang disebut membran basalis (Eroschenko, 2013). Epitel merupakan salah satu dari empat jenis jaringan dasar pada tubuh manusia. Ciri utama jaringan epitel dibandingkan jaringan dasar tubuh yang lain dijelaskan pada tabel berikut (Eroschenko, 2013; Mescher, 2013).

Tabel 2.1 Ciri utama keempat jaringan dasar tubuh

<b>Jaringan</b>	<b>Sel</b>	<b>Matriks ekstraseluler</b>	<b>Fungsi utama</b>
<b>Saraf</b>	Juluran panjang yang berjalanan	Tidak ada	Transmisi impuls saraf
<b>Epitel</b>	Kumpulan sel-sel polihedral	Hanya sedikit	Melapisi permukaan atau rongga tubuh, sekresi kelenjar
<b>Otot</b>	Sel kontraktile panjang	Berjumlah sedang	Pergerakan
<b>Ikat</b>	Beberapa jenis sel yang menetap	Sangat banyak	Penyokong dan pelindung

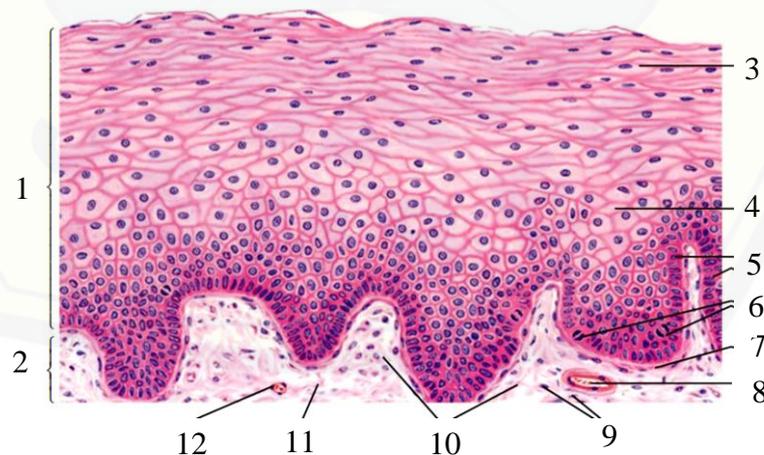
Epitel diklasifikasikan berdasarkan jumlah lapisan dan morfologi dari sel yang menyusunnya. Epitel dengan satu lapis sel disebut dengan epitel selapis, sedangkan epitel dengan banyak lapisan sel disebut dengan epitel bertingkat/berlapis. Selain itu, terdapat epitel bertingkat semu yaitu epitel yang terdiri atas satu lapis sel yang melekat pada membran basalis, namun tidak semua sel mencapai permukaan. Berdasarkan morfologi selnya, terdapat epitel skuamosa/pipih yang tersusun atas sel-sel permukaan yang gepeng, epitel kuboid yang tersusun atas sel yang bulat dan tinggi, dan epitel kolumnar yaitu sel penyusunnya lebih tinggi daripada lebarnya (Eroschenko, 2013).

Fungsi utama jaringan epitel yaitu menutupi dan melindungi permukaan (misalnya kulit), absorpsi (misalnya usus), sekresi (misalnya epitel kelenjar), dan kontraktilitas (misalnya epitel). Sel-sel epitel tertentu juga berupa memiliki kemampuan sensorik yang khusus, seperti sel-sel kuncup kecap atau epitel olfaktorik (Mescher, 2013).

#### 2.4.2 Gambaran Histologi Jaringan Epitel Mukosa Rongga Mulut

Jaringan epitel rongga mulut tersusun atas epitel berlapis pipih atau *stratified squamous epithelium*. Hampir semua mukosa rongga mulut dilapisi oleh epitel pipih berlapis tidak berkeratin (*non-keratinizing stratified squamous epithelium*), kecuali pada epitel yang melapisi palatum durum, gingiva, dan bagian dorsal lidah (Haschek dkk., 2010).

Epitel pada mukosa bukal rongga mulut tersusun atas sel basal silindris pendek yang terletak di dasar epitel. Sitoplasma bergranula halus dan inti lonjong yang kaya kromatin menempati sebagian besar sel. Pada lapisan sel-sel basal sering terlihat adanya mitosis. Kemudian pada lapisan tengah epitel tersusun atas sel yang polihedral dengan inti bulat lonjong serta membran sel dan sitoplasma yang terlihat jelas. Di atas sel polihedral, terdapat beberapa lapis sel skuamosa. Membran basalis memisahkan jaringan epitel dengan jaringan ikat. Tonjolan dari jaringan ikat yang disebut dengan papila menyebabkan permukaan bawah epitel melekok, sehingga terlihat gambaran bergelombang yang khas. Jaringan ikat tersebut mengandung serat kolagen, fibrosit, kapiler, dan arteriol (Eroschenko, 2013). Selain itu, pada submukosa juga dapat ditemui kelenjar saliva minor yang di daerah di bawahnya terdapat serat buccinator (Nanci, 2013). Untuk lebih jelasnya akan dijelaskan pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 Gambar mikroskopis struktur epitel mukosa rongga mulut (*stratified squamous non-keratinized epithelium*) dengan pewarnaan HE perbesaran 400x. (1) Epitel berlapis pipih; (2) Jaringan ikat (lamina propria); (3) Sel skuamosa; (4) Sel polihedral; (5) Sel basal; (6) Mitosis (sel basal); (7) Membran basalis; (8) Arteriol; (9) Fibrosit; (10) Papila jaringan ikat; (11) Serat kolagen; (12) Kapiler (Cui, 2013)

## 2.5 Kenitu

### 2.5.1 Deskripsi dan Morfologi Tanaman Kenitu

*Chrysophyllum cainito* L. sering dikenal dengan *caimito*, *star apple*, atau kenitu di Indonesia (Parker dkk., 2010; Ningsih dkk., 2016). Tanaman kenitu tumbuh dengan baik di daerah tropis dan tersebar di Asia Tenggara, Karibia, Afrika Barat, Zanzibar, Brazil, dan India (Shailajan dan Gurjar, 2016). Di Indonesia, tanaman ini banyak dijumpai di pegunungan rendah dan daerah hilir Pulau Jawa. Umumnya tanaman kenitu dibudidayakan sebagai tanaman hias atau tanaman buah-buahan (Hidayat dkk., 2007).

Tanaman kenitu memiliki berbagai varian. Di Kabupaten Jember, terdapat empat varian dari kenitu, antara lain: kenitu berukuran besar, berwarna hijau, berbentuk bulat; berukuran kecil, berwarna hijau, berbentuk bulat; berukuran sedang, berwarna hijau, berbentuk oval; dan berukuran kecil, warna merah keunguan, berbentuk bulat (Ningsih dkk., 2016).

### 2.5.2 Klasifikasi Tanaman Kenitu

Klasifikasi dari tanaman kenitu adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivision	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta/Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida/Dicotyledoneae
Subkelas	: Dilleniidae
Bangsa	: Ebenales
Suku	: Sapotaceae
Marga	: <i>Chrysophyllum</i> L.
Jenis	: <i>Chrysophyllum cainito</i> L.

(USDA, 2019)

### 2.5.3 Morfologi Tanaman Kenitu

Pohon kenitu tumbuh tegak dengan tinggi 8-30 m dan panjang ranting mencapai satu meter. Batangnya berwarna cokelat dan mengandung getah berwarna putih (Morton, 2019).

Bunga kenitu berukuran kecil, menggerombol pada axil daun, dan berwarna kuning kehijauan, kuning, atau putih keunguan. Secara umum bunganya terdiri atas lima mahkota (petal) dan 5-6 kelopak bunga (sepal) (Morton, 2019).

Buah kenitu berbentuk bulat, oval, atau nyaris seperti buah pir, berdiameter 5-10 cm, serta berwarna merah keunguan, ungu tua, atau hijau pucat. Bagian permukaan buah terlihat mengkilap dan halus, sedangkan pada bagian dalamnya lunak, lembut, berair, berwarna putih, dan terdiri atas 6-11 biji. Ketika dipotong melintang, buah kenitu akan terlihat seperti bintang dengan banyak sisi. Oleh karena itu, tanaman ini dikenal dengan nama "*star apple*" (Hidayat dkk., 2007; Morton, 2019).

Daun kenitu berbentuk bulat panjang berukuran 5-15 m. Untuk daun yang telah dewasa memiliki tekstur sedikit kasar, berwarna hijau tua dan mengkilap di permukaan atas, lalu berwarna cokelat keemasan pada bagian bawah. Sedangkan daun yang masih muda, berwarna sedikit keperakan pada bagian bawah (Morton, 2019). Walaupun tanaman kenitu terdiri atas berbagai varian, secara makroskopis dan mikroskopis tidak ditemukan perbedaan yang signifikan dari berbagai varian daun kenitu di daerah Jember (Hidayat dkk., 2007). Gambar dari daun kenitu dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Daun Kenitu (Koffi dkk., 2009)

#### 2.5.4 Kandungan dan Efek Farmakologis Daun Kenitu

Daun kenitu mengandung komponen antioksidan tinggi dan antiinflamasi seperti flavonoid, alkaloid, triterpenoid (asam ursolat,  $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -amyrin asetat, asam gentisid, dan lupeol), dan komponen fenol (asam galat) (Shailajan dan Gurjar, 2014; Ningsih dkk., 2016). Menurut Shailajan dan Gurjar (2014), persentase dari kandungan fitokimia daun kenitu dijelaskan pada tabel berikut:

Tabel 2.2 Kandungan fitokimia daun kenitu

Kandungan	Persentase
Lemak dan lilin	0,934 $\pm$ 0,045
Terpenoid dan fenol	4,004 $\pm$ 0,122
Alkaloid	0,166 $\pm$ 0,068
Kuartener alkaloid dan n-oksida	10,678 $\pm$ 0,035
Serat	71,122 $\pm$ 0,136

Asam galat sendiri memiliki peran sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan anttimikroba. Asam galat memiliki peran dalam menghambat motilitas dari *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Chromobacterium violaceum*, dan *Listeria monocytogenes*. Selain itu asam galat dapat mengganggu integritas dinding sel bakteri gram positif dan negatif serta mengubah permeabilitas dari membran bakteri (Kahkeshani dkk., 2019).

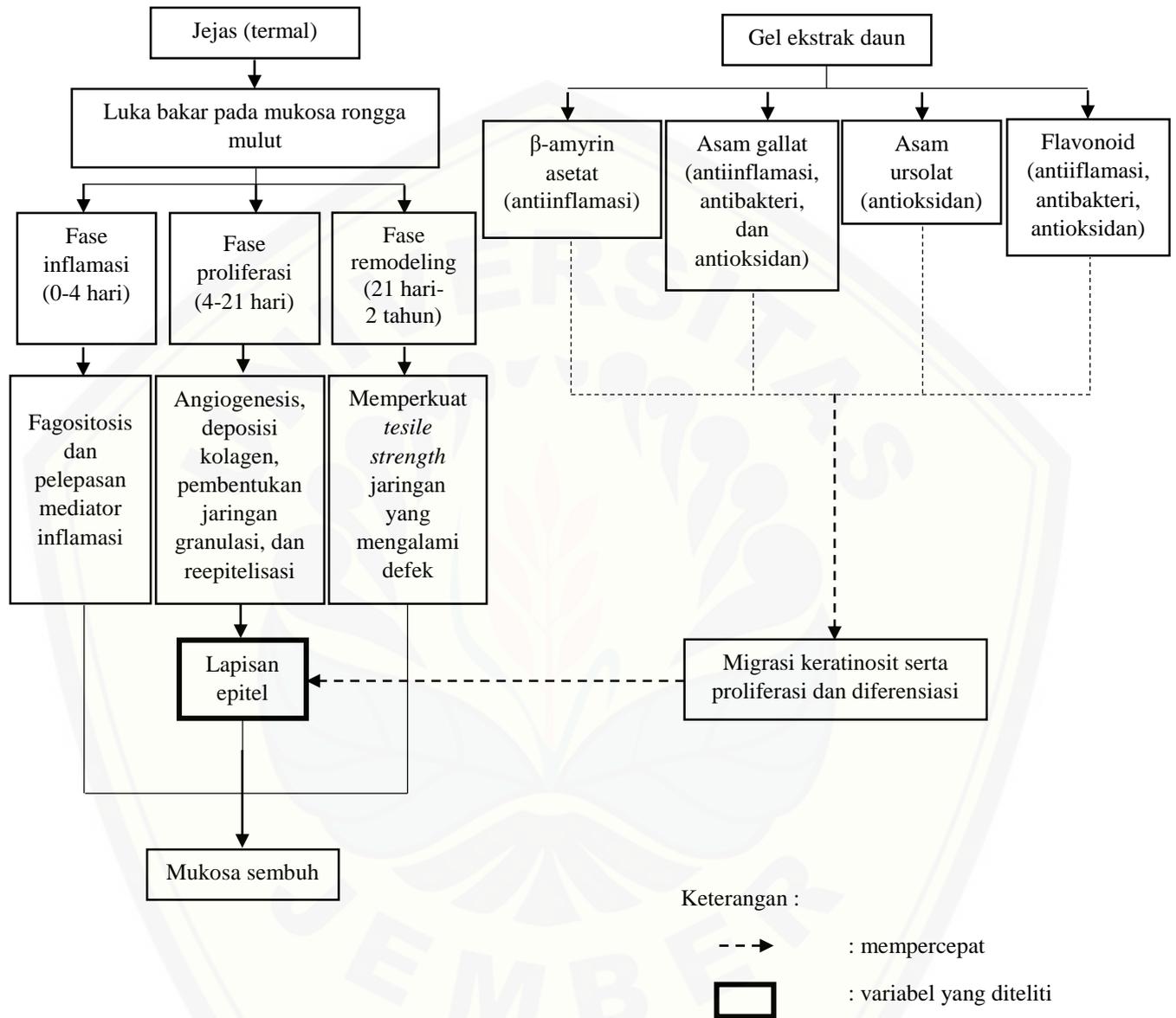
Daun kenitu berpotensi dalam penyembuhan luka eksisi pada tikus wistar putih berdasarkan kandungan fitokimianya. Sebagai obat untuk menyembuhkan luka, ekstrak etanol daun kenitu dapat dikembangkan dalam sediaan gel atau *ointment* untuk penggunaan topikal pada manajemen luka (Shailajan dan Gurjar, 2016). Selain itu ekstrak daun kenitu juga berpotensi dalam mengurangi hiperglikemi pada tikus dan efek antioksidan dari daun kenitu terbukti dapat menurunkan kadar ROS pada tikus yang diinduksi *cyclophosphamid* (Koffi dkk., 2009; Pramudito dkk., 2019). Sehingga, dapat disimpulkan bahwa daun kenitu berpotensi sebagai antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidasi.

Ekstrak daun kenitu, baik yang menggunakan pelarut air maupun etanol, tidak menimbulkan efek toksik pada hewan coba (Shailajan dan Gurjar, 2014). Namun menurut Koffi (2009) bahwa ekstrak daun kenitu memiliki dosis paling efektif yaitu 20g/l dan akan bersifat toksik pada dosis 30g/l. Studi juga menjelaskan bahwa

ekstrak daun kenitu dengan pelarut etanol 70% akan memberikan efek antioksidan tertinggi (Ningsih dkk., 2016).



## 2.6 Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 2.5 Kerangka konseptual penelitian

## 2.7 Hipotesis

Hipotesis yang diperoleh berdasarkan tinjauan pustaka di atas yaitu, pemberian gel ekstrak daun kenitu berpengaruh terhadap proses reepitelisasi pada luka bakar mukosa bukal tikus wistar.



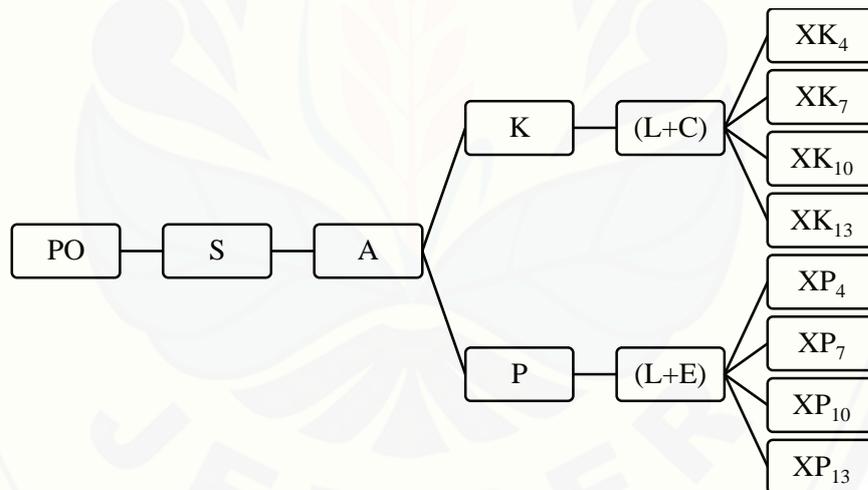
## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *experimental laboratories*.

### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test only control group design*. Pengukuran hanya dilakukan setelah hewan coba mendapat perlakuan berupa pemberian ekstrak daun kenitu tanpa didahului pengukuran ketebalan eepitel sebelum perlakuan. Setelah itu hasil pengukuran dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Secara sistematis, rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1



- PO : Populasi tikus wistar  
 S : Sampel penelitian (tikus wistar jantan usia 2-3 bulan dengan berat badan 150-240 gram, normal, sehat, dan bergerak aktif)  
 A : Adaptasi selama satu minggu  
 K : Kelompok kontrol  
 P : Kelompok perlakuan  
 L : Pembuatan luka bakar pada mukosa bukal tikus  
 C : Pemberian gel placebo (CMC)  
 E : Pemberian gel ekstrak daun kenitu 2%  
 X : Ketebalan Epitel  
 Angka 4, 7, 10, 13 : 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 Botani Politeknik Negeri Jember untuk identifikasi tanaman kenitu.
- b. Laboratorium Analisis Terpadu Fakultas Teknik Pertanian Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak daun kenitu.
- c. Laboratorium Biofarmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk pembuatan gel ekstrak daun kenitu.
- d. Laboratorium Farmakologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk perlakuan hewan coba.
- e. Laboratorium Histologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pembuatan preparat dan pengamatan jaringan.

#### 3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November 2019-Januari 2020

### 3.4 Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.).

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah ketebalan epitel mukosa bukal dengan luka bakar pada tikus wistar.

### 3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini antara lain:

- a. kriteria hewan coba
- b. tempat dan cara pemeliharaan hewan coba
- c. cara pembuatan gel ekstrak daun kenitu
- d. dosis, waktu, dan cara pemberian gel ekstrak daun kenitu
- e. cara pembuatan dan pewarnaan sediaan jaringan.

## 3.5 Definisi Operasional

### 3.5.1 Gel Ekstrak Daun Kenitu

Peneliti menggunakan daun kenitu yang berasal dari tanaman kenitu di Jl. Danau Tondano, Tegalgede, Kecamatan Sumbersari, Kabupaten Jember yang telah diidentifikasi di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember (Lampiran 3.2). Jarak antara tempat pengambilan daun kenitu dengan tempat ekstraksi adalah 1-2 km. Daun yang digunakan yaitu daun berwarna hijau tua dan berbentuk lonjong yang diambil 5-6 helai dari pangkal cabang. Serbuk daun kenitu diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70 % untuk selanjutnya dibuat sediaan gel. Sediaan gel menggunakan ekstrak daun kenitu dengan dosis 20 g/l yang diberikan secara topikal pada mukosa bukal tikus dengan ulkus traumatikus. Penghitungan konsentrasi daun kenitu adalah sebagai berikut:

$$\text{Diketahui } 1 \text{ mg/l} = 1 \text{ ppm} = 1/1.000.000$$

$$\begin{aligned} 1 \text{ ppm} &= 1/1.000.000 \times 100\% \\ &= 1/10.000 \% \end{aligned}$$

$$\text{Dosis efektif} = 20 \text{ g/l} = 20.000 \text{ mg/l} = 20.000 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi ekstrak daun kenitu (\%)} &= 20.000 \times 1/10.000 \% \\ &= 2 \% \end{aligned}$$

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

### 3.5.2 Pemberian Gel Ekstrak Daun Kenitu

Gel ekstrak daun kenitu 2 % diberikan dua kali sehari setelah tikus diberi makan, yaitu pukul 06.00 dan 18.00. Pengaplikasian gel dilakukan menggunakan *syringe* yang telah dilepas jarumnya.

### 3.5.3 Ketebalan Epitel Mukosa Bukal

Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler *Olympus CX 41* dengan perbesaran 400x dan pengambilan gambar menggunakan *optilab 2.2*. Ketebalan epitel mukosa bukal diukur dari stratum korneum hingga stratum basalis dengan bantuan *software image raster*. Ketebalan yang diambil adalah daerah paling tebal, tipis, dan sedang dalam satu lapang pandang dan dalam satu preparat diamati pada tiga lapang pandang yang berbeda, setelah itu diambil rata-rata.

### 3.5.4 Luka Bakar pada Mukosa Bukal

Tikus dilakukan pembuatan luka bakar pada mukosa bukal sebelah kiri menggunakan *amalgam stopper* dengan diameter  $\pm 2$  mm yang telah dipanaskan di atas api biru bunsen selama 1 menit kemudian disentuhkan selama 3 detik. Luka bakar yang timbul adalah luka bakar derajat 2 sesuai dengan penjelasan McDonald dkk. (2014).

## 3.6 Sampel Penelitian

### 3.6.1 Kriteria Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang bergerak aktif dengan kondisi tidak cacat fisik. Tikus yang digunakan berumur 2-3 bulan dan berat badan 150-240 gram. Tikus yang memiliki kriteria eksklusi, yaitu tikus yang mati selama penelitian, akan digantikan dengan tikus lain yang sesuai dengan kriteria inklusi untuk mendapatkan jumlah sampel yang sesuai dengan besar sampel.

### 3.6.2 Besar Sampel Penelitian

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

$$\begin{aligned}(r-1)(t-1) &\geq 15 \\(r-1)(8-1) &\geq 15 \\(r-1)7 &\geq 15 \\(r-1) &\geq 15/7 \\r-1 &\geq 2,1 \\r &\geq 3,1 \sim r = 4\end{aligned}$$

Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, besar sampel minimal pada setiap kelompok perlakuan adalah 4. Sehingga, jumlah total sampel yang dibutuhkan dalam penelitian adalah  $4 \times 8 = 32$  ekor.

### 3.6.3 Pengelompokan Sampel Penelitian

Sampel berjumlah 32 ekor tikus wistar jantan dibagi menjadi 2 kelompok yang masing-masing terdiri dari enam belas ekor, yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P). Setiap kelompok dibagi lagi menjadi empat subkelompok berdasarkan waktu eutanasia 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) dua kali sehari pasca pembuatan luka, yaitu pukul 06.00 dan 18.00 lalu pada hari keempat dieutanasia	4
	Hari ke-7	Tikus diberikan gel placebo (CMC) dua kali sehari pasca pembuatan luka, yaitu pukul 06.00 dan 18.00 lalu pada hari ketujuh dieutanasia	4
	Hari ke-10	Tikus diberikan gel placebo (CMC) dua kali sehari pasca pembuatan luka, yaitu pukul 06.00 dan 18.00 lalu pada hari kesepuluh dieutanasia	4

P	Hari ke-13	Tikus diberikan gel placebo (CMC) dua kali sehari pasca pembuatan luka, yaitu pukul 06.00 dan 18.00 lalu pada hari ketiga belas dieutanasia	4
	Hari ke-4	Tikus diberikan gel ekstrak daun kenitu 2% dua kali sehari pasca pembuatan luka, yaitu pukul 06.00 dan 18.00 lalu pada hari keempat dieutanasia	4
	Hari ke-7	Tikus diberikan gel ekstrak daun kenitu 2% dua kali sehari pasca pembuatan luka, yaitu pukul 06.00 dan 18.00 lalu pada hari ketujuh dieutanasia	4
	Hari ke-10	Tikus diberikan gel ekstrak daun kenitu 2% dua kali sehari pasca pembuatan luka, yaitu pukul 06.00 dan 18.00 lalu pada hari kesepuluh dieutanasia	4
	Hari ke-13	Tikus diberikan gel ekstrak daun kenitu 2% dua kali sehari pasca pembuatan luka, yaitu pukul 06.00 dan 18.00 lalu pada hari ketiga belas dieutanasia	4

### 3.7 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sebagai berikut:

1. Alat untuk pemeliharaan hewan coba yang terdiri dari kandang tikus disertai tempat makanan dan minuman tikus.
2. Alat untuk pembuatan ekstrak daun kenitu yang terdiri dari mesin penggiling, toples kaca, corong, neraca digital, ayakan/mesh, kertas saring, *rotary evaporator*, labu *erlenmeyer*, dan pengaduk kaca.
3. Alat pembuatan gel ekstrak daun kenitu antara lain gelas ukur, neraca digital/timbangan analitik, serta *mortal* dan *paste*.
4. Alat pembuatan luka bakar pada mukosa bukal tikus terdiri dari *rat dental chair*, bunsen, rasparatorium, dan *amalgam stopper*.
5. Alat eutanasia hewan coba dan pengambilan sampel meliputi papan bedah, *blade scalpel*, gunting bedah, *artery clamp*, dan toples kaca.
6. Alat pembuatan preparat terdiri dari botol untuk dekalsifikasi, kuas kecil, pinset kecil, alat cetak blok parafin, *object glass*, *cover glass*, *water bath*, mikrotom, *slide warmer*, *staining jar*, *histological basket*, gelas beaker, dan mikroskop cahaya.

### 3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sebagai berikut:

1. Bahan untuk pemeliharaan hewan coba terdiri atas *handscoon*, masker, sekam, air, sabun colek, dan makanan standar untuk tikus wistar yang dijual di pasaran (*Turbo 521*).
2. Bahan untuk pembuatan ekstrak daun kenitu terdiri atas daun kenitu kering, etanol 70 %, dan kertas saring.
3. Bahan pembuatan gel ekstrak daun kenitu terdiri atas ekstrak etanol daun kenitu, etanol, aquades, dan *Carboxymethyl cellulose* (CMC).
4. Bahan pembuatan luka bakar pada mukosa bukal tikus antara lain *ketamine-xylazine*, *disposable syringe* 1 ml, dan spirtus.
5. Bahan eutanasia hewan coba dan pengambilan sampel terdiri atas eter, kapas, dan formalin 10 %.
6. Bahan pembuatan preparat terdiri atas alkohol 70 %, alkohol 80 %, alkohol 95 %, alkohol absolut (100 %), *xylol*, parafin cair, gliserin, kertas saring, air, *Mayer's Hematoxylin*, eosin, dan entellan.

## 3.8 Penghitungan Dosis

### 3.8.1 Dosis *Ketamine-Xylazine*

Dosis *Ketamine-Xylazine* yang digunakan untuk anestesi pada hewan coba yaitu (0,15 ml/100 gBB) atau *Ketamine* 100-120 mg/kgBB + *Xylazine* 10 mg/kgBB (Leary dkk., 2013; Flecknell, 2015). Sehingga, apabila berat badan tikus 200 mg maka dosis yang digunakan yaitu :

$$\begin{aligned} \text{Dosis } \textit{ketamine-xylazine} &= 0,15 \text{ ml}/100 \text{ gBB} \times \text{BB tikus} \\ &= 0,15 \text{ ml}/100 \text{ gBB} \times 200 \text{ gBB} \\ &= 0,15 \times 2 \\ &= 0,3 \text{ ml.} \end{aligned}$$

Kombinasi *ketamine-xylazine* didapatkan dari *ketamine* dengan konsentrasi 100 mg/ml dan *xylazine* dengan konsentrasi 20 mg/ml. Jadi apabila berat badan tikus 200 g, maka perhitungan yang didapatkan yaitu :

$$\begin{aligned} \text{Ketamine} &= \frac{\text{dosis ketamine} \times \text{BB tikus}}{100 \text{ mg/ml}} \\ &= \frac{100 \text{ mg/kg} \times 200 \text{ g}}{100 \text{ mg/ml}} \\ &= \frac{100 \text{ mg/kg} \times 0,2 \text{ kg}}{100 \text{ mg/ml}} \\ &= 0,2 \text{ ml.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Xylazine} &= \frac{\text{dosis xylazine} \times \text{BB tikus}}{20 \text{ mg/ml}} \\ &= \frac{10 \text{ mg/kg} \times 200 \text{ g}}{20 \text{ mg/ml}} \\ &= \frac{10 \text{ mg/kg} \times 0,2 \text{ kg}}{20 \text{ mg/ml}} \\ &= 0,1 \text{ ml.} \end{aligned}$$

### 3.9 Prosedur Penelitian

#### 3.9.1 Persiapan

##### a. *Ethical Clearance*

*Ethical clearance* bertujuan untuk menjamin keamanan peneliti dan hewan coba serta memperjelas kewajiban peneliti ketika menjalankan penelitian. Pengurusan *ethical clearance* dilakukan di Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, dengan lembar etik yang telah disetujui dapat dilihat pada Lampiran 3.1.

##### b. Aklimasi Hewan Coba

Tikus wistar yang akan diberikan perlakuan diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu di Laboratorium Biomedik Dasar Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk proses aklimasi. Aklimasi yaitu adaptasi dari lingkungan

asal hewan coba dengan lingkungan yang baru. Kandang hewan coba berupa bak plastik berukuran 30 x 25 cm<sup>2</sup> yang dilengkapi dengan tempat makan dan minum standar, pencahayaan cukup, serta dilengkapi dengan penutup dari kawat. Alas kandang terbuat dari sekam kayu yang diganti setiap dua hari sekali. Masing-masing kandang diberi label sesuai dengan kelompok perlakuan nyaitu K<sub>4</sub>, K<sub>7</sub>, K<sub>10</sub>, K<sub>13</sub>, P<sub>4</sub>, P<sub>7</sub>, P<sub>10</sub>, dan P<sub>13</sub>. Setiap kandang berisi empat ekor tikus yang diamati tumbuh kembangnya setiap hari. Suasana lingkungan hewan coba dibuat tenang untuk menghindari stres akibat kondisi lingkungan yang kurang kondusif, serta diberi makanan jenis konsentrat dengan merk dagang *Turbo 521* sediaan pelet dan air minum secara *ad libitum* pada semua kandang. Hewan coba dihindarkan dari sinar matahari langsung dan diletakkan pada ruangan 20-25 °C.

#### c. Pembuatan Ekstrak Daun Kenitu

Daun kenitu yang telah diidentifikasi di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember (Lampiran 3.2), dibuat ekstrak etanol daun kenitu berdasarkan prosedur sebagai berikut:

- 1) Daun kenitu yang diambil 5-6 helai dari pangkal cabang dengan warna hijau tua pada permukaan atasnya dan berwarna cokelat pada permukaan bawahnya. Daun yang diambil dalam kondisi baik dan tidak terdapat bercak-bercak.
- 2) Daun dipisahkan dari tangkainya dan diiris secara melintang, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada ruangan tertutup tanpa terkena sinar matahari secara langsung.
- 3) Daun kenitu yang telah kering dihaluskan menggunakan alat penggiling hingga menjadi serbuk.
- 4) Serbuk daun kenitu diayak menggunakan mesh hingga didapatkan serbuk halus.
- 5) Serbuk halus kemudian ditimbang.
- 6) 250 gram serbuk daun kenitu yang telah halus dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70 % sebanyak 1L selama 72 jam.
- 7) Ekstrak diletakkan pada tabung erlenmeyer lalu dipatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C sehingga didapatkan ekstrak kental daun kenitu.

Keterangan hasil ekstraksi daun kenitu dapat dilihat pada Lampiran 3.3.

#### d. Pembuatan Gel Ekstrak Daun Kenitu

Pembuatan gel ekstrak daun kenitu dimulai dari pengukuran aquades 97 ml menggunakan gelas ukur dan dituangkan ke dalam lumpang kemudian 3 gram CMC diukur menggunakan timbangan analitik, lalu ditambahkan ke dalam lumpang yang telah berisi aquades. Aduk dan digerus hingga membentuk gel CMC 3% yang berwarna bening. Ekstrak kental daun kenitu sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam lumpang, ditambahkan etanol sebanyak 2 tetes, kemudian dicampurkan dengan gel CMC sebanyak 98 g, dan diaduk hingga diperoleh gel ekstrak daun kenitu 2 %.

#### 3.9.2 Perlakuan Hewan Coba

1. Setelah diadaptasikan selama satu minggu, dibuat luka bakar pada mukosa bukal tikus sebelah kiri dengan prosedur sebagai berikut:
  - a. Tikus dianestesi menggunakan *ketamine-xylazine* yang diinjeksikan secara intramuskular pada kaki tikus.
  - b. Setelah anestesi bereaksi yang ditandai dengan kondisi tikus lemas, tikus diletakkan pada *rat dental chair*.
  - c. Membuat luka bakar menggunakan *amalgam stopper* dengan luas penampang  $\pm 2$  mm yang telah dipanaskan di atas api biru bunsen selama 1 menit lalu disentuhkan selama 3 detik.
2. Perlakuan mulai diberikan pada hari ke-1 setelah pembuatan luka, dilakukan setiap hari sampai tikus dieutanasia sesuai dengan hari yang telah ditentukan (hari ke-4, ke-7, ke-10, dan ke-13). Perlakuan yang diberikan yaitu:
  - a. Kelompok K diberikan gel placebo (CMC) secara topikal menggunakan *disposable syringe* tanpa jarum, dua kali sehari yaitu pukul 06.00 WIB dan 18.00 WIB.
  - b. Kelompok P diberikan gel ekstrak daun kenitu 2 % secara topikal menggunakan *disposable syringe* tanpa jarum, dua kali sehari yaitu pukul 06.00 WIB dan 18.00 WIB.

### 3.9.3 Eutanasia Hewan Coba

Eutanasia hewan coba dilakukan dengan cara metode inhalasi yaitu dengan menggunakan cairan eter. Hewan coba dimasukkan ke dalam toples tertutup yang di dalamnya terdapat kapas yang dibasahi lautan eter kemudian ditunggu beberapa saat hingga hewan coba mati. Eutanasia dilakukan dengan rincian sebagai berikut:

1. Pada hari ke-4 pukul 18.00, semua subkelompok H-4 dieutanasia kemudian dilakukan pengambilan sampel.
2. Pada hari ke-7 pukul 18.00, semua subkelompok H-7 dieutanasia kemudian dilakukan pengambilan sampel.
3. Pada hari ke-10 pukul 18.00, semua subkelompok H-10 dieutanasia kemudian dilakukan pengambilan sampel.
4. Pada hari ke-13 pukul 18.00, semua subkelompok H-13 dieutanasia kemudian dilakukan pengambilan sampel.

### 3.9.4 Pembuatan Sediaan Histologis

Tahap pembuatan sediaan histologis adalah sebagai berikut:

#### 1. Pengambilan sampel sediaan

Pengambilan sampel sediaan dilakukan dengan cara biopsi insisi kemudian sampel dimasukkan ke dalam formalin 10 % selama 24 jam agar jaringan yang diamati tidak rusak dan sebagai proses fiksasi jaringan.

#### 2. Pemrosesan jaringan

##### a. Dehidrasi

Dehidrasi adalah tahap penarikan air dari dalam jaringan, dilakukan menggunakan alkohol dari konsentrasi rendah ke tinggi. Dimulai dari alkohol 70 % selama  $\pm$  15 menit, 80 % selama 1 jam, 95 % selama 2 jam, dan alkohol absolut selama 3 jam.

##### b. *Clearing*

*Clearing* adalah tahap untuk menghilangkan alkohol sebelum jaringan ditanam di parafin. *Clearing* dilakukan pada 3 tabung berbeda

yang berisi xylol dengan urutan tabung pertama selama 1 jam, tabung kedua selama 2 jam, dan tabung ketiga selama 3 jam.

c. Impregnasi

Impregnasi adalah suatu proses infiltrasi bahan *embedding* ke dalam jaringan sebagai penyangga sediaan. Caranya yaitu dengan membungkus jaringan menggunakan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam parafin cair dengan suhu 56-58 °C selama 3 x 2 jam.

d. *Embedding*

*Embedding* (pembuatan blok) dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- 1) Menyiapkan alat cetak blok parafin (*base mould*) dan diletakkan di atas permukaan yang rata. Alat dan alas diolesi gliserin untuk mempermudah pemisahan alat cetak dengan blok parafin yang sudah beku.
- 2) Menuangkan parafin cair ke dalam alat cetak blok yang telah disiapkan, kemudian tanamkan jaringan yang telah diimpregnasi menggunakan pinset dengan posisi *cutting surface* menghadap ke *base mould*.
- 3) Menunggu beberapa menit hingga blok parafin beku.
- 4) Blok parafin dilepas dari cetakan kemudian diberi label dan siap dipotong.

e. Pemotongan jaringan menggunakan mikrotom

Tahap pemotongon jaringan menggunakan mikrotom adalah sebagai berikut:

- 1) Membersihkan pisau mikrotom menggunakan kasa atau kertas saring yang dibasahi *xylol* dengan arah tegak lurus.
- 2) Mengatur ketebalan pemotongan mikrotom yaitu 5 µm.
- 3) Hasil pemotongan dipindahkan secara hati-hati menggunakan pinset kecil ke dalam *water bath* dengan temperature 56-58 °C dan dibiarkan hingga sayatan mekar.

- 4) Sayatan yang telah mekar diambil menggunakan object glass, kemudian dikeringkan pada suhu 30-35 °C minimal selama 12 jam. Setelah itu lakukan tahap pengecatan jaringan.

### 3. Pengecatan jaringan

Pengecatan jaringan dilakukan menggunakan *hematoxylin eosin* dengan langkah-langkah yang dijelaskan pada tabel berikut:

Tabel 3.2 Proses pengecatan sediaan histologis menggunakan *hematoxylin eosin*

Proses	Larutan	Waktu
<b>Deparafinisasi</b>	Xylol	2-3 menit
	Xylol	2-3 menit
	Alkohol absolut	3 menit
	Alkohol absolut	3 menit
	Alkohol 95%	3 menit
	Alkohol 95%	3 menit
	Air mengalir	10 menit
<b>Cat utama</b>	<i>Mayer's Hematoxylin</i>	15 menit
	Air mengalir	20 menit
<b>Cat pembanding</b>	<i>Eosin</i>	15 detik-2 menit
<b>Dehidrasi</b>	Alkohol 95%	2-3 menit
	Alkohol 95%	2-3 menit
	Alkohol absolut	2-3 menit
	Alkohol absolut	2-3 menit
<b>Clearing</b>	Xylol	3 menit
	Xylol	3 menit
	Xylol	3 menit
<b>Mounting</b>	Entellan	5 menit

#### 3.9.5 Pengukuran Ketebalan Epitel

Ketebalan epitel diamati melalui sediaan histologis dari masing-masing hewan coba. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya binokuler *Olympus CX 41* dengan pembesaran 400x. Pengukuran dilakukan dengan cara mengukur ketebalan epitel dari stratum basalis hingga stratum korneum dengan bantuan *software optilab viewer 2.2* dan *image raster 3.0*. Epitel diukur pada tiga lapang pandang berbeda dan setiap lapang pandang diukur pada tiga titik yaitu epitel paling tebal, paling tipis, dan sedang. Tahapan pengukuran secara

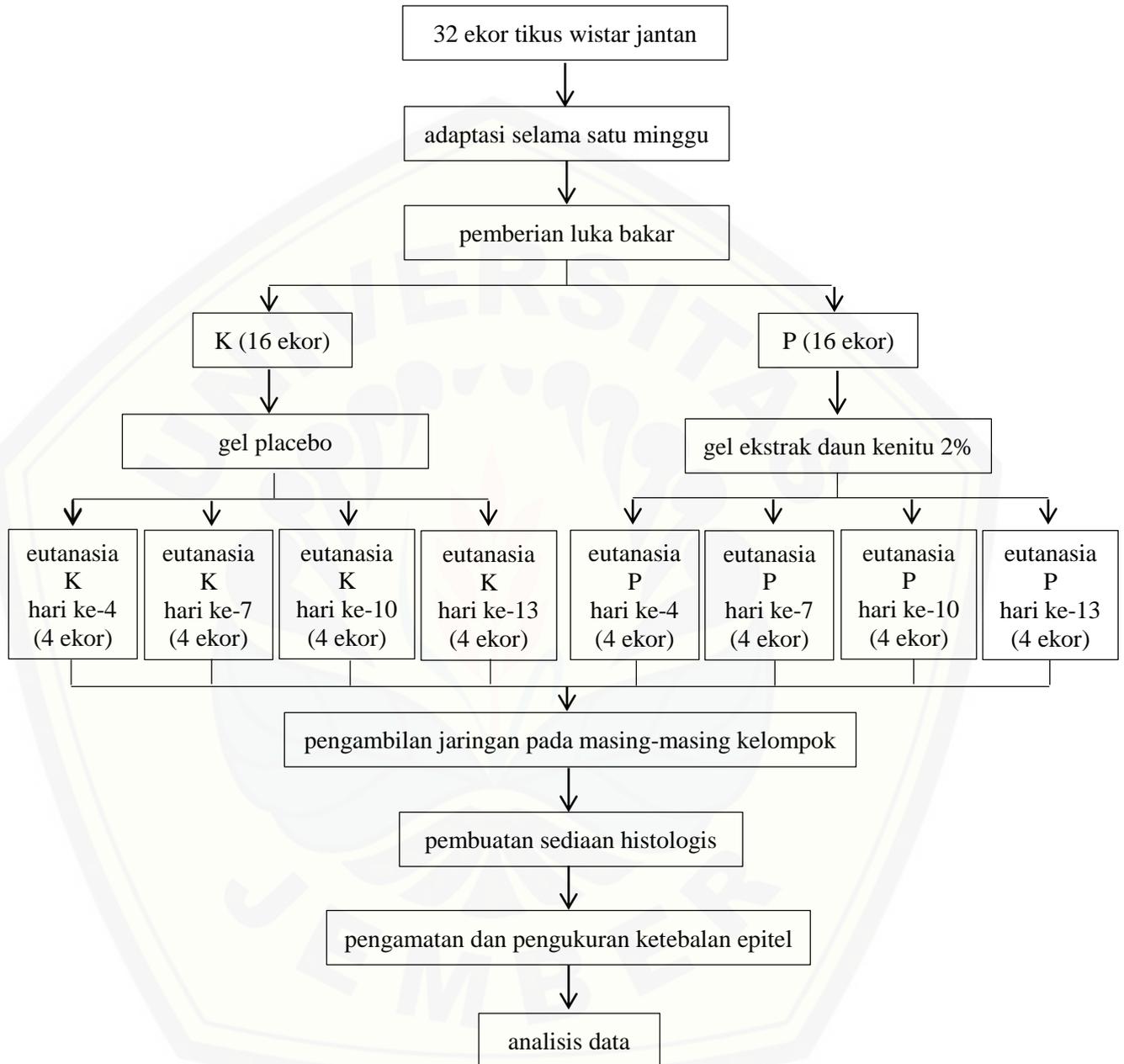
mikroskopik menggunakan *software optilab viewer 2.2* dan *image raster 3.0* adalah sebagai berikut:

1. Nyalakan mikroskop dan sambungkan pada komputer yang memiliki aplikasi *optilab* dan *image raster*
2. Letakkan preparat di bawah mikroskop. Atur perbesaran dan fokus pada mikroskop. Ambil gambar dengan menggunakan aplikasi *optilab* pada komputer
3. Buka aplikasi *image raster*
4. Pilih menu “File” pada aplikasi *image raster* lalu “Open image” untuk memilih gambar yang akan dihitung
5. Setelah muncul gambar, pilih menu “Measure” dengan mengatur “profile” perbesaran 40x (sesuai dengan perbesaran pada lensa objektif dan “unit” pengukuran “mikrometer”
6. Tarik garis pada epitel yang akan diukur, kemudian akan muncul angka tebal epitel.
7. Simpan gambar pada file di komputer.
8. Hitung tebal epitel rata-rata.

### **3.10 Analisis Data**

Analisis data dilakukan menggunakan komputer dengan bantuan perangkat lunak berupa program statistik SPSS. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Lavene*. Apabila data yang diperoleh berdistribusi normal dan homogen, dilakukan uji parametrik menggunakan uji *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Significant Differece)* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

### 3.11 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah gel ekstrak daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) berpengaruh terhadap proses reepitelisasi pada luka bakar mukosa bukal tikus wistar.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan penulis berdasarkan hasil penelitian adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh gel ekstrak daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) terhadap variabel lain pada penyembuhan luka bakar mukosa bukal tikus wistar.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan dosis yang berbeda untuk mengetahui dosis efektif ekstrak daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) terhadap reepitelisasi pada penyembuhan luka bakar mukosa bukal tikus wistar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ackermann, M. R. 2017. Inflammation and healing. *Pathologic Basis of Veterinary Disease Expert Consult*. 73-131.e2.
- Afianti, H. P. dan M. Murrukmihadi. 2015. Pengaruh variasi kadar gelling agent antibakteri sediaan gel ekstrak etanolik kemangi ( *ocimum basilicum* L . forma *citratum* back .). *Majalah Farmaseutik*. 11(2):307–315.
- Agra, L. C., J. N. S. Ferro, F. T. Barbosa, dan E. Barreto. 2015. Triterpenes with healing activity: a systematic review. *Journal of Dermatological Treatment*. 26(5):465–470.
- Amina, M. dan T. Amna. 2016. Encapsulation of  $\beta$  -sitosterol in polyurethane by sol – gel electrospinning. *Applied Biochemistry and Biotechnology*
- Apriasari, M. L. 2012. The management of chronic traumatic ulcer in oral cavity. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 45(2):68.
- Arundina, I., Y. Yuliati, P. Soesilawati, D. W. Damaiyanti, dan D. Maharani. 2015. The effects of golden sea cucumber extract (*stichopus hermannii*) on the number of lymphocytes during the healing process of traumatic ulcer on wistar rat's oral mucous. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 48(2):100.
- Betz, C. L. dan L. A. Sowden. 2009. *Buku Saku Keperawatan Pediatri*. Jakarta: EGC.
- Bin Sayeed, M., S. Karim, T. Sharmin, dan M. Morshed. 2016. Critical analysis on characterization, systemic effect, and therapeutic potential of beta-sitosterol: a plant-derived orphan phytosterol. *Medicines*. 3(4):29.
- Cawson, R.A. dan E. W. Odell. 2008. *Cawson's Essential of Oral Pathology and Oral Medicine Eighth Edition*. London: Elsevier.
- Coondoo, A., M. Phiske, S. Verma, dan K. Lahiri. 2014. Side-effects of topical steroids: a long overdue revisit. *Indian Dermatology Online Journal*. 5(4):416.

- Cowan, D., B. Ho, K. J. Sykes, dan J. L. Wei. 2013. Pediatric oral burns: a ten-year review of patient characteristics, etiologies and treatment outcomes. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 77(8):1325-8.
- Cui, D. 2013. *Histology Flash Cards with Clinical Correlations*. China: Lippincott Williams & Wilkins.
- Cui, S., H. Jiang, L. Chen, J. Xu, W. Sun, H. Sun, Z. Xie, Y. Xu, F. Yang, W. Liu, F. Feng, dan W. Qu. 2020. Design, synthesis and evaluation of wound healing activity for  $\beta$ -sitosterols derivatives as potent  $Na^+/K^+$ -ATPase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*. 103150.
- 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.
- Doan, H. V dan T. P. Le. 2020. Chrysophyllum cainito : a tropical fruit with multiple health benefits. 2020
- Doersch, K. M. dan M. K. Newell-Rogers. 2017. The impact of quercetin on wound healing relates to changes in  $\alpha v$  and  $\beta 1$  integrin expression. *Experimental Biology and Medicine*. 242(14):1424–1431.
- Dorlan, W. A. Newman. 2011. *Dorlan's Medical Pocket Dictionary* 28<sup>th</sup> Edition. Singapore: Elsevier. Terjemahan oleh A. A. Mahode. 2011. *Kamus Saku Kedokteran Dorlan Edisi 28*. Jakarta: EGC
- Eroschenko, V. P. 2013. *DiFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations* 12<sup>th</sup> Edition. Philadelphia: Wolters Kluwer
- Flecknell, P. 2015. *Laboratory Animal Anaesthesia: Fourth Edition*. *Laboratory Animal Anaesthesia: Fourth Edition*.
- Fuadi, M. I. dan U. Elfiah. 2015. Jumlah fibroblas pada luka bakar derajat ii pada tikus dengan pemberian gel ekstrak etanol biji kakao dan silver sulfadiazine ( the total fibroblast on the second degree burns of rats after treatment using ethanolic extract of cocoa beans ). *Pustaka Kesehatan*. 3(2):244–248.

- Gani, B. A., A. I. Nasution, N. Nazaruddin, L. Sartika, dan R. K. Alam. 2015. Potential of *Jatropha multifida* sap against traumatic ulcer. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 48(3):119.
- Glick, Michael dan W. M. F. Chair. 2015. *Burket's Oral Medicine* 12<sup>th</sup> Edition. Shelton: People's Medical Publishing House.
- 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? *Wound Repair and Regeneration*. 21(5):648–660.
- Gupta, A. dan P. Kumar. 2015. Assessment of the histological state of the healing wound. *Plastic and Aesthetic Research*
- Gupta, D. S., D. V. Lohe, dan D. R. Bhowate. 2018. Comparison of efficacy of natural honey and triamcinolone acetonide (0.1%) in the healing of oral ulcers—a clinical study. *Journal of Apitherapy*. 3(1):1–8.
- Hamdy, A. A. E. M. dan Ibrahim, M. A. E. 2019. Management of aphthous ulceration with topical quercetin: a randomized clinical trial. *The Journal of Contemporary Dental Practice*. 11(4):9–16.
- Harish, B. G., V. Krishna, H. S. Santosh Kumar, B. M. Khadeer Ahamed, R. Sharath, dan H. M. Kumara Swamy. 2008. Wound healing activity and docking of glycogen-synthase-kinase-3- $\beta$ -protein with isolated triterpenoid lupeol in rats. *Phytomedicine*. 15(9):763–767.
- Haschek, W. M., C. G. Rousseaux, dan M. A. Wallig. 2010. *Chapter 7 - Skin and Oral Mucosa*. Dalam *Fundamentals of Toxicologic Pathology* (Second Edition)
- 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.
- Hidayati, F., P. Agusmawanti, dan M. D. Firdausy. 2015. PENGARUH pemberian ekstrak jahe merah ( *zingiber officinale* var. *rubrum* ) terhadap jumlah sel makrofag ulkus traumatikus mukosa. *M*. 2:51–57.

- Houshyar, K. S., A. Momeni, M. N. Pyles, Z. N. Maan, A. J. Whittam, dan F. Siemers. 2015. Wnt signaling induces epithelial differentiation during cutaneous wound healing. *Organogenesis*. 11(3):95–104.
- Jackson, D. M. 1953. The Diagnosis of the Depth of Burning. *The British Journal of Surgery*. 588-596.
- Kahkeshani, N., F. Farzaei, M. Fotouhi, S. S. Alavi, R. Bahramsoltani, R. Naseri, S. Momtaz, Z. Abbasabadi, R. Rahimi, M. H. Farzaei, dan A. Bishayee. 2019. Pharmacological effects of gallic acid in health and disease: a mechanistic review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 22(3):225–237.
- Kartika, R. W., B. Bedah, J. Paru, dan A. P. Luka. 2015. Perawatan luka kronis dengan modern dressing. *Perawatan Luka Kronis Dengan Modern Dressing*
- Koffi, guessan, A. Kouakou Ernest, T. Marie-Solange, K. Beugré, dan Z. Guédé 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.
- Kondo, M., M. Yamato, R. Takagi, D. Murakami, H. Namiki, dan T. Okano. 2014. Significantly different proliferative potential of oral mucosal epithelial cells between six animal species. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*. 102(6):1829–1837.
- Koray, M. dan T. Tosun. 2019. *Oral Mucosal Trauma and Injuries*. Dalam *Trauma in Dentistry*
- Kowalske, K. J. 2011. Burn wound care burn wound assessment dressings. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of NA*. 22(2):213–227.
- Larjava, H. 2013. *Oral Wound Healing: Cell Biology and Clinical Management*. *Oral Wound Healing: Cell Biology and Clinical Management*.
- Leary, S., W. Underwood, R. Anthony, dan S. Cartner. 2013. *AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition*. American Veterinary Medical Association.

- McDonald III, R. W., K. Fraivillig, A. Schiano, E. Vansant, dan L. Hansen. 2014. Dissolve Strip for Treatment of Oral Thermal Burns. *International Application Published Under the Patent Cooperation Treaty (PCT)*. w o 2014/070485 A1.
- Mardiyantoro, F., K. Munika, V. Sutanti, M. Cahyati, dan A. R. Pratiwi. 2018. *Penyembuhan Luka Rongga Mulut*. Malang: UB Press.
- 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.
- Mescher, A. L. 2013. *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas*, 13th Edition. Mc-Graw Hill.
- Mirza, R. E., M. M. Fang, W. J. Ennis, dan T. J. Kohl. 2013. Blocking interleukin-1 $\beta$  induces a healing-associated wound macrophage phenotype and improves healing in type 2 diabetes. *Diabetes*. 62(7):2579–2587.
- Morton, J. F. 2019. *Fruits of Warm Climates. Postharvest Physiological Disorders in Fruits and Vegetables*.
- Mukherjee, H., D. Ojha, Y. P. Bharitkar, S. Ghosh, S. Mondal, S. Kaity, S. Dutta, A. Samanta, T. K. Chatterjee, S. Chakrabarti, N. B. Mondal, dan D. Chattopadhyay. 2013. Evaluation of the wound healing activity of shorea robusta, an indian ethnomedicine, and its isolated constituent(s) in topical formulation. *Journal of Ethnopharmacology*. 149(1):335–343.
- Naika, H. R. 2016. In silico and in vivo wound healing studies of ursolic acid isolated from clematis gouriana against gsk-3 beta. *Nusantara Bioscience*. 8(2):232–244.
- Nanci, A. 2013. *Ten Cate's Oral Histology*. Dalam Elsevier.
- Ningsih, I. Y., S. Zulaikhah, M. A. Hidayat, dan B. Kuswandi. 2016. Antioxidant activity of various kenitu (chrysophyllum cainito l.) leaves extracts from jember, indonesia. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 9:378–385.

- Parker, I. M., I. López, J. J. Petersen, N. Anaya, L. Cubilla-Rios, dan D. Potter. 2010. Domestication syndrome in caimito (*chrysophyllum cainito* l.): fruit and seed characteristics. *Economic Botany*. 64(2):161–175.
- Pedersen, G. W. 2012. *Buku Ajar Praktis Bedah Mulut (Oral Surgery)*/Gordon W. Pedersen. Jakaarta: EGC.
- Polera, N., M. Badolato, F. Perri, G. Carullo, dan F. Aiello. 2018. Quercetin and its natural sources in wound healing management. *Current Medicinal Chemistry*. 26(31):5825–5848.
- Pramudito, E. D. S., E. Efendi, dan M. A. Shodikin. 2019. Antioxidant effect of kenitu leaf etanol extract (*chrysophyllum cainito* l.) on wistar rat induced cyclophosphamid. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*
- Pravez, M., A. K. Patel, dan A. Kumar Patel. 2014. Wound healing activity of ursolic acid stearyl glucoside (uasg) isolated from *lantana camara* l. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 5(10):4439–4444.
- Primadina, N., A. Basori, dan D. Perdanakusuma. 2019. Qanun medika januari desember : desember januari 2019. *Qanun Medika*. 3(1):31–43.
- Puspitasari, D. dan M. L. Apriasari. 2017. Analysis of traumatic ulcer healing time under the treatment of the mauli banana (*musa acuminata*) 25% stem extract gel. *Padjadjaran Journal of Dentistry*. 29(1):21–25.
- Regezi, J. A. dan F. J. M. Verstraete. 2012. *Clinical-Pathologic Correlations*. Dalam Oral and Maxillofacial Surgery in Dogs and Cats
- Reinke, J. M. dan H. Sorg. 2012. Wound repair and regeneration. *European Surgical Research*. 49(1):35–43.
- Rismana, E., I. Rosidah, Y. Prasetyawan, O. Bunga, D. Erna, Y. Pusat, T. Farmasi, D. Medika, B. Pengkajian, dan D. P. Teknologi. 2013. Efektivitas khasiat pengobatan luka bakar sediaan gel mengandung fraksi ekstrak pegagan berdasarkan analisis hidroksiprolin dan histopatologi pada kulit kelinci. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 41(1):45–60.

- Rittié, L. 2016. Cellular mechanisms of skin repair in humans and other mammals. *Journal of Cell Communication and Signaling*. 10(2):103–120.
- Rousselle, P., M. Montmasson, dan C. Garnier. 2019. Extracellular matrix contribution to skin wound re-epithelialization. *Matrix Biology*. 75–76:12–26.
- Schaefer, T. J. dan O. Nunez Lopez. 2019. Burns, resuscitation and management. *StatPearls*. 1–6.
- Shai, A. dan H. I. Maibach. 2005. *Wound Healing and Ulcers of the Skin: Diagnosis and Therapy - The Practical Approach*. *Wound Healing and Ulcers of the Skin: Diagnosis and Therapy - The Practical Approach*.
- Shailajan, S. dan D. Gurjar. 2014. Pharmacognostic and phytochemical evaluation of chrysophyllum cainito linn. leaves. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 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*
- Shi, Y., B. Shu, R. Yang, Y. Xu, B. Xing, J. Liu, L. Chen, S. Qi, X. Liu, P. Wang, J. Tang, dan J. Xie. 2015. Wnt and notch signaling pathway involved in wound healing by targeting c-myc and hes1 separately. *Stem Cell Research and Therapy*. 6(1):1–13.
- Tiwari, V. K. 2012. Burn wound: how it differs from other wounds. *Indian Journal of Plastic Surgery*. 45(2):364–373.
- Velnar, T., T. Bailey, dan V. Smrkolj. 2009. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *Journal of International Medical Research*. 37(5):1528–1542.
- Vorstenbosch, J. 2017. Thermal Burns: Overview, Pathophysiology, Quantifying Burn Severity.
- 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 Journal Kedokteran Gigi*. 9(1):90-100.

## LAMPIRAN

Lampiran 3.1. *Ethical Clearance*

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)          FAKULTAS KEDOKTERAN-GIGI UNIVERSITAS JEMBER          (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH          FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</p>
<p><b>ETHIC COMMITTEE APPROVAL</b></p>	
<p><b>No.810/UN25.8/KEPK/DL/2019</b></p>	
<p>Title of research protocol : "The impact of Star Apple Leaf Extract Gel (<i>Chrysophyllum Cainito L.</i>) on Reepitelization of Burn Healing on Wistar Rat's Buccal Mucosa"</p>	
Document Approved	: Research Protocol
Principal investigator	: Septiana Dwi Rahayu
Member of research	:
Responsible Physician	: Septiana Dwi Rahayu
Date of approval	: Januari- Februari 2020
Place of research	: Laboratorium Fisiologi Bagian Biomedik FKG UNEJ
<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 15<sup>th</sup> 2020</p>	
<p>Dean of Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>   <p>(drg. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros.)</p>	<p>Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>   <p>(drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si.)</p>

**Lampiran 3.2. Surat 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](mailto:Polije@polije.ac.id) Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

---

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN**

No: 48/PL17.3.1.02/LL/2019

Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember No: 7202/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 : Septiana Dewi Rahayu  
NIM : 161610101072  
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.*

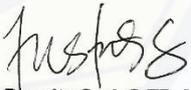
Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 6 Desember 2019

Kepala Laboratorium Tanaman

H. Lilik Mastuti, MP  
NIP. 195808201987032001

## Lampiran 3.3. Laporan Hasil Ekstraksi Daun Kenitu

 Lab. AT	<b>LABORATORIUM ANALISIS TERPADU</b> 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										
<b>LAPORAN HASIL UJI</b> No. 19/LHU/LAT/2019											
Nomor Analis : 19/11/2019	Nama Pengirim : Septiana Dwi										
Contoh : Daun kenitu	Alamat : FKG UNEJ										
Diterima Tanggal : 04 November 2019											
Catatan Contoh : Sampel diterima dalam kemasan plastik dalam bentuk daun kering											
<table border="1"><thead><tr><th>Kode Sampel</th><th>Parameter Uji</th><th>Satuan</th><th>Hasil Uji</th><th>Metode Uji</th></tr></thead><tbody><tr><td>A</td><td>Rendemen</td><td>gram</td><td>53,7146</td><td>Ekstraksi</td></tr></tbody></table>	Kode Sampel	Parameter Uji	Satuan	Hasil Uji	Metode Uji	A	Rendemen	gram	53,7146	Ekstraksi	
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 3.4. Dokumentasi Pembuatan Ekstrak Daun Kenitu**



1. Daun kenitu dibersihkan dengan air



2. Daun kenitu dikeringkan



3. Daun kenitu dihaluskan



4. Ekstraksi dengan teknik maserasi



5. Proses penyaringan



6. Ekstrak cair etanol daun kenitu



7. Proses evaporasi



8. Ekstrak kental daun kenitu

### Lampiran 3.5. Dokumentasi Pembuatan Gel Placebo dan Gel Ekstrak Daun Kenitu 2%



1. Penimbangan ekstrak kental daun kenitu



2. Bubuk CMC yang telah ditimbang



3. Bubuk CMC dicampur dengan aquades



4. Pengadukan bubuk CMC dan aquades hingga mengental



5. Pengadukan ekstrak daun kenitu dengan gel CMC



6. Gel ekstrak daun kenitu 2% dan gel placebo CMC yang telah jadi

**Lampiran 3.6. Dokumentasi Perlakuan Hewan Coba**

1. Pembuatan luka bakar pada mukosa bukal sebelah kiri



2. Aplikasi gel ekstrak daun kenitu 2% pada kelompok perlakuan



3. Aplikasi gel placebo pada kelompok kontrol



4. Eutanasia hewan coba



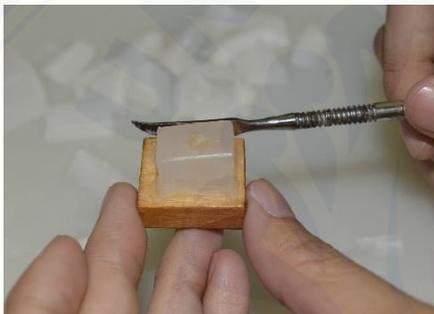
5. Pengambilan jaringan

**Lampiran 3.7. Dokumentasi Pemrosesan Jaringan**

1. Proses dehidrasi, *clearing*, dan impregnasi menggunakan alat *automatic tissue processor*



2. Proses *embedding*



3. Pemasangan pada balok kayu



4. Penyayatan



5. Proses pengeringan

**Lampiran 3.8. Alat dan Bahan Penelitian**



Kandang Hewan Coba



*Disposable Syringe*



Mesin Penggiling



*Rotary Evaporator*



Timbangan Analitik



*Rat Dental Chair*



Keterangan:

- |                      |                         |
|----------------------|-------------------------|
| 1. <i>Mortar</i>     | 8. Tisu                 |
| 2. <i>Pestle</i>     | 9. Handscoon            |
| 3. Pengaduk          | 10. Marker              |
| 4. Gelas arloji      | 11. <i>Cutter</i>       |
| 5. Sudip             | 12. Gunting bedah       |
| 6. Timbangan digital | 13. <i>Artery clamp</i> |
| 7. Eter              | 14. Pinset sirurgis     |



Mikrotom



Keterangan:

1. Mikroskop Binokuler
2. *Automatic Tissue Processor*



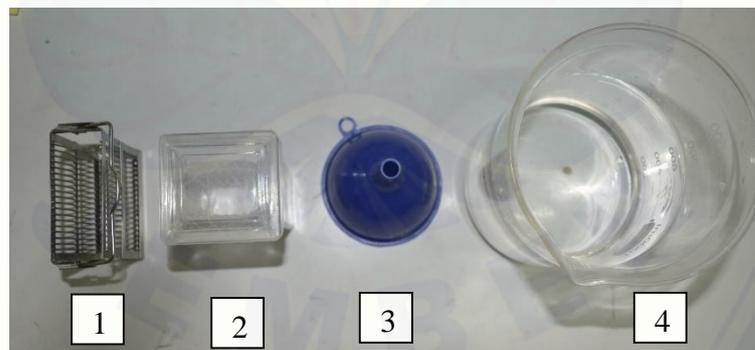
Waterbath



Slide Warmer

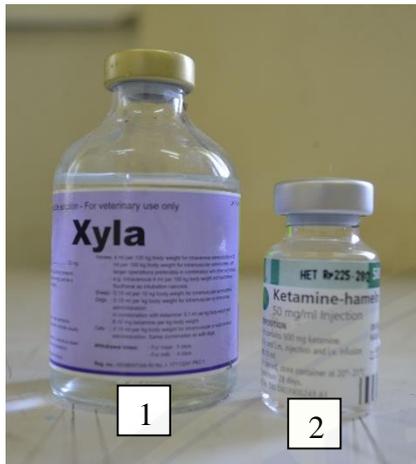


Optilab



Keterangan:

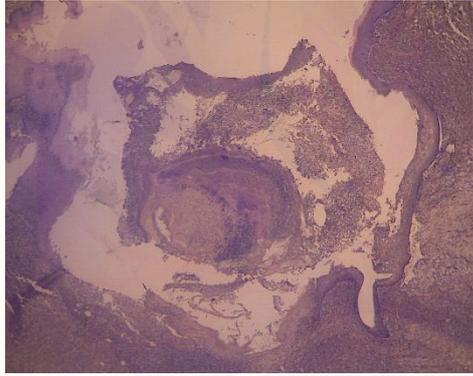
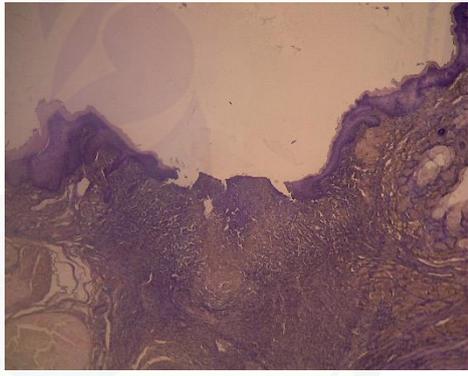
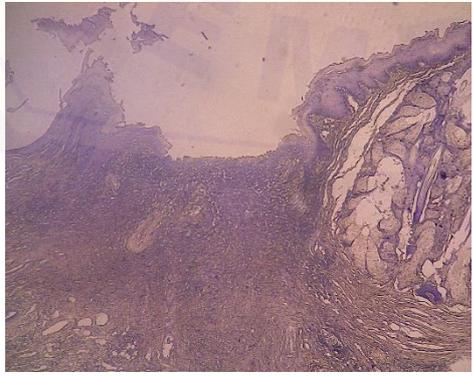
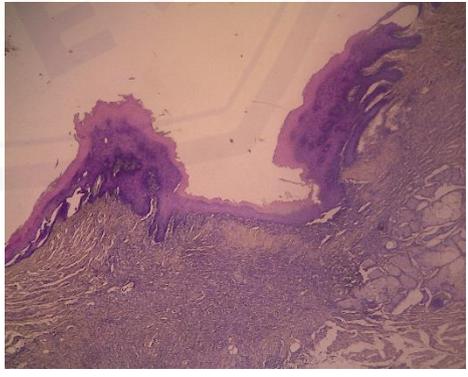
1. *Histological basket*
2. *Staining jar*
3. Corong
4. Gelas Beaker

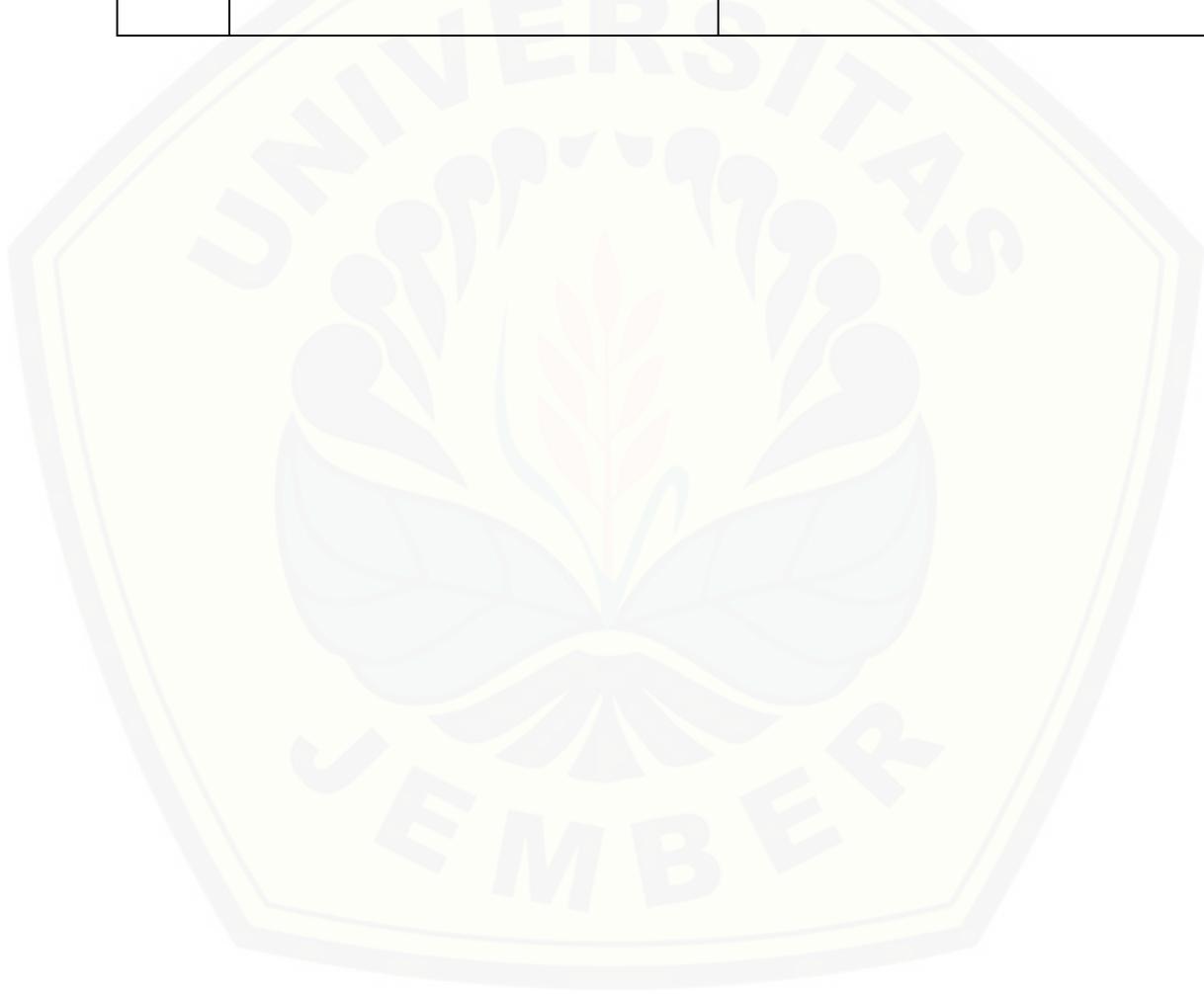
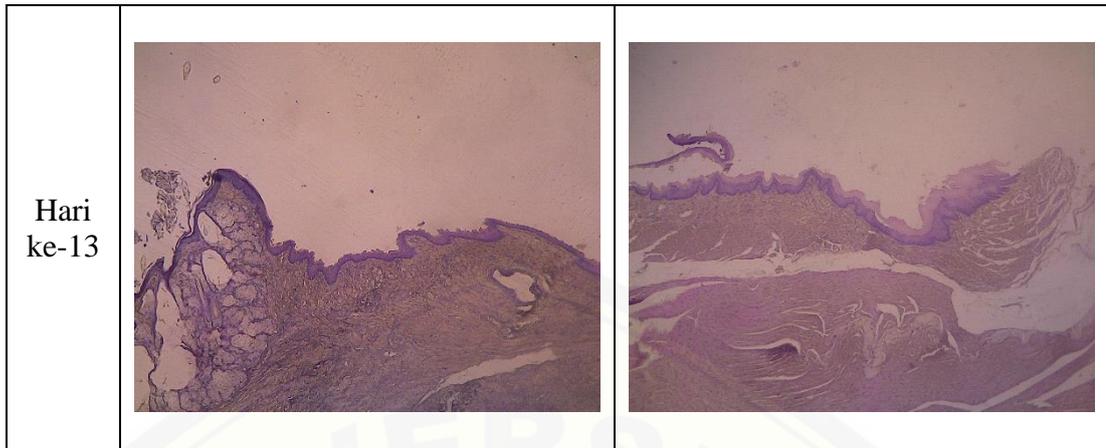


Keterangan:

1. *Xylazine*
2. *Ketamine*
3. *Mayer's Hematoxylin*
4. *Eosin*

**Lampiran 4.1. Gambar Mikroskopis Mukosa Bukal Tikus Wistar Pasca Pemberian Luka Bakar pada Perbesaran 40x dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)**

Ket.	Kelompok Kontrol (Pemberian Gel Placebo)	Kelompok Perlakuan (Pemberian Gel Ekstrak Daun Kenitu 2%)
Hari ke-4		
Hari ke-7		
Hari ke-10		



**Lampiran 4.2. Hasil Pengukuran Ketebalan Epitel**

## 1. Kelompok Kontrol

SUB KELOMPOK	SAMPEL	KETEBALAN EPITEL	JUMLAH	RATA-RATA	SIMPANGAN BAKU
HARI KE-4	1	11.876	29.422	7.356	8.803
	2	17.546			
	3	0			
	4	0			
HARI KE-7	1	35.508	123.559	30.890	4.390
	2	32.240			
	3	30.808			
	4	25.003			
HARI KE-10	1	56.158	240.232	60.058	6.799
	2	52.602			
	3	64.432			
	4	67.040			
HARI KE-13	1	69.310	270.299	67.575	5.635
	2	60.248			
	3	66.983			
	4	73.758			

## 2. Kelompok Perlakuan

SUB KELOMPOK	SAMPEL	KETEBALAN EPITEL	JUMLAH	RATA-RATA	SIMPANGAN BAKU
HARI KE-4	1	35.454	139.375	34.844	5.842
	2	39.958			
	3	37.435			
	4	26.528			
HARI KE-7	1	58.389	226.077	56.519	1.642
	2	57.250			
	3	54.635			
	4	55.803			
HARI KE-10	1	99.558	392.887	98.222	5.637
	2	105.233			
	3	96.233			
	4	91.863			
HARI KE-13	1	107.215	407.301	101.825	17.204
	2	110.054			
	3	76.329			
	4	113.703			

### Lampiran 4.3. Hasil Analisis Statistik

#### 1. Uji Normalitas Data *Shapiro-Wilk*

	Statistic	df	Sig.
Placebo hari ke-4	.847	4	.217
Placebo hari ke-7	.962	4	.792
Placebo hari ke-10	.921	4	.540
Placebo hari ke-13	.982	4	.913
Gel ekstrak daun kenitu 2% hari ke-4	.892	4	.395
Gel ekstrak daun kenitu 2% hari ke-7	.983	4	.920
Gel ekstrak daun kenitu 2% hari ke-10	.995	4	.984
Gel ekstrak daun kenitu 2% hari ke-13	.771	4	.059

*Lilliefors Significance Correction*

Sig. > 0.05, artinya data pada tiap kelompok berdistribusi normal.

#### 2. Uji Homogenitas *Levene*

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Epitel	Based on Mean	1.468	1	30	.235
	Based on Median	1.271	1	30	.269
	Based on Median and with adjusted df	1.271	1	29.278	.269
	Based on trimmed mean	1.466	1	30	.235

Sig. > 0.05, artinya data pada tiap kelompok homogen.

3. Uji *One Way Anova*

Epitel					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7879.142	1	7879.142	10.013	.004
Within Groups	23606.665	30	786.889		
Total	31485.807	31			

Sig. < 0.05, artinya terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

4. Uji LSD (*Least Significant Difference*)

(I) Sub Kelompok	(J) Sub Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol hari ke-4	Kontrol hari ke-7	-23.534250*	5.805849	.000	-35.51693	-11.55157
	Kontrol hari ke-10	-52.702500*	5.805849	.000	-64.68518	-40.71982
	Kontrol hari ke-13	-60.219250*	5.805849	.000	-72.20193	-48.23657
	Perlakuan hari ke-4	-27.488250*	5.805849	.000	-39.47093	-15.50557
	Perlakuan hari ke-7	-49.163750*	5.805849	.000	-61.14643	-37.18107
	Perlakuan hari ke-10	-90.866250*	5.805849	.000	-102.84893	-78.88357
	Perlakuan hari ke-13	-94.469750*	5.805849	.000	-106.45243	-82.48707
Kontrol hari ke-7	Kontrol hari ke-4	23.534250*	5.805849	.000	11.55157	35.51693
	Kontrol hari ke-10	-29.168250*	5.805849	.000	-41.15093	-17.18557
	Kontrol hari ke-13	-36.685000*	5.805849	.000	-48.66768	-24.70232
	Perlakuan hari ke-4	-3.954000	5.805849	.502	-15.93668	8.02868

	Perlakuan hari ke-7	-25.629500*	5.80584 9	.000	-37.61218	-13.64682
	Perlakuan hari ke-10	-67.332000*	5.80584 9	.000	-79.31468	-55.34932
	Perlakuan hari ke-13	-70.935500*	5.80584 9	.000	-82.91818	-58.95282
Kontrol hari ke-10	Kontrol hari ke-4	52.702500*	5.80584 9	.000	40.71982	64.68518
	Kontrol hari ke-7	29.168250*	5.80584 9	.000	17.18557	41.15093
	Kontrol hari ke-13	-7.516750	5.80584 9	.208	-19.49943	4.46593
	Perlakuan hari ke-4	25.214250*	5.80584 9	.000	13.23157	37.19693
	Perlakuan hari ke-7	3.538750	5.80584 9	.548	-8.44393	15.52143
	Perlakuan hari ke-10	-38.163750*	5.80584 9	.000	-50.14643	-26.18107
	Perlakuan hari ke-13	-41.767250*	5.80584 9	.000	-53.74993	-29.78457
	Kontrol hari ke-13	Kontrol hari ke-4	60.219250*	5.80584 9	.000	48.23657
Kontrol hari ke-7		36.685000*	5.80584 9	.000	24.70232	48.66768
Kontrol hari ke-10		7.516750	5.80584 9	.208	-4.46593	19.49943
Perlakuan hari ke-4		32.731000*	5.80584 9	.000	20.74832	44.71368
Perlakuan hari ke-7		11.055500	5.80584 9	.069	-.92718	23.03818
Perlakuan hari ke-10		-30.647000*	5.80584 9	.000	-42.62968	-18.66432
Perlakuan hari ke-13		-34.250500*	5.80584 9	.000	-46.23318	-22.26782
Perlakuan hari ke-4		Kontrol hari ke-4	27.488250*	5.80584 9	.000	15.50557
	Kontrol hari ke-7	3.954000	5.80584 9	.502	-8.02868	15.93668

	Kontrol hari ke-10	-25.214250*	5.80584 9	.000	-37.19693	-13.23157
	Kontrol hari ke-13	-32.731000*	5.80584 9	.000	-44.71368	-20.74832
	Perlakuan hari ke-7	-21.675500*	5.80584 9	.001	-33.65818	-9.69282
	Perlakuan hari ke-10	-63.378000*	5.80584 9	.000	-75.36068	-51.39532
	Perlakuan hari ke-13	-66.981500*	5.80584 9	.000	-78.96418	-54.99882
Perlakuan hari ke-7	Kontrol hari ke-4	49.163750*	5.80584 9	.000	37.18107	61.14643
	Kontrol hari ke-7	25.629500*	5.80584 9	.000	13.64682	37.61218
	Kontrol hari ke-10	-3.538750	5.80584 9	.548	-15.52143	8.44393
	Kontrol hari ke-13	-11.055500	5.80584 9	.069	-23.03818	.92718
	Perlakuan hari ke-4	21.675500*	5.80584 9	.001	9.69282	33.65818
	Perlakuan hari ke-10	-41.702500*	5.80584 9	.000	-53.68518	-29.71982
	Perlakuan hari ke-13	-45.306000*	5.80584 9	.000	-57.28868	-33.32332
	Perlakuan hari ke-10	Kontrol hari ke-4	90.866250*	5.80584 9	.000	78.88357
Kontrol hari ke-7		67.332000*	5.80584 9	.000	55.34932	79.31468
Kontrol hari ke-10		38.163750*	5.80584 9	.000	26.18107	50.14643
Kontrol hari ke-13		30.647000*	5.80584 9	.000	18.66432	42.62968
Perlakuan hari ke-4		63.378000*	5.80584 9	.000	51.39532	75.36068
Perlakuan hari ke-7		41.702500*	5.80584 9	.000	29.71982	53.68518
Perlakuan hari ke-13		-3.603500	5.80584 9	.541	-15.58618	8.37918

Perlakuan hari ke-13	Kontrol hari ke-4	94.469750*	5.80584 9	.000	82.48707	106.4524 3
	Kontrol hari ke-7	70.935500*	5.80584 9	.000	58.95282	82.91818
	Kontrol hari ke-10	41.767250*	5.80584 9	.000	29.78457	53.74993
	Kontrol hari ke-13	34.250500*	5.80584 9	.000	22.26782	46.23318
	Perlakuan hari ke-4	66.981500*	5.80584 9	.000	54.99882	78.96418
	Perlakuan hari ke-7	45.306000*	5.80584 9	.000	33.32332	57.28868
	Perlakuan hari ke-10	3.603500	5.80584 9	.541	-8.37918	15.58618

Sig. < 0.05, artinya terdapat perbedaan yang bermakna.