

MEKANISME BIJI KAKAO (*Theobroma cacao*, L) DALAM MENURUNKAN INFILTRASI LIMFOSIT PADA DAERAH LUKA PENCABUTAN GIGI TIKUS
MECHANISM OF COCOA SEEDS (*Theobroma cacao*, L) TO REDUCE THE INFILTRATION OF LYMPHOCYTES IN THE REGIONAL OF TOOTH EXTRACTION OF RATS

Atik Kurniawati¹, Zainul Cholid, Budi Yuwono¹
^{1,2} FKG Universitas Jember

*Corresponding author's email: atik.fkg@unej.ac.id

ABSTRACT

*The act of removing a tooth from the alveolar bone socket is known as tooth extraction. Tooth extraction causes inflammation around the extraction area. Inflammation after tooth extraction will result in an increase in lymphocyte cells. This increase in the number of lymphocytes is too high due to continued inflammation can cause tissue damage around the socket. Cocoa beans contain chemical compounds that have anti-inflammatory and antioxidant properties that can help the post-extraction inflammation process so that wound healing is faster. Objective: to analyze the mechanism of cocoa bean extract (*Theobroma cacao*, L) on the decrease in the number of lymphocytes in the socket after tooth extraction of male Wistar rats. Methods: including laboratory experimental research with the post-test control group design. The results of the One-way Anova test showed that the number of lymphocytes decreased in all groups with a significant difference ($p < 0.05$). LSD post hoc test results showed that the overall group was significantly different. Results and Conclusions: 8% cocoa bean extract gel (*Theobroma Cacao*, L) had an effect on reducing the number of lymphocyte cells in the socket after tooth extraction of male wistar rats compared to those not treated.*

Keywords: Cocoa, lymphocyte, tooth extraction.

ABSTRAK

Suatu tindakan mengeluarkan gigi dari soket tulang alveolar dikenal sebagai pencabutan gigi. Pencabutan gigi menimbulkan terjadinya peradangan di sekitar daerah pencabutan. Peradangan pasca pencabutan gigi akan mengakibatkan meningkatnya sel limfosit. Peningkatan jumlah limfosit ini terlalu banyak akibat inflamasi yang berkelanjutan dapat menyebabkan kerusakan jaringan di sekitar soket. Biji kakao mengandung senyawa kimia yang memiliki sifat antiinflamasi dan antioksidan yang dapat membantu proses radang pasca pencabutan agar penyembuhan luka menjadi lebih cepat. **Tujuan:** untuk menganalisis Mekanisme Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma Cacao*, L) Terhadap Penurunan Infiltrasi Limfosit Pada Daerah Luka Pencabutan Gigi Tikus Wistar Jantan. **Metode:** termasuk penelitian eksperimental laboratories dengan rancangan penelitian the post-test control group design. Hasil uji *One-way Anova* menunjukkan jumlah sel limfosit menurun pada semua kelompok dengan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Hasil uji *post hoc* LSD menunjukkan keseluruhan kelompok berbeda signifikan. **Hasil dan Kesimpulan:** pemberian gel ekstrak biji kakao 8% (*Theobroma Cacao*, L) berpengaruh dalam menurunkan infiltrasi sel limfosit pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan dibanding yang tidak diberikan perlakuan.

Keywords: kakao, limfosit, pencabutan gigi.

PENDAHULUAN

Proses mengeluarkan gigi dari soket tulang alveolar dikenal dengan istilah pencabutan gigi (eksodontia). Pada proses pencabutan gigi paling banyak terjadi karena gigi karies, juga dikarenakan adanya penyakit periodontal, gigi yang mengalami supernumerary teeth, impaksi, gigi yang gagal dalam perawatan endodontik, gigi yang terlibat kista atau tumor, serta gigi fraktur. Selain itu pencabutan gigi dilakukan juga dengan tujuan perawatan orthodontik atau prostodontik. Pencabutan gigi meninggalkan soket gigi dan menimbulkan luka di sekitar jaringan lunak [1]. Akibat gigi yang dicabut menimbulkan terjadinya kerusakan jaringan periodontal dan pembuluh darah di daerah sekitar gigi yang dicabut. Proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi memerlukan waktu selama beberapa minggu untuk regenerasi jaringan granulasi dan gingiva [2]. Salah satu tahapan dalam proses penyembuhan luka adalah fase inflamasi atau fase peradangan. Pada fase inflamasi merupakan suatu proses normal apabila tubuh mengalami jejas, merupakan respons protektif normal terhadap luka jaringan yang dapat diakibatkan oleh adanya jejas fisik, jejas kimia yang merusak, atau jejas mikrobiologik. Akibat jejas tersebut tubuh akan memberi respons berupa peradangan yang salah satunya terjadi peningkatan dari jenis sel leukosit. Sel leukosit yang berperan penting dalam proses inflamasi adalah sel limfosit. Akan tetapi peningkatan limfosit ini tidak boleh berlanjut sehingga jumlah limfosit harus diturunkan proses inflamasi tidak berlanjut dan proses penyembuhan segera terjadi. [3]. Pada proses peradangan terdapat salah satu tanda yaitu peningkatan sel leukosit, artinya jumlah limfosit juga terjadi peningkatan Akan tetapi jika jumlah limfosit terlalu rendah, maka tubuh tidak mampu memfagosit antigen atau melawan sumber infeksi [4] Sehingga diperlukan suatu upaya untuk mempertahankan jumlah limfosit yang cukup apabila terjadi jejas pada tubuh

Biji kakao (*Theobroma cacao*, L) merupakan salah satu kandidat bahan yang mampu mengendalikan jumlah limfosit dalam tubuh. Diketahui dalam kakao mempunyai peranan penting bagi Kesehatan tubuh manusia, dimana senyawa kimia pada biji kakao antara lain flavonoid, katekin, epikatekin theobromine, kafein, dan polifenol diketahui mempunyai aktivitas anti-inflamasi maupun anti-oksidan [5]. Senyawa flavonoid berfungsi sebagai antiinflamasi, antioksidan, dan antibakteri, sedangkan polifenol berfungsi sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Untuk katekin, epikatekin dan kafein memiliki fungsi dalam memberikan respons imunospesifik dan mampu bereaksi dengan produk-produk respons tersebut [3]. sedangkan theobromine memiliki fungsi sebagai antimikroba [5] [6].

Berdasarkan uraian tersebut maka, peneliti tertarik untuk menganalisis bagaimana mekanisme ekstrak biji kakao terhadap penurunan infiltrasi limfosit pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan, yang selama ini belum pernah dilaporkan peneliti lain.

METODE PENELITIAN

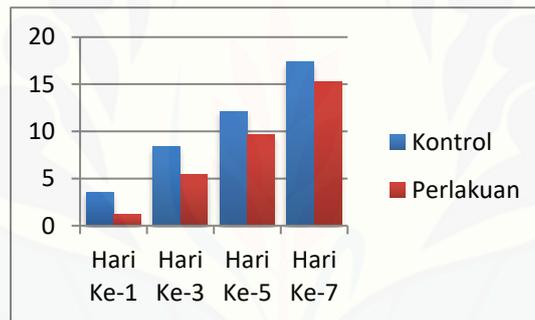
Termasuk dalam jenis penelitian *eksperimental laboratories* dan rancangan penelitian yang dipilih *the post test control group design*. Variabel penelitian yaitu jumlah infiltrasi sel limfosit. Sampel penelitian yaitu sebanyak 32 ekor tikus *Wistar* jantan yang dikelompokkan menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Semua sampel dilakukan pencabutan gigi molar satu kiri bawah. Pada kelompok kontrol tidak diberi perlakuan untuk kelompok perlakuan diberi gel ekstrak biji kakao 8% sebanyak 2 mg/ kgbb, secara topikal. Pemberian hari ke-1, ke-3, ke-5 dan hari ke-7 setelah pencabutan selanjutnya tikus dikorbankan, dilanjutkan prosesing jaringan, pewarnaan *haematoksilin eosin* dan dilakukan penghitungan infiltrasi jumlah sel limfosit dengan mikroskop binokuler perbesaran 400x dengan 3 lapang pandang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 4.1 Rerata infiltrasi jumlah limfosit tikus Wistar jantan pasca pencabutan gigi

Pengamatan	Hari Ke 1 (mean±SD)	Hari Ke 3 (mean±SD)	Hari Ke 5 (mean±SD)	Hari Ke 7 (mean±SD)
Kelompok Kontrol	3,5675±0,20056	8,3500±0,19149	12,1450±0,27343	17,3925±0,23286
Kelompok Perlakuan	1,1750±0,17078	5,4600±0,26179	9,6125±0,15987	15,3150±0,20551

Rerata infiltrasi jumlah sel limfosit pada hari ke-1, ke-3, ke-5 maupun hari ke-7 (Tabel 4.1) dapat diartikan bahwa jumlah sel limfosit pada kelompok kontrol lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Rerata jumlah sel limfosit terendah adalah pada kelompok perlakuan pada hari ke-1, sedangkan rerata jumlah sel limfosit tertinggi terdapat pada kelompok kontrol pada hari ke-7. Persentase penurunan jumlah limfosit pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol terbesar pada hari ke-1 yaitu sebesar 67,06377% diikuti hari ke-3 34,61078%, hari ke-5 20,8522% dan hari ke-7 11,9448%.



Gambar 4 Histogram rerata infiltrasi jumlah limfosit pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan

Data hasil pengamatan dianalisis dengan uji *One-way Anova* menunjukkan bahwa infiltrasi jumlah limfosit pada semua kelompok terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) (Tabel 1). Tabel 4.2 Hasil uji *One-way Anova*

	Sig. (p)
Antar Kelompok	0,00

Keterangan *: perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Penelitian ini memilih bentuk sediaan gel dengan aplikasi secara topikal pada luka soket pencabutan gigi pada tikus wistar jantan. Sediaan gel dengan aplikasi topikal dipilih karena memiliki kelebihan berupa pengaplikasiannya yang mudah serta terlokalisir sehingga reaksi yang diharapkan akan berlangsung lebih cepat tanpa melalui proses penyerapan sistemik. Namun aplikasi secara topikal gel ekstrak biji kakao pada soket pencabutan gigi memiliki kekurangan yaitu sediaan gel akan mudah larut oleh makanan atau saliva dikarenakan bahan pembawa gel yang digunakan adalah CMC-Na yang memiliki salah satu sifat yaitu mudah

terdispersi dalam air pada semua suhu. Selain itu seharusnya setelah pengaplikasian pada soket seharusnya dijahit dikarenakan tikus termasuk hewan pengerat sehingga gel tidak mudah terlepas dari soket. [7].

Hasil penelitian yang diperoleh yaitu adanya penurunan bermakna rata-rata jumlah limfosit pada kelompok perlakuan dibanding dengan kelompok kontrol. Kelompok kontrol memiliki rata-rata jumlah limfosit yang lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol rata-rata jumlah limfosit pada hari ketiga lebih tinggi daripada hari pertama, pada kelompok kontrol hari ketujuh memiliki jumlah limfosit tertinggi dibanding dengan hari ke-1, ke-3 dan ke-5 pada seluruh kelompok. Terjadinya jumlah yang paling tinggi pada kelompok hari ke-7 disebabkan oleh proliferasi sel limfosit paling banyak terjadi pada hari ke-7 dan akan menurun pada hari ke-14 setelah perlakuan [8]. Selain itu waktu yang dibutuhkan oleh limfosit untuk produksi dan diferensiasi menjadi sel efektor pada jaringan yaitu sekitar 3 sampai 5 hari, dan selanjutnya limfosit yang matang akan keluar dari vaskularisasi menuju ke jaringan yang mengalami jejas yang kemudian dapat diamati melalui pengambilan jaringan pada soket tikus. Setelah itu peradangan akan menurun untuk memasuki fase penyembuhan [5].

Pada proses penyembuhan luka terdapat beberapa fase yang harus dilewati. Fase yang pertama adalah fase inflamasi, tahap yang kedua adalah fase proliferasi, sedangkan tahap yang terakhir adalah maturasi [9]. Pada fase inflamasi, limfosit memiliki peranan sangat penting. Peran penting ini karena terkait dengan tugas dari sel limfosit sebagai salah satu sel imun yang berhubungan dengan reaksi imunitas dalam mempertahankan kondisi homeostasis tubuh terhadap serangan mikroba dan makromolekul maupun jejas asing. Terdapat dua macam limfosit, yaitu limfosit T maupun limfosit B. Limfosit B akan berkembang menjadi sel plasma yang menghasilkan antibodi. Apabila terdapat serangan antigen spesifik, maka akan tubuh akan membentuk suatu antibodi spesifik pula. Apabila suatu saat tubuh dimasuki antigen spesifik yang telah dikenali limfosit B tersebut, maka tubuh telah mempersiapkan untuk memberikan respons yang lebih cepat dan lebih hebat terhadap pertemuan berikutnya dengan antigen yang sama [10]. Limfosit T berperan dalam proses imunitas seluler dimana limfosit T tersebut dapat bertugas secara langsung menghancurkan sel-sel sasaran spesifik, suatu proses yang dikenal sebagai respons imun yang diperantarai sel. Sel yang menjadi sasaran limfosit T mencakup sel-sel tubuh yang dimasuki oleh jejas. Jejas yang dimaksud dapat berasal dari mikroorganisme, bisa bakteri, jamur maupun virus. Pada penelitian ini jejas berupa fisik yaitu proses pencabutan gigi, dimana terjadinya luka pencabutan gigi sangat berpeluang terjadi infeksi karena bakteri yang ada di rongga mulut. Perlawanan tubuh terhadap serangan jejas ini berupa peradangan. Proses peradangan ini salah satunya ditandai gejala yang terjadi yaitu peningkatan jumlah limfosit sebagai respons pertahanan tubuh. [8].

Berdasarkan rata-rata jumlah sel limfosit, pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi gel ekstrak biji kakao 8% memiliki hasil yang lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, dengan hasil rata-rata terendah sebesar 1,1750 sel/lapang pandang dengan persentase penurunan sebesar 67,06377% yaitu pada kelompok gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-1. Sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan yang paling efektif pada seluruh kelompok adalah pemberian gel ekstrak biji kakao dengan konsentrasi 8% pada hari ke-1. Dikatakan efektif karena gel ekstrak biji kakao 8% dapat menurunkan jumlah limfosit secara signifikan.

Pemberian gel ekstrak biji kakao yang dapat menurunkan jumlah limfosit berangsur-angsur setiap harinya menandakan adanya efek dari berbagai macam sel radang. Sel radang akan mengeluarkan mediator inflamasi yang berfungsi untuk memanggil sel radang selanjutnya. Sedangkan limfosit merupakan salah satu sel radang yang juga berperan besar dalam radang kronis [10]. Hal ini menunjukkan semakin banyak jumlah limfosit maka semakin banyak sel jaringan yang terinfeksi. Artinya, penurunan jumlah sel limfosit pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol menunjukkan adanya infeksi sel jaringan yang lebih sedikit serta terjadi efektifitas dalam inflamasi yang terjadi, karena tidak terjadi proses inflamasi yang tidak

berkepanjangan. Sehingga diharapkan inflamasi akan berjalan lebih optimal dan akhirnya proses penyembuhan luka akan berlangsung lebih cepat.

Menurut hasil uji kandungan senyawa aktif dari gel ekstrak biji kakao 8% yang telah dilakukan di Laboratorium Analisis Terpadu Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, didapatkan bahwa dalam gel ekstrak biji kakao 8% mengandung kadar antioksidan alami sebesar 43,6% dan flavonoid sebesar 10,9%. Flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang dapat membantu melindungi jaringan dari kerusakan akibat proses inflamasi yang berkepanjangan, dimana salah satunya disebabkan oleh peningkatan jumlah sel limfosit. Salah satu mekanisme senyawa aktif pada kakao yaitu flavonoid yang berperan sebagai antiinflamasi dengan menghambat pelepasan mediator inflamasi salah satunya IL-1 dan TNF. IL-1 berperan dalam peningkatan sekresi kemokin dan sitokin lainnya seperti IL-6, serta peningkatan ekspresi molekul adhesi. Apabila IL-1 dihambat, maka sekresi kemokin dan ekspresi molekul adhesi akan terhambat pula. Kemokin dan molekul adhesi merupakan dua hal penting yang berperan dalam induksi migrasi limfosit dari kelenjar limfoid menuju jaringan yang mengalami trauma pada inflamasi kronis [11].

Proses penurunan jumlah limfosit dapat juga dikarenakan adanya aktivitas antioksidan pada gel ekstrak biji kakao 8%. Mekanisme penurunan jumlah limfosit ini diduga dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi oksidasi sehingga terjadi peningkatan aktifitas enzim Superoxide dismutase (SOD) [11]. Adanya paparan radikal bebas dari jejas yang masuk akan dapat menyebabkan penurunan jumlah SOD. SOD dan jumlah sel radang bekerja berlawanan. Apabila semakin rendah kadar SOD maka semakin tinggi jumlah sel radang. SOD dikenal sebagai enzim antioksidan yang memegang peranan penting dalam melindungi sel dari stres oksidatif dan menjaga keseimbangan sel dari berbagai macam radikal bebas. Dapat dikatakan bahwa apabila kita menginginkan menurunkan jumlah SOD dalam tubuh maka konsumsilah kakao karena di dalamnya terkandung banyak anti-oksidan. sehingga akan menurunkan jumlah sel radang berlebih dan melindungi tubuh dari kerusakan jaringan yang tidak diinginkan.

Mekanisme lain menurunnya jumlah limfosit diduga juga diakibatkan oleh flavonoid yang terkandung dalam ekstrak biji kakao karena dalam flavonoid memiliki aktivitas antiinflamasi yang bekerja dengan cara menghambat fase penting dalam biosintesis prostaglandin yaitu terutama pada jalur lipooksigenase (LOX). Lipooksigenase sendiri merupakan enzim yang mampu merubah asam arakhidonat menjadi leukotrien yang berperan dalam memberikan sinyal terhadap migrasi sel leukosit ke jaringan, limfosit merupakan salah satu bagian dari sel leukosit [12]. Dengan terhambatnya kerja lipooksigenase oleh flavonoid dalam kakao maka infiltrasi limfosit ke jaringan akan menurun dan proses inflamasi akan terhambat, penghambatan ini akan mengurangi inflamasi sehingga proses penyembuhan akan lebih cepat tercapai.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian adalah pemberian gel ekstrak biji kakao 8% (*Theobroma Cacao*, L) dapat berpengaruh menurunkan infiltrasi jumlah limfosit pada daerah luka pencabutan gigi tikus wistar jantan dibanding yang tidak diberikan perlakuan apapun

ACKNOWLEDGMENT

Terimakasih kepada analis Lab. Biomedik FKG UNEJ dan LP2M Universitas Jember.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Permatasari, N., R. Pasaribu., dan A. Razaq. 2012. Efektifitas ekstrak Ginseng Asia (*Panax ginseng*) dalam meningkatkan jumlah pembuluh darah pada soket mandibula pasca pencabutan gigi *Rattus norvegicus*. *Skripsi*. Malang: Fakultas Kedokteran

- Universitas Brawijaya.
- [2] Torres dan Lagares. 2010. *Prospective assessment of post extraction gingival closure with bone substitute and calcium sulphate*. Jakarta: EGC.
 - [3] Dorland, W.A. dan Newman. 2011. *Kamus Kedokteran Dorland Edisi 31*. Alih bahasa dr. Huriawati Hartanto, dkk. Jakarta: EGC.
 - [4] Saraf, Sanjay. 2006. *Text Book Of Oral Pathology*. First Edition. New Delhi, India : Jaypee Brother Medical Publisher Ltd.
 - [5] Kayaputri. 2014. *Kajian Fitokimia Ekstrak Kulit Biji Kakao (Theobroma cacao L.)*. *Chimica et Natura Acta*.
 - [6] Bloom & Fawcett, 2002 *Buku Ajar Histologi*, edisi 12 , alihbahasa Jan Tamboyong Penerbit Bukukedokteran. Jakarta: EGC
 - [7] Rowe, R.C. et Al. (2009). *Handbook Of Pharmaceutical Excipients*, 6th Ed, The Pharmaceutical Press, London.
 - [8] Sherwood, Lauralee. 2012. *Fisiologi Manusia Dari Sel Ke Sistem*. Jakarta : EGC.
 - [9] Junqueira, L.C., J. Carneiro, dan R.O. Kelley. 2007. *Basic Histology*. Fifth edition. California: Sage Publication. Terjemahan oleh J. Tambayang. 2008. *Histologi Dasar*
 - [10] Robbins, S. RS. Dan Kumar, V. 2007. "Basic Patology". Disadur Staf Pengajar Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. *Buku Ajar Patologi*. Edisi 7. Jakarta : EGC.
 - [11] Erniati, 2007. "Efek Konsumsi Minuman Bubuk Kakao Bebas Lemak Terhadap Sifat Antioksidatif Limfosit Subjek Perempuan". Bogor: Institut Pertanian Bogor.
 - [12] Wilmana, P.F., dan Gan, S. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.