

**PENGARUH PEMBERIAN PERASAN DAUN BIDURI
(*Calotropis gigantea*) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL
POLYMORFONUKLEAR (PMN) PADA JARINGAN
GRANULASI PASCA PENCABUTAN GIGI**

(Penelitian Eksperimental Laboratoris pada Tikus Putih *Wistar* Jantan)

**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**



**Ditujukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Gigi
Pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember**

Asal :	Hadiah	Klass
Terima :	Periode :	617.66
No. Buku :		PUS
Pembimbing :	Pengkatalog :	P

drg. Izzata Barid, M.Kes (DPU)
drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes (DPA)

Oleh :

U'UT PUSPITASARI

001610101059

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2005**

**PENGARUH PEMBERIAN PERASAN DAUN BIDURI
(*Calotropis gigantea*) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL
POLYMORFONUKLEAR (PMN) PADA JARINGAN
GRANULASI PASCA PENCABUTAN**

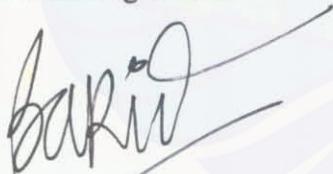
(Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada Tikus Putih *Wistar* Jantan)

Karya Tulis Ilmiah
(Skripsi)

Diajukan Guna Memenuhi Syarat Untuk Meraih
Gelar Sarjana Kedokteran Gigi pada
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

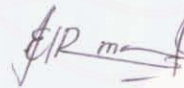
Oleh
U'ut Puspitasari
001610101059

Dosen Pembimbing Utama



drg. Izzata Barid, M.kes
NIP. 132 162 520

Dosen Pembimbing Anggota



drg. Didin Erma Indahyani, M.kes
NIP. 132 162 521


**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2005**

Diterima Oleh
Fakultas Kedokteran Gigi
Sebagai Karya Tulis Ilmiah (Skripsi)


Dipertahankan Pada :
Hari : Sabtu
Tanggal : 23 April 2005
Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas
Jember

Tim Penguji

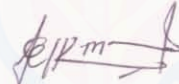
Ketua


drg. Izzata Barid, M.kes
NIP. 132 162 520


Sekretaris


drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.Kes
NIP. 132 206 084

Anggota


drg. Didin Erma Indahyani, M.kes
NIP. 132 162 521

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember


drg. Zaheni Hamzah, MS
NIP. 131 558 576



MOTTO

“..... Allah akan meninggikan orang – orang yang beriman diantaramu dan orang – orang yang berilmu pengetahuan beberapa derajat”

(Qs. Al Mujadilah : 11)

“Ketahuilah, sesungguhnya kemenangan itu bersama kesabaran, dan sesungguhnya kesenangan itu bersama kesusahan, dan bahwa sesungguhnya sesudah kesulitan itu datang kemudahan”

(Hr. Tarmidzi)

PERSEMBAHAN

Kupersembahkan Karya Tulis Ilmiah Ini, untuk:

Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya

Kedua orang tuaku, Ayahanda Soetadji dan Ibunda Lilik Chusniati terima kasih untuk semua cinta kasihmu, untaian doa-doa dengan linangan air mata kasih yang selalu menyertaiiku dalam setiap langkah tiada henti, kerja kerasmu selama ini dan restumu

Bapak Sarkun Sukirno dan Ibu Irum Rusmiati tercinta yang telah mencurahkan segenap kasih sayang, atas motivasi, doa dan restumu selama ini

Aa Yaya Mulyana atas segala kasih sayang, doa, kesabaran, motivasi dan pengertiannya selama ini

Mbakku Iftakhlul Farikhah, STP, Adikku Oki Mushlahuddin, Iu dan Ai untuk kasih sayang, do'a, motivasi dan pengorbananmu selama ini.

Almamaterku yang selalu ku junjung tinggi

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas segala limpahan rahmat dan hidayah – Nya, sehingga penyusunan karya tulis ilmiah yang berjudul **Pengaruh Perasan Daun Biduri (*Calotropis gigantea*) Terhadap Jumlah Neutrofil Polymorfonuklear (PMN) Pada Jaringan Granulasi Pasca Pencabutan (Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada Tikus Putih *Wistar* Jantan)** dapat terselesaikan dengan baik. Arahan, bimbingan dan motivasi dari berbagai pihak sangat membantu dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.

Penyusunan karya tulis ilmiah ini diselesaikan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan program sarjana Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Rasa hormat dan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. drg. Zahreni Hamzah, MS sebagai dekan Fakultas kedokteran Gigi Universitas Jember
2. drg. Izzata Barid, M. Kes sebagai dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, motivasi dan petunjuk selama penulisan karya ilmiah ini
3. drg. Didin Erma Indahyani, M. Kes sebagai dosen pembimbing anggota yang berkenan memberikan bimbingan, saran dan petunjuk sejak awal hingga selesainya karya tulis ilmiah ini
4. drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.Kes selaku sekretaris yang telah memberikan masukan demi kesempurnaan karya tulis ilmiah ini
5. drg. Ari Tri Wanodyo Handayani selaku dosen wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan akademik selama studi di FKG
6. Bapak ibu tercinta yang telah memberikan segenap kasih sayang dan doanya
7. Bapak Sarkun Sukirno sekeluarga di Ciamis terima kasih atas doa dan dukungannya selama ini
8. Aa Yaya yang setia membimbing dan terima kasih atas segala doanya
9. Gugun Gundara, Mbak Ifta, Oki, Iu dan Ai terima kasih atas kasih sayang, doa dan pengorbanannya

10. Mas Agus, Mbak Wahyu dan Mbak Nuraeni selaku staf analisis Laboratorium Farmakologi dan Histologi FKG UNEJ terima kasih atas bantuannya selama penelitian
11. Mbak Lai, Mbak Risna, Mbak Esta, Dian Fajar, Eyi', drg. Emi terima kasih atas motivasi dan bimbingannya selama ini, kalian adalah sahabat terbaikku di dunia ini
12. Team BO '00 : Erma, Eny, Hudi dan Mas Heri terima kasih atas kebersamaan dan kekompakkannya selama pengerjaan karya tulis ilmiah sejak awal sampai akhir
13. Saudara – saudaraku tercinta di Mastrip II/31 : drg. Tri Wahyuni, Mbak Faiz, Mbak Shanti, Mbak lilik, Niken terima kasih atas semangat dan dukungannya
14. Teman – teman senasib dan seperjuangan angkatan 2000
15. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian karya tulis ilmiah ini
Akhirnya, dengan memohon ridlo Allah SWT dan kerendahan hati, penulis berharap karya tulis ilmiah ini bisa bermanfaat dan dapat menambah pengetahuan bagi pembaca.

Jember, 28 Maret 2005

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
RINGKASAN	xiv
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.2.1 Tujuan Umum	4
1.2.2 Tujuan Khusus	4
1.3. Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Tinjauan Tentang Tanaman Biduri	5
2.1.1 Morfologi Tanaman Biduri.....	5
2.1.2 Kandungan Kimia Tanaman Biduri	6
2.1.3 Khasiat Tanaman Biduri.....	8
2.2. Radang.....	9
2.2.1 Definisi Radang.....	9
2.2.2 Penyebab Radang	9
2.2.3 Respon Terhadap Radang.....	11

2.3	Prostaglandin	17
2.3.1	Pengertian Prstaglandin	17
2.3.2	Biosintesis Prostaglandin.....	17
2.3.3	Mekanisme Kerja Prostaglandin	18
2.4	Pencabutan Gigi.....	18
2.5	Peran Neutrofil PMN Dalam Proses Keradangan	20
2.6	Hipotesa.....	23
III.	METODOLOGI PENELITIAN.....	24
3.1.	Jenis Penelitian, Tempat dan Waktu Penelitian.....	24
3.1.1	Jenis Penelitian.....	24
3.1.2	Tempat Penelitian.....	24
3.1.3	Waktu Penelitian	24
3.2.	Identifikasi Penelitian	24
3.2.1	Variabel Bebas	24
3.2.2	Variabel Terikat	24
3.2.3	Variabel Terkendali	24
3.3	Definisi Operasional	25
3.4	Sampel, Besar Sampel dan Kriteria Sampel Penelitian	25
3.4.1	Sampel Penelitian.....	25
3.4.2	Besar Sampel	26
3.4.3	Kriteria Sampel	26
3.5.	Konversi Penghitungan Dosis	27
3.6.	Alat dan Bahan	27
3.6.1	Alat	27
3.6.2	Bahan.....	28
3.7	Prosedur Kerja	28
3.7.1	Persiapan Hewan Coba.....	28
3.7.2	Persiapan Perasan Daun Biduri Konsentrasi 50%	28
3.7.3	Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba	28
3.7.4	Tahap Pembuatan Sediaan.....	30

3.7.5 Tahap Pengecatan <i>Hematoxilin Eosin</i>	31
3.7.6 Tahap Penghitungan Jumlah Neutrofil PMN.....	32
3.8. Kerangka Penelitian	33
3.9. Analisa Data	34
IV. HASIL DAN ANALISA HASIL PENELITIAN.....	35
4.1 Hasil Penelitian.....	35
4.2 Analisa Hasil Penelitian	40
V. PEMBAHASAN.....	45
VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
6.1 Kesimpulan.....	50
6.2 Saran	

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Jumlah Rata – Rata Jumlah Neutrofil PMN Tikus Putih <i>Wistar</i> Jantan Pada Kelompok Kontrol (+), Kontrol (-) dan Perlakuan	35
Tabel 2.	Hasil Uji Homogenitas <i>Levene's Test</i> Dari Rata-Rata Jumlah Neutrofil PMN Pada Jaringan Granulasi Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih <i>Wistar</i> Jantan	41
Tabel 3.	Hasil Uji <i>Two Way Anova</i> Dari Rata-Rata Jumlah Neutrofil PMN Pada Jaringan Granulasi Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih <i>Wistar</i> Jantan ..	42
Tabel 4.	Hasil Uji LSD Dari Jumlah Neutrofil PMN Pada Jaringan Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih <i>Wistar</i> Jantan.....	43
Tabel 5.	Komposisi Makanan Standar Dalam %	55
Tabel 6.	Hasil Pengukuran Neutrofil PMN Pada Jaringan Pasca Pencabutan Tikus Putih <i>Wistar</i> Jantan	59
Tabel 7.	<i>Descriptives</i>	60
Tabel 8.	Uji Homogenitas.....	61
Tabel 9.	Uji <i>Two Way Anova</i>	62
Tabel 10.	Uji LSD Faktor Bahan.....	63
Tabel 11.	Uji LSD Faktor Waktu	64
Tabel 12.	Uji LSD Kombinasi Bahan Dan Waktu.....	65

DAFTAR GAMBAR

Gbr 1.	Tanaman Biduri	5
Gbr 2.	Neutrofil PMN	21
Gbr 3.	Kerangka Penelitian	33
Gbr 4.	Perbandingan Rata-Rata Jumlah Neutrofil PMN Tikus Putih Wistar Jantan Pada Kontrol (+), Kontrol (-) dan Perlakuan Tiap Waktu Pengamatan	35
Gbr 5.	Preparat Hasil Pengamatan Neutrofil Pada Kontrol (+) Dengan Pembesaran 1000 x dan Pengecatan <i>Hematoxilin Eosin</i>	37
Gbr 6.	Preparat Hasil Pengamatan Neutrofil Pada Perlakuan Hari Ke – 2 Dengan Pembesaran 1000 x dan Pengecatan <i>Hematoxilin Eosin</i>	37
Gbr 7.	Preparat Hasil Pengamatan Neutrofil Pada Perlakuan Hari Ke – 4 Dengan Pembesaran 1000 x dan Pengecatan <i>Hematoxilin Eosin</i>	38
Gbr 8.	Preparat Hasil Pengamatan Neutrofil Pada Perlakuan Hari Ke – 8 Dengan Pembesaran 1000 x dan Pengecatan <i>Hematoxilin Eosin</i>	38
Gbr 9.	Preparat Hasil Pengamatan Neutrofil Pada Kontrol (-) Hari Ke – 2 Dengan Pembesaran 1000 x dan Pengecatan <i>Hematoxilin Eosin</i>	39
Gbr 10.	Preparat Hasil Pengamatan Neutrofil Pada Kontrol (-) Hari Ke – 4 Dengan Pembesaran 1000 x dan Pengecatan <i>Hematoxilin Eosin</i>	39
Gbr 11.	Preparat Hasil Pengamatan Neutrofil Pada Kontrol (-) Hari Ke – 8 Dengan Pembesaran 1000 x dan Pengecatan <i>Hematoxilin Eosin</i>	40
Gbr 12.	Grafik Uji Normalitas <i>PP Plot</i> Rata – Rata Jumlah Neutrofil PMN Pada Jaringan Granulasi Pasca Pencabutan Gigi Tikus Putih <i>Wistar</i> Jantan	41
Gbr13.	Skema Perasan Daun Biduri Dalam Menurunkan Jumlah Neutrofil	48
Gbr 14.	Alat Yang Digunakan Dalam Penelitian	56
Gbr 15.	Mikroskop	57
Gbr 16.	Tikus Putih	57
Gbr 17.	Bahan Penelitian	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Penghitungan Besar Sampel.....	54
Lampiran 2.	Tabel Komposisi Makanan Standar Dalam %	55
Lampiran 3.	Gbr 14. Alat Yang Digunakan Dalam Penelitian	56
	Gbr 15. Mikroskop	57
	Gbr 16. Bahan Penelitian	57
	Gbr 17. Tikus Putih <i>Wistar</i> Jantan	58
Lampiran 4.	Tabel Hasil Pengukuran Neutrofil PMN Pada Jaringan Pasca Pencabutan Tikus Putih <i>Wistar</i> Jantan	59
Lampiran 5.	<i>Descriptives</i>	60
Lampiran 6.	Uji Normalitas Dan Homogenitas	61
Lampiran 7.	Uji <i>Two Way Anova</i>	62
Lampiran 8.	Tabel Uji LSD Faktor Bahan	63
Lampiran 9.	Tabel Uji LSD Faktor Waktu.....	64
Lampiran 10.	Tabel Uji LSD Kombinasi Bahan Dan Waktu	65



RINGKASAN

U'ut Puspitasari, Nim. 001610101059, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Pengaruh pemberian Perasan Daun Biduri (*Calotropis gigantea*) Terhadap Jumlah Neutrofil Polymorfonuklear (PMN) Pada Jaringan Granulasi Pasca Pencabutan (Penelitian Eksperimental Laboratoris Pada Tikus Putih *Wistar* Jantan), Dibawah bimbingan drg. Izzata Barid, M. Kes (DPU) dan drg. Didin Erma Indahyani, M. Kes (DPA).

Keadaan perekonomian bangsa Indonesia yang tidak kunjung membaik, berdampak pada harga obat – obat sintesis yang semakin melonjak harganya. Tidak mengherankan, dewasa ini penelitian dan pengembangan tanaman tradisional sebagai obat mulai dikembangkan. Salah satunya adalah daun tanaman biduri (*Calotropis gigantea*). Daun biduri mengandung saponin dan flavonoid yang sangat berperan pada proses peradangan. Peradangan yang terjadi terdiri dari 2 tahap yaitu radang akut dan radang kronis.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh perasan daun biduri dan lama pemberian perasan daun biduri terhadap jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan tikus *Wistar* jantan. Manfaat penelitian adalah diharapkan dapat membantu masyarakat luas dan tenaga medis dalam memanfaatkan tanaman biduri sebagai alternatif pengobatan tradisional dan sebagai masukan bagi industri obat –obatan di Indonesia.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris yang dilaksanakan pada bulan Oktober sampai November 2004 pada tikus galur *Wistar* dengan jenis kelamin jantan. Populasi sampel terdiri dari 56 ekor yang dibagi ke dalam 3 kelompok yaitu kelompok yang tidak dilakukan pencabutan gigi dan diberi perasan daun biduri sebagai kelompok kontrol positif (+), kelompok yang dilakukan pencabutan gigi dan tidak diberi perasan daun biduri sebagai kelompok kontrol negatif (-) dan kelompok yang dilakukan pencabutan gigi dan pemberian perasan daun biduri sebagai kelompok perlakuan. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan uji *Two Way Anova* dan uji LSD.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa daun terdapat perbedaan yang bermakna jumlah neutrofil PMN pada masing – masing perlakuan dengan nilai signifikan 0,000 ($P < 0,05$) setelah diuji dengan *Two Way Anova*. Pada uji LSD juga menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$) pada semua kelompok kecuali pada kelompok kontrol (+) hari ke – 2 dengan kontrol (+) hari ke – 4 dan hari ke – 8 dan kelompok perlakuan hari ke – 4 dengan perlakuan hari ke – 8. Penurunan jumlah neutrofil PMN pada kelompok kontrol (-) dan perlakuan disebabkan karena masa hidup neutrofil PMN yang sangat singkat dan adanya aktivitas fagositosis makrofag. Efek anti inflamasi daun biduri karena adanya saponin dan flavonoid yang dapat menghambat enzim siklooksigenase yang dapat menurunkan sintesis prostaglandin sehingga mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga migrasi sel radang pada area radang akan menurun.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di Indonesia, penggunaan obat alami telah dikenal dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional sejak jaman nenek moyang hingga kini dan terus dilestarikan sebagai warisan budaya bangsa. Penggunaan tanaman tradisional sebagai obat alami belum mendapat respon dari masyarakat luas, meski khasiat dari obat – obat alami tersebut sudah dapat dirasakan, efek samping yang ditimbulkan juga relatif kecil dibandingkan obat sintetis (Maheswari, 2002).

Keadaan perekonomian bangsa Indonesia yang tidak kunjung membaik, berdampak pada harga obat-obat sintetis yang semakin melonjak harganya. Tidak mengherankan, dewasa ini penelitian dan pengembangan tanaman tradisional sebagai obat, mulai dikembangkan. Pemerintah dalam hal ini Departemen Kesehatan, juga mendukung pengobatan tradisional untuk mengantisipasi harga obat yang mahal tersebut dan sebagai alternatif pengobatan (Dalimartha, 2000).

Dari sekian banyak tanaman tradisional yang berkhasiat sebagai obat, salah satunya adalah tanaman biduri (*Calotropis gigantea*). Tanaman biduri ini merupakan tanaman yang banyak ditemukan di daerah padang rumput kering, lereng gunung yang rendah dan pantai berpasir (Dalimartha, 2000).

Beberapa penelitian telah dilakukan, untuk mengetahui manfaat tanaman biduri. Antara lain, penelitian pada kulit akar biduri, getah biduri dan daun biduri, tetapi hanya terbatas pada efek anti piretik dan efek diuretiknya saja. Seperti diketahui bahwa tanaman biduri mempunyai banyak khasiat, bukan hanya mempunyai khasiat sebagai anti piretik dan diuretik saja, tetapi juga mempunyai khasiat sebagai anti inflamasi, mempunyai efek analgesik, peluruh keringat (diaforetik), memacu kerja enzim pencernaan (alteratif), tonik, menambah nafsu makan (stomakik), anti gatal dan obat pencahar (Dalimartha, 2000). Berdasarkan penelitian Choiriyah (2003), perasan daun biduri mempunyai efek anti piretik yang paling besar pada konsentrasi 50%, sehingga dimungkinkan efek anti inflamasi yang terbesar juga terdapat pada perasan daun biduri konsentrasi 50 %.

Salah satu komponen dari tanaman biduri yang diambil manfaatnya adalah daun biduri. Daun biduri berkhasiat dalam mengobati kudis, luka kronis, sariawan, gatal pada campak, demam dan batuk. Daun biduri mengandung saponin, flavonoid, polifenol, tanin, kalsium oksalat, kalotropin, floavil dan damar (Dalimartha, 2000).

Saponin dan flavonoid yang terdapat dalam daun biduri mempunyai peranan sebagai anti inflamasi (Dalimartha, 2000) yang sangat berperan pada proses peradangan yang biasa terjadi dalam kehidupan sehari – hari. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang mempunyai tekstur seperti sabun yang lebih dikenal dengan *natural detergent* (www.eas.com/glossary/glosary.asp?glos, 2005). Beberapa penelitian lain menyebutkan bahwa saponin dapat digunakan sebagai bahan irigasi saluran akar gigi pada manusia. Hal ini disebabkan karena sifatnya seperti sabun sehingga dapat menghilangkan kotoran dan surfaktan yang mempunyai kemampuan membunuh sel (Yanti, 2005). Saponin juga dapat menurunkan jumlah kolesterol dalam darah (<http://micro.magnet.fsu.edu>, 2005). Kandungan saponin yang dihasilkan saponin selama hidrolisis (Claus, 1961), merupakan glukokortikoid yang mempunyai efek penghambatan jalur prostaglandin pada reaksi inflamasi (Katzung, 2002).

Menurut Landolfi *et al* (2003) flavonoid pada konsentrasi tinggi dapat menghambat pelepasan arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari membran dengan jalan memblok jalur siklooksigenase, jalur lipoksigenase dan fosfolipase A₂, sehingga sintesa prostaglandin menurun. Prostaglandin adalah kelompok asam-asam lemak hidroksi rantai panjang yang mampu mengendalikan inflamasi serta permeabilitas vaskuler (Dorland, 1996). Prostaglandin merupakan perantara kimia yang berperan pada reaksi inflamasi (Thomson dan Cotton, 1997). Prostaglandin yang banyak berperan dalam proses peradangan adalah PGD₂, PGE₂ dan PGF₂. PGD₂ dan PGF₂ merupakan suatu produk mast sel yang dapat menyebabkan vasodilatasi. PGE₂ merupakan vasodilatator yang dapat dilihat pada arteriol. PGE₂ tidak langsung berpengaruh pada permeabilitas vaskular, tetapi memperkuat pembentukan edema dengan meningkatkan dampak peningkatan permeabilitas mediator seperti histamin sehingga aliran darah ke daerah radang

meningkat. Peningkatan aliran darah tersebut dapat memperbesar pembentukan edema yang berarti pula memperbanyak masuknya leukosit terutama neutrofil PMN ke daerah radang pada awal – awal peradangan. PGE₂ juga memperkuat dampak penyebab nyeri bradikinin dan penyebab demam yang biasanya menyertai pada proses peradangan (Robbins dan Kumar, 1995).

Radang adalah reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas (Robbins dan Kumar, 1995). Radang dapat dipandang sebagai suatu peristiwa yang berkembang bila tubuh mendapat injuri secara mekanik atau agen kimia atau oleh proses penghancuran diri (Bellanti, 1981). Pada fase seluler awal pada proses peradangan, sel pertama yang secara kimia tertarik ke daerah radang adalah neutrofil polimorfonuklear (Yuwono dkk, 2001). Neutrofil PMN merupakan leukosit yang berukuran pendek dengan nucleus yang berlobus banyak dan bentuknya polimorf serta sitoplasma mengandung granula (www. websters – online. dictionary.org, 2005). Neutrofil PMN dapat menyerang dan menghancurkan bakteri dan virus dalam sirkulasi darah. Neutrofil PMN ini muncul dalam jumlah yang besar dalam eksudat pada hari – hari pertama peradangan (Price dan Wilson, 1988). Banyaknya neutrofil PMN tersebut disebabkan adanya peningkatan permeabilitas vaskular dan vasodilatasi pada proses peradangan (Robbins dan Kumar, 1995). Peningkatan permeabilitas vaskular, vasodilatasi, pembentukan edema dan rasa nyeri pada proses peradangan ini disebabkan adanya pengaruh prostaglandin sebagai mediator radang (Thomas dan Cotton, 1997).

Selama ini, penelitian daun biduri masih terbatas pada efek anti piretiknya. Penelitian tentang efek anti inflamasi dari daun biduri sampai saat ini belum banyak yang meneliti. Berdasarkan hal tersebut, peneliti ingin mengetahui apakah perasan daun biduri mempunyai efek anti inflamasi yang dapat mempengaruhi jumlah neutrofil polimorfonuklear pada jaringan granulasi pasca pencabutan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh perasan daun biduri terhadap jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan tikus *Wistar* jantan ?
2. Apakah lama pemberian perasan daun biduri dapat menurunkan jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan tikus *Wistar* jantan ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perasan daun biduri terhadap jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan tikus *Wistar* jantan.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh pemberian perasan daun biduri terhadap jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan tikus *Wistar* jantan pada kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan.
2. Mengetahui pengaruh lama pemberian perasan daun biduri terhadap jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan tikus *Wistar* jantan.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat membantu masyarakat luas dan tenaga medis dalam memanfaatkan tanaman biduri sebagai alternatif pengobatan tradisional, mengingat semakin mahalnya harga obat – obat sintetis sekarang ini.
2. Sebagai masukan bagi industri obat – obatan di Indonesia.
3. Sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Biduri

Biduri termasuk dalam familia *Asclepiadaceae* yang membawahi kurang lebih 270 marga. Seluruhnya meliputi 17000-an jenis terutama di daerah tropika (Tjitrosoepomo, 1991). Genus ini biasanya hidup di daerah dataran rendah dan tanaman ini banyak ditemukan di daerah bermusim kemarau panjang seperti padang rumput kering, lereng-lereng gunung yang rendah dan pantai berpasir (Dalimartha, 2000).

2.1.1 Morfologi Tanaman Biduri

Tanaman biduri merupakan tanaman perdu dengan tinggi 0,5 –3 meter. Struktur morfologinya terdiri dari akar, batang, tangkai bunga, buah dan daun (Dalimartha, 2000).



Gambar 1 : Tanaman biduri

Daun tanaman ini tunggal, tangkai pendek, letak berhadapan (Dalimartha, 2000). Daun berbentuk bulat telur dengan ujung tumpul, pangkal berlekuk, tepi

rata, panjang 8-30 cm, lebar 4-15 cm, berwarna hijau muda dan pertulangannya menyirip (Muscle dan Joint Rubs, 2002). Permukaan atas rata, sedangkan permukaan bawah berambut tebal (Dalimartha, 2000). Menurut Sastroamidjojo (1997) daun tanaman ini berwarna hijau kebiru-biruan dengan bulu-bulu putih.

Bunga biduri berwarna ungu (Sastroamidjojo, 1997) dan berwarna nila (Dalimartha, 2000 dan Wijayakusuma, 2000). Termasuk bunga majemuk, berbentuk payung di ujung atau di ketiak daun, kelopak terbentang, tajuk bulat telur, berbulu halus dan berwarna hijau (Muscle dan Joint Rubs, 2002). Kepala sari dan kepala putik mengumpul menjadi satu tiap kepala putik (Sastroamidjojo, 1997). Benang sari berlekatan membentuk tabung, kepala putik lebar, bersegi lima. Tangkai putik panjang, daun pelindung sempit, mahkota bulat telur dengan diameter bunga 4 - 4,5 cm (Muscle dan Joint Rubs, 2002). Tangkai bunga tebal dengan panjang 3 - 5 cm (Wijayakusuma, 2000).

Buahnya berbentuk buncung, bulat telur, panjang 9 - 10 cm, berwarna hijau (Muscle dan Joint Rubs, 2002). Bijinya kecil, lonjong, pipih dan berwarna coklat (Dalimartha, 2000). Akar tanaman biduri tunggang, bercabang, bulat, putih kekuningan (Muscle dan Joint Rubs, 2002).

2.1.2 Kandungan Kimia Tanaman Biduri

Menurut Wijayakusuma, biduri mengandung glukosida yang terdiri dari kalotropin, fuscharin dan kalotoksin. Biduri juga mengandung midarine (zat pahit), damar, 1% getah karet, albar dan floavil (Sastroamidjojo, 1997).

Kulit batang tanaman biduri mengandung damar. Akar mengandung saponin, sapogenen, kalotropin, kalotoksin, uskarin, kolaktin, gigantin dan harsa. Daun mengandung saponin, flavonoid, polifenol, tanin, kalsium oksalat, kalotropin, floavil dan damar (Dalimartha, 2000).

Saponin termasuk *phytonutrients* yang banyak ditemukan pada tumbuh-tumbuhan seperti ginseng, yucca dan aloe (www.eas.com/glossary/glos, 2005). Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun sehingga dapat menghilangkan kotoran. Relatif tidak toksik bila tertelan. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa saponin dapat digunakan sebagai bahan irigasi

saluran akar gigi pada manusia. Saponin yang bersifat surfaktan tersebut dapat membunuh sel. Molekul hidrofilik bahan surfaktan akan berikatan dengan lipoprotein dinding sel, menumpuk pada dinding tersebut, lalu memecah dan melarutkan lemak dan protein sehingga permeabilitas dinding sel rusak diikuti dengan kebocoran yang mengakibatkan kematian sel (Yanti, 1999). Pada penelitian akhir - akhir ini ditemukan bahwa saponin dapat mengikat asam dan kolesterol yang dapat menurunkan jumlah kolestrol dalam darah (<http://micro.magnet.fsu.edu/phytochemicals/pages/saponin.html>, 2005). Fungsi saponin yang lain antara lain sebagai anti radang, menjadi sumber anti bakteri dan antivirus, meningkatkan sistem kekebalan tubuh meningkatkan vitalitas, mengurangi kadar gula dalam darah serta mengurangi penggumpalan darah (Muscle dan Joint Rubs, 2002).

Flavonoid berfungsi sebagai anti oksidan, melancarkan peredaran darah ke seluruh tubuh dan mencegah terjadinya penyumbatan pada pembuluh darah, mengurangi kandungan kolesterol serta mengurangi penimbunan lemak pada dinding pembuluh darah, mengurangi kadar resiko penyakit jantung koroner, dan membantu mengurangi rasa sakit jika terjadi perdarahan atau pembengkakan (Muscle dan Joint Rubs, 2002). Flavonoid merupakan senyawa fenol yang tersebar luas pada hampir semua tumbuh – tumbuhan (kecuali alga), dengan penyebaran terbesar terdapat pada golongan *Angiospermae*. Landolfi *et al* (2003), melaporkan bahwa pada konsentrasi tinggi dari beberapa senyawa flavonoid dapat menghambat pelepasan asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari membran dengan jalan memblok jalur sikloksigenase, jalur lipoksigenase dan fosfolipase A₂. Ketiga produk ini berperan penting pada proses inflamasi. Asam arakidonat (AA) ialah suatu asam lemak poli – tidak jenuh yang terdapat dalam jumlah banyak sebagai fosfolipid selaput sel. Agar dapat dipergunakan oleh sel untuk membentuk mediator, AA harus dibebaskan di fosfolipid selaput oleh aktivasi fosfolipase sel. Selama radang, lisosom neutrofil diyakini merupakan sumber fosfolipase yang penting. Jalur sikloksigenase, mula – mula dibentuk suatu endoperoksida siklik prostaglandin G₂ (PGG₂) yang kemudian dikonversi menjadi prostaglandin H₂ (PGH₂) oleh peroksidase. Jalur peroksidase ini penting untuk

membentuk bahan – bahan proinflamasi yang kuat. Lipoksigenase ini merupakan enzim utama neutrofil (Robbins dan Kumar, 1995). Tanin dan polifenol bersifat sebagai astringen dan antiseptik. Polifenol juga berfungsi sebagai anti histamin (anti alergi). Alban merupakan hasil oksidasi dari gutta percha (Claus, 1961).

2.1.3 Khasiat Tanaman Biduri

Kulit akar biduri bermanfaat dalam memicu kerja enzim pencernaan, sebagai peluruh kencing (diuretik), pengobatan demam, kaki pegal – pegal, gigitan ular berbisa, batuk kronis dan penyakit kulit. Khasiat lain kolagoga, peluruh keringat (diaforetik), perangsang muntah (Dalimartha, 2000). Kulit akar biduri bermanfaat juga untuk meningkatkan sekresi terutama pengosongan air di empedu, mempunyai aksi sedasi pada otot usus terutama kolon dan rektum, mengurangi rasa sakit dan iritasi, mengurangi gejala – gejala disentri, mengobati lepra, sifilis, elephantiasis, epilepsi, dan konvulsi (<http://www.holisticonline.com>, 2000).

Daun biduri berkhasiat untuk mengobati kudis, rubifasien, luka kronis, borok, menghilangkan gatal, sariawan, gatal pada cacar air (*varicella*), campak (*measless*), demam dan batuk (Dalimartha, 2000). Daun yang dijadikan bubuk dapat digunakan untuk penyembuhan luka. Kandungan alkohol yang terdapat pada daun dan akar dapat digunakan sebagai anti kanker yang melawan aktifitas karsinoma epidermal pada kultur jaringan nasopharing (Muscle dan Joint Rubs, 2002).

Bunga biduri digunakan untuk pengobatan radang lambung (*Gatritis*), batuk, sesak napas, influenza, siphilis sekunder (*Gonorhoea*) dan kusta (Dalimartha, 2000).

Getah biduri sangat beracun dan bisa menyebabkan muntah. Tetapi getah ini dapat berkhasiat sebagai obat pencahar, bisul, eksim, pembesaran kelenjar getah bening, luka pada siphilis, luka di kaki, sakit gigi dan memudahkan mencabut duri di kaki (Dalimartha, 2000).

2.2 Radang

2.2.1 Definisi Radang

Radang adalah reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk jejas. Dalam reaksi ini ikut berperan pembuluh darah, saraf, cairan dan sel-sel tubuh ditempat jejas. Proses radang memusnahkan, melarutkan atau membatasi agen penyebab jejas dan merintis jalan untuk memusatkan jaringan yang rusak pada tempat itu (Robbins dan Kumar, 1995)

Menurut Thomson dan Cotton (1997) menyatakan bahwa radang adalah respon dari jaringan hidup terhadap cedera yang menimbulkan eksudat. Radang merupakan rangkaian perubahan yang terjadi pada jaringan yang menunjukkan reaksi terhadap suatu kecelakaan baik secara mekanis, khemis atau oleh bakteri (Adam, 1993). Lawler dkk (1992) menyatakan radang adalah respon tubuh yang umum dan menguntungkan terhadap suatu iritasi atau mikroorganisme.

Guyton dan Hall (1997) menuliskan bahwa radang merupakan serangkaian perubahan yang kompleks dalam jaringan akibat cedera. Radang juga merupakan respon tubuh yang umum dan menguntungkan terhadap suatu iritan atau mikroorganisme (Yuwono dkk, 2001). Price dan Wilson (1988) mengatakan bahwa peradangan adalah suatu reaksi vaskuler yang hasilnya merupakan suatu pengiriman cairan, zat – zat yang terlarut dan dari sel – sel dari darah yang bersirkulasi ke dalam jaringan interstitial pada daerah cedera atau nekrosis. Peradangan sebenarnya adalah suatu gejala yang menguntungkan dan deferensif dan hasilnya merupakan netralisasi dan pembuangan agen penyerang, penghancuran jaringan nekrotik serta pembentukan keadaan yang dibutuhkan untuk perbaikan dan pemulihan. Bellanti (1981) menuliskan bahwa radang adalah respon protektif yang sangat diperlukan tubuh untuk mengembalikan keadaan sebelum injuri atau untuk memperbaiki diri sendiri sesudah terkena injuri.

2.2.2 Penyebab Radang

Penyebab utama radang antara lain infeksi mikrobakteri yang disebabkan oleh bakteri piogenik, kuman dan virus, reaksi hipersensitivitas karena parasit,

basil tuberculosis. Adanya agen fisik seperti trauma mekanik, tenaga radiasi, panas, dingin, jejas listrik dan bahan kimia (Robbins dan Kumar, 1995).

Manifestasi radang dapat berupa manifestasi setempat dan manifestasi umum. Manifestasi setempat dilakukan tanpa memandang faktor yang memicu dan lebih dikenal dengan tanda – tanda kardinal (Robbins dan Kumar, 1995).

Manifestasi umum peradangan dapat berupa :

1. Agen penyebab inflamasi
2. Tempat inflamasi
3. Ketahanan dan imunitas dari host
4. Lamanya inflamasi
5. Lokalisasi inflamasi

(Thomson dan Cotton, 1997)

Ada tiga komponen dasar yang selalu ada dalam proses peradangan.

Ketiga komponen tersebut adalah :

a. Vaskular

Yaitu peningkatan aliran darah yang relatif statik dalam daerah peradangan. Hal ini disebabkan oleh dilatasi arteriol dan pembukaan anyaman kapiler. Ditandai dengan rubor dan calor (Thomson dan Cotton, 1997).

b. Seluler

Yaitu peningkatan sel pada daerah peradangan, terutama yang berasal dari darah yang memungkinkan terjadinya fagositosis dan peningkatan antibodi setempat. Gejala ini lebih dikenal dengan tumor (Thomson dan Cotton, 1997).

c. Eksudat

Eksudat adalah cairan radang ekstravaskular dengan berat jenis tinggi yaitu di atas 1.020 dan seringkali mengandung protein 2 – 4 mg% serta sel – sel darah putih yang melakukan emigrasi (Robbins dan Kumar, 1995). Eksudat peradangan kaya protein mengandung fibrinogen dan menimbulkan edema, tumor dan dolor akibat stimulasi ujung – ujung saraf (Thomson dan Cotton, 1997). Eksudat terjadi sebagai akibat peningkatan permeabilitas vaskular yang memungkinkan protein plasma dengan molekul besar dapat terlepas dan

bertambahnya tekanan hidrostatis intravaskular sebagai akibat aliran darah lokal yang meningkat (Robbins dan Kumar, 1995).

Kejadian – kejadian yang berhubungan dengan proses radang, sebagian besar dimungkinkan oleh produksi dan pelepasan berbagai mediator kimia. Meskipun jenis pengaruh jejas dapat bermacam – macam dan jaringan yang menyertai radang berbeda – beda, mediator yang dilepaskan sama (Robbins dan kumar, 1995). Urutan peristiwa yang biasa terjadi pada proses peradangan adalah :

1. Konstriksi arteriol sementara.
2. Dilatasi arteriol, kapiler dan venula.
3. Peningkatan permeabilitas dinding pembuluh darah.
4. Eksudasi dari cairan peradangan kaya protein → eksudat.
5. Hemokonsentrasi akibat kehilangan cairan ke dalam jaringan tetapi retensi intravaskuler dari eritrosit.
6. Marginalisasi leukosit yang meninggalkan arus aksial, masuk ke dalam zona plasmata dan memagari permukaan endotel.
7. Emigrasi leukosit dan diapedesis dari eritrosit melalui dinding pembuluh .
8. Kemotaksis dari leukosit polimorfonuklear.
9. Fagositosis dari mikroorganisme oleh polimorf.
10. Timbulnya makrofag → Histiosit fagositik (Thomson dan Cotton,1997).

2.2.3 Respon Terhadap Radang

Proses radang membatasi dan menetralkan jejas, serta memulihkan kelangsungan morfologi jaringan, meskipun tidak disertai pulihnya fungsi khas. Adakalanya proses radang dapat merugikan. Respon radang yang berlebihan dapat menyebabkan hipersensitivitas yang dapat mengakibatkan kematian. Respon radang kadang-kadang berakibat buruk, akan tetapi tetap merupakan peristiwa yang sesuai untuk organisme mempertahankan kehidupannya (Robbins dan Kumar, 1995). Menurut Bellanti (1981) respon radang merupakan pelindung yang sangat diperlukan dan merupakan reaksi perbaikan tubuh. Respon radang ini



mencoba untuk mempertahankan homeostasis di bawah pengaruh lingkungan yang merugikan.

Pada umumnya radang dibagi menjadi dua yaitu radang akut dan radang kronik, tetapi dalam praktek hal ini bisa tumpang tindih dan keduanya bisa muncul bersama (Lawler dkk, 1992).

1. Radang Akut

Radang akut merupakan jawaban atau respon langsung dan dini terhadap agen jejas. Respon ini relatif singkat, hanya berlangsung beberapa jam sampai beberapa hari. Kejadian yang berhubungan dengan dengan proses radang akut, sebagian besar dimungkinkan oleh produksi dalam pelepasan berbagai macam mediator kimia. Radang akut terbatas hanya pada tempat jejas dan menimbulkan tanda-tanda dan gejala-gejala lokal, atau dapat ekstensif dan menyebabkan tanda dan gejala sistemik, maupun mengikutsertakan pertahanan tubuh sekunder (Robbins dan Kumar, 1995).

Penyebab yang paling umum dari radang akut adalah bakteri. Penyebab lainnya antara lain virus, parasit, adanya trauma mekanis karena terpotong atau terbentur, zat – zat kimia baik itu yang anorganik, organik maupun cairan yang dikeluarkan dari tubuh seperti urine, empedu. Perbedaan temperatur yang besar antara dingin dan panas, kehilangan suplai darah, reaksi imunologis, akibat radiasi dari pengionan dan ultraviolet juga menjadi penyebab terjadinya radang akut (Lawler dkk, 1992).

Ada dua tipe leukosit yang terlibat dalam peradangan akut adalah polimorf neutrofil yang merupakan golongan terbesar dan makrofag (Lawler dkk, 1992). Gambaran makroskopis atau klinis yang khas pada radang akut antara lain adalah:

a. Rubor (warna kemerahan)

Hal ini disebabkan akibat adanya dilatasi pembuluh darah kecil dalam daerah yang mengalami kerusakan. Price dan Wilson (1988) menyebutkan bahwa warna merah pada radang disebabkan akibat arteriol yang mensuplai darah yang terkena cedera mengalami pelebaran, sehingga lebih banyak darah yang mengalir ke dalam mikrosirkulasi lokal.

b. Kalor (panas)

Peningkatan suhu ini diakibatkan oleh meningkatnya aliran darah (hiperemia) pada daerah yang mengalami cedera daripada didaerah yang normal yang mengakibatkan sistem vaskuler dilatasi dan mengalirkan darah yang hangat pada daerah peradangan tersebut (Price dan Wilson, 1988). Adam (1993) menyatakan bahwa kalor terjadi karena proses kimia yang ditimbulkan penyerangan kuman tersebut, akibatnya banyak darah yang mengalir.

c. Tumor (bengkak)

Pembengkakan sebagai hasil adanya edema yang merupakan suatu akumulasi cairan di dalam ruangan interstitial (Lawler dkk, 1992). Menurut Adam (1993), pembengkakan akibat banyaknya darah yang mengalir ke tempat radang cairan yang menumpuk, kuman – kuman dan jaringan yang rusak.

d. Dolor (rasa sakit atau nyeri)

Hal ini disebabkan oleh tegangan dan distorsi jaringan akibat edema dan terutama karena tekanan pus di dalam abses. Beberapa mediator kimiawi pada radang akut seperti bradikinin, prostaglandin dan serotonin dapat marangsang saraf dan meningkatkan rasa sakit (Yuwono dkk, 2001). Adam (1993) menyebutkan bahwa penyebab nyeri atau sakit adalah akibat penekanan pada saraf dan kerusakan jaringan termasuk jaringan saraf motorik dan sensorik.

e. Hilangnya fungsi

Gerakan yang terjadi pada daerah radang baik yang dilakukan secara sadar ataupun reflek akan mengalami hambatan oleh kerusakan, rasa sakit, pembengkakan jaringan yang hebat secara fisik akan mengakibatkan berkurangnya gerakan jaringan atau disfungsi (Yuwono dkk,2001). Price dan Wilson (1988) mengatakan bahwa bagian yang bengkak dan sakit disertai sirkulasi yang abnormal akan berfungsi secara abnormal.

Pada radang akut terdiri dari 2 stadium yang meliputi :

A. Stadium awal radang akut

Pada stadium awal, cairan edema, fibrin dan neutrofil polymorfonuklear terkumpul dalam rongga ekstraselluler jaringan yang mengalami kerusakan. Adanya komponen seluler yaitu neutrofil polymorfonuklear (PMN) merupakan

bagian penting untuk diagnosis histopatologi radang akut. Respon radang akut melalui tiga proses yaitu:

1. Perubahan aliran darah.

Pada awal peradangan akut, terjadi dilatasi arterioli sehingga aliran darah ke daerah radang bertambah (Price dan Wilson, 1988). Dilatasi arterioli lokal ini didahului oleh vasokonstriksi singkat. Sfingter prekapiler membuka akibatnya aliran darah dalam kapiler meningkat dan anyaman kapiler yang sebelumnya inaktif membuka, akibatnya anyaman venular pasca kapiler melebar dan diisi darah yang mengalir deras, sehingga vaskulatur – mikro pada lokasi jejas melebar dan berisi darah terbungkus. Bila terjadi bertambahnya aliran darah (hiperemia), venula dan kapiler bertambah permeabel dengan akibat keluarnya cairan plasma ke dalam jaringan. Hal ini mengakibatkan meningkatnya viskositas darah, sehingga sel darah menggumpal dan tahanan terhadap aliran darah akan lebih tinggi dan aliran darah yang keluar dari tempat jejas akan terhalang dan menambah stasis dan bendungan. Berkurangnya aliran keluar bersamaan dengan meningkatnya aliran darah masuk dari arterioli yang berakibat tekanan hidrostatik dalam kapiler dan vena (Robbins dan Kumar, 1995).

Mediator kimia yang terjadi selama vasodilatasi pembuluh darah pada fase radang akut antara lain histamin, bradikinin, prostaglandin PGI_2 , PGE_2 , PGD_2 dan $PGF_{2\alpha}$ (Robbins dan Kumar, 1995). Histamin yang dilepaskan dari sel mast lokal merupakan perantara penting respon segera (*Immediate Response*), yang menyebabkan dilatasi arterioli awal. Golongan kinin seperti bradikinin, berasal dari sirkulasi oleh *Cascade System* dan bertanggung jawab untuk kenaikan permeabilitas kapiler, menjaga vasodilatasi dan menimbulkan sakit setempat (Lawler dkk, 1992).

2. Peningkatan permeabilitas vaskuler dan pembentukan cairan eksudat.

Peningkatan permeabilitas vaskuler disertai keluarnya protein plasma dan sel – sel darah putih ke dalam jaringan merupakan gambaran utama reaksi radang akut (Robbins dan Kumar, 1995). Peningkatan permeabilitas vaskuler juga mengakibatkan mengalir keluarnya cairan yang bertindak mengencerkan agen – agen yang berbahaya (Price dan Wilson, 1988). Pada ujung arterioli kapiler,

tekanan hidrostatis yang tinggi mendesak cairan keluar ke dalam jaringan interstitial dengan cara ultrafiltrasi. Hal ini berakibat meningkatnya konsentrasi protein plasma dan menyebabkan tekanan osmotik koloid bertambah besar dengan menarik kembali cairan pada pangkal kapiler venula. Pertukaran normal tersebut akan menyisakan sedikit cairan dalam jaringan interstitial yang mengalir dari ruang jaringan melalui saluran limfatik. Pertukaran cairan melewati mikrovaskular normal dan perubahan pada aliran selama radang akan mengakibatkan edema jaringan sedangkan peningkatan tekanan hidrostatis dan permeabilitas vaskular mengakibatkan pembentukan eksudat radang (Robbins dan Kumar, 1995).

Penyebab meningkatnya permeabilitas vaskular ini adalah peranan mediator kimia seperti histamin, bradikinin, $C3_a$ dan $C5_a$ (anafilatoksin), leukotrin C_4 , D_4 , E_4 , Aseter – PAF dan metabolit oksigen (Robbins dan Kumar, 1995).

3. Peristiwa yang terjadi pada sel darah putih pada lokasi radang.

Penimbunan sel – sel darah putih terutama neutrofil dan monosit pada lokasi jejas merupakan aspek terpenting pada reaksi radang. Sel – sel darah putih mampu melahap bahan yang bersifat asing dan beberapa produk sel darah putih itu sendiri merupakan penggerak reaksi radang. Tahapan pada proses ini adalah :

- a. Marginesi sel – sel darah putih, dimana sel – sel darah putih tersebut pindah ke tepi dari aliran aksial.
- b. Penempelan sel – sel darah putih pada permukaan endotel.
- c. Emigrasi sel – sel darah putih terutama neutrofil an monosit yang bergerak paling aktif melewati antara sel endotel, untuk sampai pada dinding pembuluh darah.
- d. Diapedesis, dimana sekelompok sel darah merah keluar dari pembuluh darah mengikuti di belakang leukosit yang keluar sebagai akibat tekanan hidrostatis yang mendorong sel darah merah tersebut melalui defek kecil sehingga akan ditemukan eritrosit dalam jumlah yang banyak.

(Robbins dan Kumar, 1995).

B. Stadium lanjut radang akut

Pada tahap ini terjadi kemotaksis, dimana leukosit terutama neutrofil PMN setelah keluar dari pembuluh darah akan bergerak menuju ke arah utama lokasi jejas yang

disebabkan oleh pengaruh kimia yang dapat berdifusi. Pada tahap ini juga terjadi fagositosis yang meliputi perlekatan partikel pada permukaan fagosit, pelahapan, pemusnahan dan penghancuran jasad renik atau partikel yang dimakan (Robbins dan Kumar, 1995).

2. Radang Kronis

Radang kronis dapat terjadi sesudah radang akut. Radang kronis ini berlangsung selama berminggu – minggu, berbulan – bulan bahkan bertahun-tahun (Lawler dkk, 1992). Robbins dan Kumar (1995) menyatakan bahwa adakalanya radang kronik sejak awal merupakan proses primer. Ketidakredaan respon radang akut yang mengakibatkan terjadinya radang kronis ini, disebabkan adanya agen penyebab radang jejas yang menutup dan terdapat gangguan pada proses penyembuhan normal. Sering penyebab jejas memiliki toksisitas rendah dibanding penyebab yang menimbulkan radang akut dan dikenal dalam tiga kelompok besar yaitu reaksi resisten oleh mikroorganisme intrasel tertentu, kontak lama dengan bahan yang tidak dapat hancur dan terjadi reaksi umum pada keadaan-keadaan tertentu terhadap jaringan individu sendiri yang menyebabkan penyakit autoimun. Lawler dkk (1992) menyatakan bahwa radang kronis ini menunjukkan usaha tubuh untuk melokalisasi agen penyebab dan memperbaiki kerusakan yang terjadi.

Pada tahap radang ini, limfosit, sel plasma, dan makrofag lebih banyak ditemukan dan biasanya juga disertai dengan pembentukan jaringan granulasi yang menghasilkan fibrosis dan kolagen yang sering ditemukan bercampur dengan sel radang kronis (Robbins dan Kumar, 1995). Penyebab radang kronis antara lain organisme seperti bakteri, fungi, parasit dan adanya benda asing akibat jahitan luka, abses. Suplai darah yang buruk, zat kimia dan hipersensitivitas seluler karena *tuberkulosis*, *sarkoidosis* dan penyakit autoimun juga menjadi penyebab terjadinya radang kronis (Lawler dkk, 1992).

Gambaran makroskopis radang kronis yang paling umum antara lain adanya ulkus kronis, rongga abses kronis, penebalan dinding rongga ulkus, radang granulomatosa dan fibrosis. Gambaran mikroskopis radang kronis antara lain banyak ditemukan infiltrat seluler (limfosit, sel plasma, makrofag), beberapa

eusinofil polimorf, neutrofil polimorf dalam jumlah sedikit. Beberapa makrofag membentuk sel datia berinti banyak. Cairan eksudat sedikit ditemukan. Nekrosis jaringan merupakan gambaran yang mencolok terutama pada keadaan granulomatosa (Robbins dan Kumar, 1995).

2.3 Prostaglandin

2.3.1 Pengertian Prostaglandin

Prostaglandin adalah kelompok asam – asam lemak hidroksi rantai panjang yang mampu mengendalikan inflamasi serta permeabilitas vaskular (Dorland, 1996). Prostaglandin dilepaskan dari neutrofil selama fagositosis. Beberapa prostaglandin dapat menimbulkan potensi aksi kimia dan yang lain memilii sifat protektif (Thomson dan Cotton, 1997). Ganiswarna (1995), menyatakan bahwa prostaglandin merupakan turunan asam lemak yang dibentuk endogen dengan efek fisiologi yang besar. Prostaglandin merupakan suatu produk mast sel yang dapat menyebabkan vasodilatasi, peningkatan permeabilitas vaskuler dan rasa sakit (Robbins dan Kumar, 1995).

2.3.2 Biosintesis Prostaglandin

Dua reaksi pertama dalam biosintesis prostaglandin dari precursor asam lemak poienoat dikatalisa leh enzim prostaglandin endoperoksida sintase. Sintesis prostaglandin dari asam arakidonat dimulai dengan oksigenasi dan siklisasi dari suatu cincin pertama, membentuk suatu C_{15} – hidroperoksi – C_9 yang tidak stabil yaitu C_{11} – endoperoksida (PGG_2). Reaksi peroksidase yang dikatalisa oeh enzim yang sama keudian mereduksi gugus C_{15} – hidroperoksi menjadi suatu gugus hidroksil membentuk endoperoksida PGH_2 . PGH_2 diubah menjadi PGO_2 oleh prostaglandin E sintesa yang merupakan suatu enzim yang terikat membran. Kedua enzim memerlukan glutation tereduksi sebagai kofaktor. Tidak ada enzim yang telah diisolasi mereduksi PGH_2 menjadi $PGE_{2\alpha}$ tetapi PGE_2 dapat dikonversikan menjadi $PGF_{2\alpha}$ oleh enzim prostaglandin E_9 – ketoreduktase dan 15 – hidroksiprostaglandin dehidrogenase (Katzung, 1989).

2.3.3 Mekanisme Kerja Prostaglandin

Prostaglandin bekerja atas otot polos melalui reseptor spesifik yang tidak dapat dihambat oleh penghambat otonom konvensional atau oleh obat antihistamin atau antiserotonin. Kerja prostaglandin banyak berhubungan dengan perubahan kadardarah salah satu nukleotida siklik cAMP atau cGMP pada jaringan yang berespon (Ganiswarna, 1995).

Venokonstriksi dalam respon terhadap $\text{PGF}_{2\alpha}$ karena adanya peningkatan cGMP, sedangkan venodilatasi karena PGE_2 berhubungan dengan peningkatan cAMP (Ganiswarna, 1995). PGI_2 menghambat agregasi trombosit dengan mengikat reseptor yang secara khusus mengaktifkan adenil siklase. Hal ini menyebabkan peningkatan kadar cAMP intrasel yang akan mengaktifkan protein kinase yang spesifik. Kinase ini menyebabkan fosforilase protein yang dapat menurunkan konsentrasi kalsium bebas di dalam sel. Pelepasan kalsium tersebut menyebabkan efek kontraktile eikosanoid pada otot polos, sedangkan efek relaksasinya dihasilkan dengan pembentukan cAMP. PGD_2 menghambat agregasi trombosit dengan cara aktivasi adenil siklase, tetapi prostaglandin ini berinteraksi sedangkan reseptor yang berbeda dari reseptor yang digunakan oleh PGI_2 (Katzung, 1998). Prostaglandin dan mediator seperti bradikinin dan histamin dapat meningkatkan aliran darah ke daerah radang, Peningkatan aliran darah tidak saja memperbesar pembentukan edema, tetapi juga memperbesar masuknya leukosit ke daerah radang, sehingga menyebabkan permeabilitas vaskuler (Robbins dan Kumar, 1995).

2.4 Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi merupakan salah satu tindakan perawatan dalam kedokteran gigi. Hal yang perlu diperhatikan setelah tindakan pencabutan adalah kecepatan proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi. Proses ini kadang – kadang mengalami gangguan sehingga terjadi komplikasi – komplikasi (Saptoyono, 1996). Menurut Howe (1989), menyatakan bahwa pencabutan yang ideal meliputi pencabutan sebuah gigi atau akar gigi yang utuh tanpa menimbulkan rasa sakit dengan trauma yang sekecil mungkin pada jaringan

penyangga gigi sehingga luka bekas pencabutan akan sembuh secara normal dan tidak menimbulkan problem prostetik pasca bedah.

Prinsip – prinsip umum yang perlu diperhatikan pada saat akan melakukan pencabutan gigi antara lain penanganan yang kasar pada saat akan melakukan pencabutan gigi, insisi atau pembuatan flap dapat menyebabkan kerusakan jaringan atau nekrosis sehingga menimbulkan rasa sakit, pembengkakan dan kecacatan serta tidak tercapainya penyembuhan primer. Keberhasilan dalam pencabutan gigi tergantung dari kemampuan dan pengetahuan operator dalam menggunakan alat (Yuwono dkk, 1999). Penggunaan tang tergantung pada cara melonggarkan alveolus, memutuskan ligamen periodontal dan memisahkan perlekatan gingiva. Ekspansi alveolus terjadi pada saat menggoyahkan gigi yang diikuti dengan fraktur pada jaringan tulang pendukung. Pengontrolan tekanan sangat diperlukan untuk mencegah cedera yang berlebihan pada gigi di dekatnya dan sekitar struktur pendukung gigi. Pada proses alveolaris yang dalam padat dan tereliminasi dengan ruang ligamen periodontal yang sempit membutuhkan tekanan yang lebih besar dibanding dengan alveolus dangkal dengan ruang periodontal yang cukup lebar (Pedersen, 1996).

Penggunaan elevator untuk mengungkit gigi dari alveolus sangat bergantung pada titik *fulcrum*. Letak titik *fulcrum* sangat tergantung dari lokasi objek yang diungkit. Pergerakan berupa mendorong atau menarik untuk mengeluarkan objek ke arah atas (Yuwono dkk, 1999).

Tindakan pencabutan gigi dapat memicu terjadinya peradangan, epitelisasi, fibroblasia dan remodeling yang terjadi pada kulit atau luka pada mukosa. Peradangan timbul akibat rusaknya sel dan jaringan gigi yang dicabut. Jika gigi diambil, soket kosong yang tertinggal berisi tulang kortikal yang dilapisi ligamen periodontal yang sobek dengan lingkaran epitel rahang mulut (gingiva) yang tertinggal dibagian koronal (Yuwono dkk, 1999).

Kompikasi yang terjadi pada pencabutan gigi antara lain terjadinya perdarahan sekunder, pembengkakan, rasa sakit, *dry socket*, *osteomyelitis* dan fasial abses. Bentuk perdarahan dapat merembes terus – menerus, membentuk gumpalan darah yang besar diatas luka pencabutan dan perdarahan hebat yang

sukar disembuhkan (Yuwono dkk 1999). Penyebab pembengkakan pasca bedah adalah terinfeksi luka bekas pencabutan (Howe, 1989). Infeksi berasal dari keadaan sebelum operasi dimana perikoronitis belum reda sehingga penyebaran infeksi akan mengikuti tindakan operasi (Yuwono dkk, 1999). Howe (1989) menambahkan komplikasi yang mungkin terjadi pada tindakan pencabutan gigi adalah terjadinya hematoma, trismus, sinkop, terhentinya pernapasan dan denyut jantung serta keadaan darurat akibat anestesi.

2.5 Peran Neutrofil PMN Dalam Proses Keradangan

Neutrofil termasuk neutrofil polimorfonuklear yang dalam keadaan segar berdiameter 7 sampai 9 mikrometer dan dalam hapusan darah kering 10 sampai 12 mikrometer. Dalam darah manusia neutrofil PMN berjumlah paling banyak sekitar 65 sampai 75 persen dari jumlah seluruh leukosit. Inti sangat polimorf. Inti umumnya terdiri atas 3 sampai 5 lobus berbentuk lonjong yang tidak teratur, yang saling dihubungkan oleh benang-benang kromatin halus. Jumlah lobus bertambah sesuai dengan bertambahnya umur sel (Leeson dkk, 1995). Inti berwarna ungu, berbentuk batang atau segmen. Inti berbentuk batang bila lekukan inti melebihi setengah diameter inti dan inti berbentuk segmen bila inti terbagi menjadi beberapa bagian yang saling dihubungkan dengan benang kromatin. Sel ini motil, amuboid, fagositik aktif dan memberikan respon terhadap kemotaksis (Thomson dan Cotton, 1997). Neutrofil merupakan leukosit polimorfonuklear yang berumur pendek dengan nukleus yang berlobus banyak dan sitoplasma mengandung granula, sebagai respon awal dalam mempertahankan host melawan masuknya mikroorganisme (www.websters-online.dictionaty.org, 2005).



Gambar. 2 Neutrofil PMN

Sumber : Jonqueira, 1997

Anak inti tidak dapat dilihat, sitoplasmanya mengandung granula yaitu granula neutrofil yang spesifik dan granula azurofilik. Granula spesifik yang bersifat lisosomal mengandung enzim hidrolitik yang bergabung dengan fagosom untuk membentuk lisosom sekunder. Disamping lisozim yang merusak glikosid pada dinding sel bakteri, mereka juga mengandung lektoferin, suatu protein yang bersifat bakteristatis terhadap bakteri dan menghalangi produksi neutrofil lebih lanjut. Granula azurofilik adalah jenis granula lain yang terdapat di dalam sitoplasma, bersifat lisosomal, mengandung enzim asam hidrolitik dan enzim khusus mieloperoksidase yang bersatu dengan hidrogen peroksida menghasilkan oksigen aktif yang bersifat bakteriosidal. Granula – granula tersebut juga menghasilkan suatu produk seperti klorida dan lesitin yang menghalangi atau membunuh mikroorganisme (Leeson dkk, 1995).

Neutrofil PMN merupakan sel pertama yang muncul dalam jumlah yang besar dalam eksudat pada hari-hari pertama peradangan (Price dan Wilson, 1988). Neutrofil PMN ini adalah garis pertahanan seluler pertama terhadap invasi organisme (Leeson dkk, 1995). Mereka memfagosit partikel-partikel dengan aktif. Karena pada sel ini nukleusnya berlobus dan bentuknya polimorf sehingga sering disebut dengan neutrofil polimorfonuklear. Sel ini mempunyai urutan perkembangan di dalam sumsum tulang dan memerlukan waktu 2 minggu bagi

penyelesaiannya. Apabila mereka dilepaskan dari sirkulasi darah, maka setengah umur dari sirkulasinya kurang lebih 6 jam. Bermilyar-milyar neutrofil per hari diganti oleh sumsum tulang dan produksi dan pelepasan mereka diatur sangat ketat sekali (Price dan Wilson, 1988)

Dalam beberapa jam setelah mulainya peradangan akut, jumlah neutrofil di dalam darah meningkat sebanyak 4 – 5 kali lipat sampai setinggi 15.000 sampai 25.000 per milimeter kubik. Hal ini akibat kombinasi senyawa kimia yang dilepaskan dari jaringan yang meradang yang secara bersama – sama dinamai faktor penginduksi leukositosis. Faktor ini berdifusi dari jaringan yang meradang ke dalam darah dan dibawa ke dalam sumsum tulang. Ia dianggap mendilatasi sinusoid vena sumsum tulang yang menyebabkan pelepasan neutrofil yang banyak yang disimpan dalam sinusoid vena ini. Dengan cara ini banyak neutrofil yang dipindahkan dari pangkalan simpanan sumsum tulang ke dalam darah yang bersirkulasi. Beberapa jam setelah dimulai kerusakan jaringan, area radang dipenuhi dengan neutrofil, karena neutrofil merupakan satu-satunya sel yang telah matang dan siap melakukan fungsi skavengernya segera untuk membuang benda asing dari jaringan meradang (Price dan Wilson, 1998).

Guyton dan Hall (1997), menyatakan bahwa neutrofil polimorfonuklear adalah sel-sel matang yang dapat menyerang dan menghancurkan bakteri dan virus dalam sirkulasi darah. Neutrofil yang matang merupakan suatu kantong berjalan yang banyak mengandung enzim-enzim dan partikel-partikel antimikrobal yang bergerak seperti amoeba. Dimana untuk mempertahankan diri terhadap masuknya antigen bakteri dilakukan dengan cara menghancurkan bakteri yang bersangkutan secara non spesifik dengan fagositosis.

Neutrofil PMN pada darah manusia dalam keadaan normal berjumlah $2,5 - 7 \times 10^9$ perliter. Peningkatan seluler lebih besar jika terdapat destruksi jaringan yang hebat dan supurasi akibat infeksi yang luas (Thomson dan Cotton, 1997). Jumlah sel darah putih (leukosit) pada tikus putih jantan usia 2,5 bulan sekitar 10.000 leukosit / μl . Pada usia 19 bulan sekitar 10.900 leukosit / μl . Pada usia 25 bulan berjumlah 14.300 leukosit / μl . Jumlah neutrofil PMN pada tikus putih antara 14 – 20 %. Jumlah rata – rata neutrofil tikus *Wistar* jantan yang berusia 2

bulan dalam keadaan normal sekitar 18,8%. Pada tikus *Wistar* jantan yang berusia 3,5 bulan berjumlah 16,5% dan pada usia 10 bulan sekitar 20,6% (Baker dkk, 1979).

2.6 Hipotesa

1. Terjadi penurunan jumlah neutrofil PMN pada pemberian perasan daun biduri pada jaringan granulasi pasca pencabutan tikus *Wistar* jantan.
2. Semakin lama waktu pemberian perasan daun biduri semakin menurun jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan tikus putih *Wistar* jantan



III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian, Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian ini adalah *The Post Test Only Control Group Design* (Tjokronegoro dkk, 1999).

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Biomedik bagian Biologi Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.1.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober - November 2004.

3.2. Identifikasi Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

1. Perasan daun biduri konsentrasi 50%.
2. Lama pemberian perasan daun biduri.

3.2.2 Variabel Terikat

Jumlah Neutrofil Polimorfonuklear PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan.

3.2.3 Variabel Terkendali

1. Jenis luka.
2. Jumlah dan konsentrasi perasan daun biduri.
3. Waktu dan cara pemberian perasan.
4. Cara pengambilan jaringan.
5. Daun biduri yang segar, utuh dan tidak terlalu muda atau tua.

6. Biduri yang hidup di daerah pantai.
7. Kriteria sampel

3.3 Definisi Operasional

1. Perasan daun Biduri 50% (berdasarkan penelitian pendahuluan).

Daun biduri yang digunakan pada penelitian ini diambil dari daerah pantai Watu Ulo. Daun biduri yang diambil tersebut merupakan daun yang masih segar, utuh, tidak terlalu muda maupun tua. Perasan daun biduri diperoleh dengan cara : daun biduri ditumbuk halus kemudian diperas untuk diambil sarinya. Air sari inilah yang disebut dengan perasan daun biduri. Perasan daun biduri 50% di dapatkan dengan menambahkan aquadest sebanyak volume perasan daun biduri yang didapat (Choiriyah, 2003).

2. Pencabutan gigi : Pencabutan gigi molar 1 kanan atas.
3. Neutrofil Polimorfonuklear (PMN) : Suatu bentukan sel darah putih dalam hapusan darah yang bentuknya bulat, sitoplasmanya banyak agak kemerahan, inti berwarna ungu dan berbentuk batang atau segmen. Neutrofil Polimorfonuklear (PMN) merupakan sel yang pertama muncul pada reaksi peradangan dalam jumlah besar. Neutrofil PMN dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop binokuler.

3.4 Sampel, Besar Sampel dan Kriteria Sampel Penelitian

3.4.1 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus galur *Wistar* dengan jenis kelamin jantan yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma (Pusvetma) Surabaya dengan jumlah 56 ekor.

3.4.2 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan rumus sebagai berikut :

$$n = \left(\frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \sigma_p^2}{\delta^2} \right)$$

n = Besar sampel minimal

Z_{α} = Batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (1,96)

Z_{β} = Batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (0,85)

σ_p^2 = diasumsikan $\sigma_p^2 = 2 \delta^2$

α = Tingkat signifikan (0,025)

P = Prosentase tksiran hal yang akan diteliti (0,80)

α = $1 - \beta$

β = 0,20

(Steel dan Torrie, 1995)

Keterangan :

Perhitungan besar sampel terdapat pada lampiran 1. Berdasarkan perhitungan rumus besar sampel diatas, diperoleh jumlah sampel minimal = 8, maka besar sampel = 56, yang diambil peneliti telah memenuhi kriteria tersebut (Steel dan Torrie, 1995).

3.4.3 Kriteria Sampel

Kriteria sampel dalam penelitian ini adalah :

1. Tikus putih dengan jenis kelamin jantan strain Wistar.
2. Tikus putih dengan berat badan 200-250 gram.
3. Tikus putih dengan umur 2 – 3 bulan.
4. Dalam keadaan sehat.

3.5 Konversi Penghitungan Dosis

Menurut Dalimartha (2000) dosis daun biduri yang bisa diberikan ke manusia per hari adalah 130 ml. Pada penelitian ini menggunakan tikus, untuk itu perlu dikonversikan ke tikus yang tentunya besar dosis yang diberikan berbeda dengan dosis yang diberikan pada manusia.

Dosis daun biduri :

Konversi dosis manusia (70 kg) ke tikus (200 g) = 0,018

Dosis daun biduri manusia per hari = 130 ml

Dosis daun biduri pada tikus = $0,018 \times 130 \text{ ml}$
= 2,34 ml/200 g BB
= 2 ml/200 g BB

Dosis ketalar :

Ketalar (X) = $\frac{90}{1000} \times$ gram berat badan tikus

Aquabidest (Y) = $\frac{1}{3} X$

Dosis anastesi = $X + Y$ (ml/gr BB)

(Wang dkk, 1997).

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

1. Timbangan untuk mengukur berat badan tikus putih
2. Sonde
3. Eksavator
4. Scalpel dan blode
5. Pinset kedokteran gigi
6. Gunting
7. Sonde lambung
8. Disposable syringe
9. Gelas obyek dan cover glass
10. Mikroskop

3.6.2 Bahan

1. Cat HE
2. Larutan Eosine
3. Perasan daun biduri dengan konsentrasi 50 %
4. Minyak emersi
5. Eter
6. Aquadest steril
7. Ketalar
8. Tikus putih

3.7 Prosedur Kerja

3.7.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba diadaptasikan selama 7 hari, diberi makanan standar (lampiran 2) dan diberi minum. Hal ini bertujuan untuk memperoleh keseragaman sebelum dilakukan penelitian dan untuk mengontrol hewan coba.

3.7.2 Persiapan Perasan Daun Biduri Konsentrasi 50%

Perasan daun biduri diperoleh dengan cara, daun biduri yang segar ditumbuk halus kemudian diperas untuk diambil sarinya. Sari perasan daun biduri yang diperoleh ditambah dengan aquadest sebanyak volume perasan daun biduri yang didapat.

3.7.3 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba tikus putih *Wistar* jantan dengan berat 200-250 gram dan berumur 2-3 bulan sebanyak 56 ekor yang terbagi menjadi 3 kelompok, yaitu:

1. Kelompok I, merupakan kelompok kontrol (+) yang terdiri dari 8 ekor tikus putih. Hewan coba tidak dilakukan pencabutan pada gigi molar satu atas kanannya dan langsung diberi perasan daun biduri sebanyak 2ml/200gr BB secara *intra gastric* pada pagi hari, hari ke-1. Pada hari ke-2 hewan coba dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan eter, kemudian diambil rahang atasnya, selanjutnya dibuat sediaan jaringan.

2. Kelompok II, merupakan kelompok kontrol (-) terdiri dari 24 ekor tikus putih yang dibagi menjadi 3 sub kelompok, sebagai berikut:

Sub kelompok a : 8 ekor tikus putih dianastesi kemudian dilakukan pencabutan pada gigi molar satu atas kanannya dan tidak diberi perasan daun biduri. Pada hari ke-2 hewan coba dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan eter, kemudian diambil rahang atasnya, selanjutnya dibuat sediaan jaringan.

Sub kelompok b : 8 ekor tikus putih dianastesi kemudian dilakukan pencabutan pada gigi molar satu atas kanannya dan tidak diberi perasan daun biduri. Pada hari ke-4 hewan coba dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan eter, kemudian diambil rahang atasnya, selanjutnya dibuat sediaan jaringan.

Sub kelompok c : 8 ekor tikus putih dianastesi kemudian dilakukan pencabutan pada gigi molar satu atas kanannya dan tidak diberi perasan daun biduri. Pada hari ke-8 hewan coba dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan eter, kemudian diambil rahang atasnya, selanjutnya dibuat sediaan jaringan.

2. Kelompok III, merupakan kelompok perlakuan terdiri dari 24 ekor tikus putih yang dibagi menjadi 3 sub kelompok sebagai berikut :

Sub kelompok a : 8 ekor tikus putih dianastesi kemudian dilakukan pencabutan pada gigi molar satu atas kanannya, setelah hewan coba sadar diberi perasan daun biduri sebanyak 2ml/200gr BB secara *intra gastric* pada pagi hari, hari ke-1. Pada hari ke-2 hewan coba dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan eter, kemudian diambil rahang atasnya, selanjutnya dibuat sediaan jaringan.

Sub kelompok b : 8 ekor tikus putih dianastesi kemudian dilakukan pencabutan pada gigi molar satu atas kanannya, setelah

hewan coba sadar diberi perasan daun biduri sebanyak 2ml/200gr BB secara *intra gastric* pada pagi hari, hingga hari ke-3. Pada hari ke-4 hewan coba dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan eter, kemudian diambil rahang atasnya, selanjutnya dibuat sediaan jaringan.

Sub kelompok c : 8 ekor tikus putih dianastesi kemudian dilakukan pencabutan pada gigi molar satu atas kanannya, setelah hewan coba sadar diberi perasan daun biduri sebanyak 2ml/200gr BB secara *intra gastric* pada pagi hari, hingga hari ke-7. Pada hari ke-8 hewan coba dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan eter, kemudian diambil rahang atasnya, selanjutnya dibuat sediaan jaringan.

3.7.4 Tahap Pembuatan Sediaan

1. Dilakukan pengambilan sediaan histoogis dari jaringan rahang atas.
2. Jaringan difiksasi dengan menggunakan larutan *formaldehyde*.
3. Setelah difiksasi, jaringan dicuci dengan air mengalir.
4. Selanjutnya dilakukakan proses dekalsifikasi.

Pada proses dekalsifikasi ini menggunakan asam format 50% yang dibuat dari asam 88% sebanyak 500 ml dengan aquades steril sebanyak 500 ml. Proses dekalsifikasi ini dilakukan selama 24 – 48 jam. Larutan dekalsifikasi ini harus diganti setiap hari untuk mendapatkan hasil dekalsifikasi yang baik. Setelah proses dekalsifikasi ini selesai, maka dilakukan pencucian pada air mengalir selama 3 – 8 jam untuk menghilangkan bekas dari bahan dekalsifikasi (Sheldon dan Sommers, 1995).

5. Dehidrasi dengan konsentrasi alkohol yang meningkat sampai akcohol absolut.
6. Masukkan jaringan dalam xylol (Clearing).
7. Penanaman dalam paraffin (Embedding).

8. Pembuatan sediaan jaringan pasca pencabutan dengan pemotongan blok jaringan paraffin dengan menggunakan mikrotom.
9. Potongan dilakukan pada gelas obyek yang telah diolesi dengan egg albumin.
10. Deparafinisasi dengan menggunakan xylol (Sobotta dan Hammersen, 1996).

3.7.5 Tahap Pengecatan Hematoxilin Eosin

Dengan tahap sebagai berikut (Ross, 1985) :

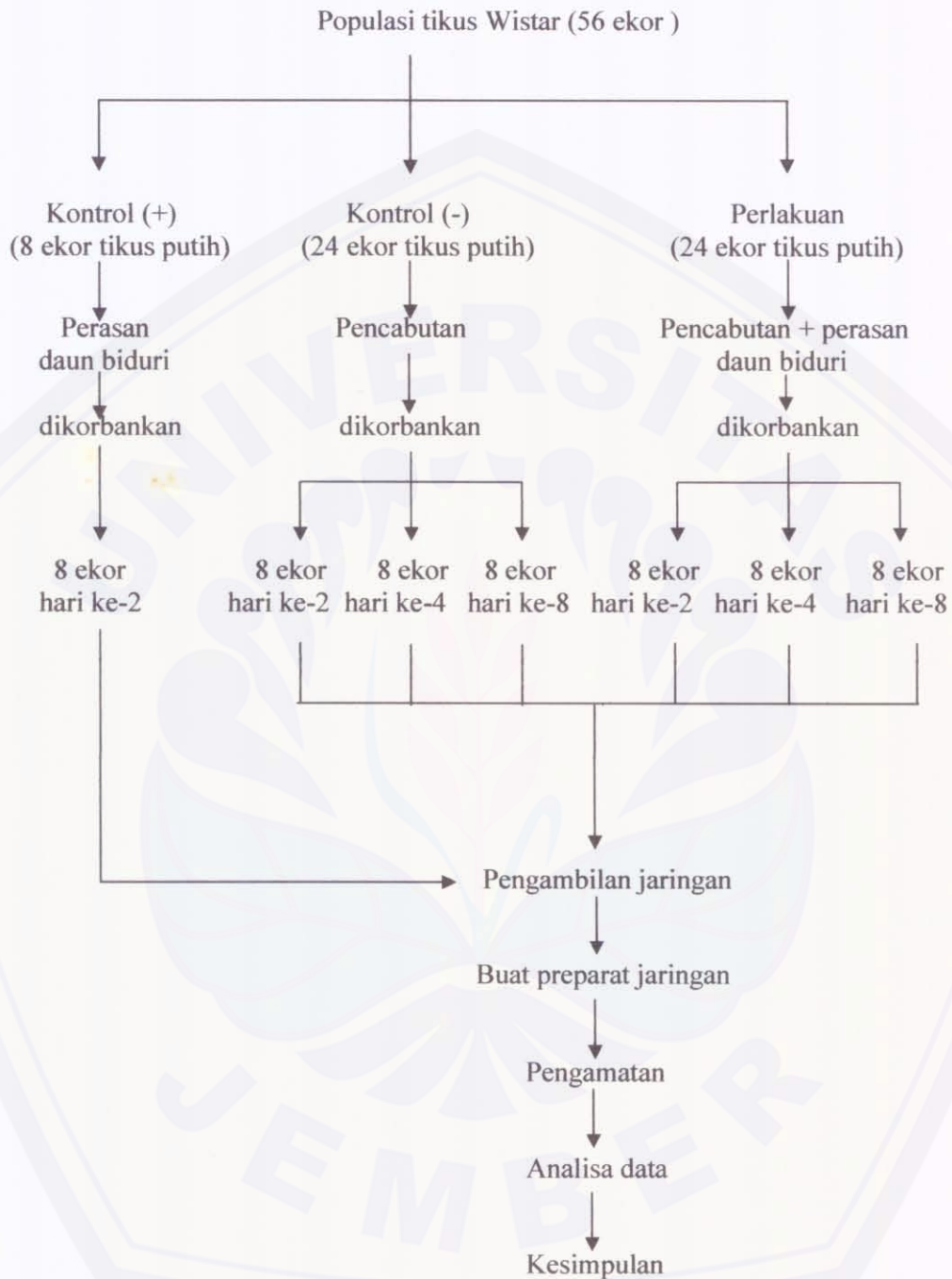
1. Sediaan jaringan pasca pencabutan dimasukkan ke dalam *xylol* selama 2 menit lalu ulangi dengan memasukkannya kembali ke dalam *xylol* dalam wadah yang berbeda selama 2 menit.
2. Fiksasi sediaan pasca pencabutan dengan larutan alkohol absolut selama 1 menit lalu ulangi dengan memasukkannya kembali ke dalam alkohol dalam wadah yang berbeda selama 1 menit.
3. Lakukan fiksasi kedua dengan memasukkan sediaan hapusan ke dalam alkohol 95% selama 1 menit lalu ulangi dengan memasukkannya kembali ke dalam alkohol dalam wadah yang berbeda selama 1 menit.
4. Bilas sediaan pasca pencabutan dengan air mengalir selama 10 - 15 menit, mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan zat warna.
5. Sediaan pasca pencabutan diwarnai dengan zat warna *Haematoxilin Maver's* selama 15 menit. Sediaan pasca pencabutan diwarnai untuk meningkatkan kontras alami dan untuk memperjelas berbagai unsur sel dan jaringan serta bahan ekstrinsik.
6. Bilas kembali dengan air hangat atau air mengalir selama 20 menit.
7. Sediaan pasca pencabutan digenangi *Eosin* selama 15 detik sampai 2 menit.
8. Menurut Leeson (1991), sediaan pasca pencabutan dicelupkan ke dalam alkohol dengan konsentrasi yang semakin meningkat antara lain alkohol 95% selama 2 menit lalu ulangi hal yang sama dengan wadah yang berbeda. Kemudian sediaan pasca pencabutan dicelupkan ke dalam alkohol absolut selama 2 menit dan ulangi hal ini sebanyak 2 kali dengan menggunakan wadah yang berbeda.

9. Setelah melalui alkohol absolut sediaan pasca pencabutan dipindahkan ke dalam *xylol* selama 2 menit lalu ulangi hal ini sebanyak 2 kali dengan menggunakan wadah yang berbeda.
10. Setelah itu dikeluarkan dari *xylol* dan dilakukan mounting.
11. Beri setetes medium saji yang mempunyai indeks refraksi hampir sama dengan indeks refraksi kaca, misalnya balsam kanada pada sediaan hapus. Kemudian sediaan itu ditutup dengan kaca penutup dan dibiarkan mengering.

3.7.5 Tahap Penghitungan Jumlah Neutrofil PMN

Sediaan jaringan dihitung dengan menggunakan lensa obyektif yang sesuai pada mikroskop binokuler. Sebelumnya diletakkan satu tetes minyak emersi pada bagian sediaan jaringan yang akan diperiksa. Penghitungan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x, kemudian dilihat jumlah neutrofil PMN pada tiga irisan sampel dan tiga lapang pandang, dengan cara penghitungan secara berurutan tiap preparatnya.

3.8 Kerangka Penelitian



Gbr 3. Kerangka Penelitian

3.9 Analisa Data

Data yang diperoleh kemudian ditabulasi dan dianalisa dengan menggunakan uji homogenitas, uji *Two Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$) dan antar perlakuan diuji dengan menggunakan *Least Significance Difference* (LSD).



IV. HASIL DAN ANALISA HASIL PENELITIAN

4.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian jumlah rata-rata neutrofil PMN tikus putih *Wistar* jantan pada masing-masing kelompok yang hanya diberi perasan daun biduri konsentrasi 50% sebagai kontrol positif, kelompok yang hanya dilakukan pencabutan saja sebagai kontrol negatif dan kelompok perlakuan yaitu kelompok yang dilakukan pencabutan dan pemberian perasan daun biduri konsentrasi 50% pada hari ke-2, hari ke-4 dan hari ke-8, dapat dilihat dalam tabel 1. Hasil penelitian selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 4.

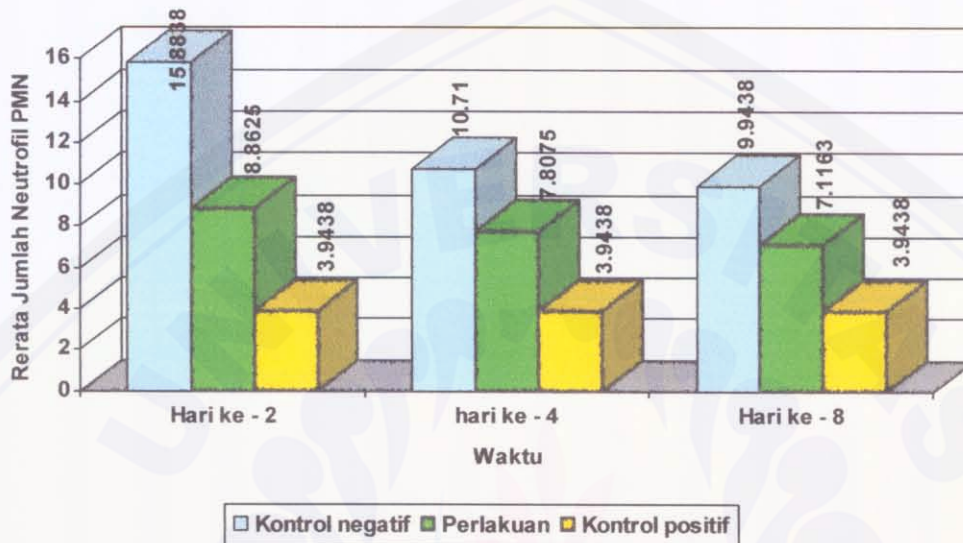
Tabel 1. Jumlah rata-rata neutrofil PMN tikus putih *Wistar* jantan pada kelompok kontrol (+), kontrol (-) dan perlakuan

Waktu Pengamatan		Kontrol		Perlakuan
		Kontrol (+)	Kontrol (-)	
Hari ke-2	X	3.9438	15.8838	8.8625
Hari ke-4	X	3.9438	10.7100	7.8075
Hari ke-8	X	3.9438	9.9438	7.1163

Keterangan :
 X : Rata – rata
 Kontrol (+) : Pemberian perasan daun biduri saja
 Kontrol (-) : Pencabutan gigi saja
 Perlakuan : Pencabutan gigi dan pemberian perasan daun biduri

Tabel 1. Menunjukkan jumlah rata-rata neutrofil PMN tikus putih *Wistar* jantan pada hari ke-2, hari ke-4 dan hari ke-8 pada kelompok kontrol positif sama yaitu sebesar 3,9438. Pada kelompok kontrol negatif dengan meningkatnya hari, jumlah neutrofil PMN mengalami penurunan. Pada hari ke-2 ke hari ke-4 mengalami penurunan sebesar 5,1238, sedang hari ke-4 ke hari ke-8 juga mengalami penurunan sebesar 0,7662. Pada kelompok perlakuan juga menunjukkan dengan semakin lama pemberian perasan daun biduri, jumlah neutrofil PMN-nya semakin menurun. Pada hari ke-2 ke hari ke 4 mengalami

penurunan sebesar 1,005, sedang pada hari ke-4 ke hari ke-8 mengalami penurunan sebesar 0,6412. Perbandingan rata-rata jumlah neutrofil PMN tikus putih *Wistar* jantan dari tiap-tiap perlakuan pada masing-masing pengamatan dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Perbandingan rata-rata jumlah neutrofil PMN tikus putih *Wistar* jantan pada kontrol (+), kontrol (-) dan perlakuan tiap waktu pengamatan

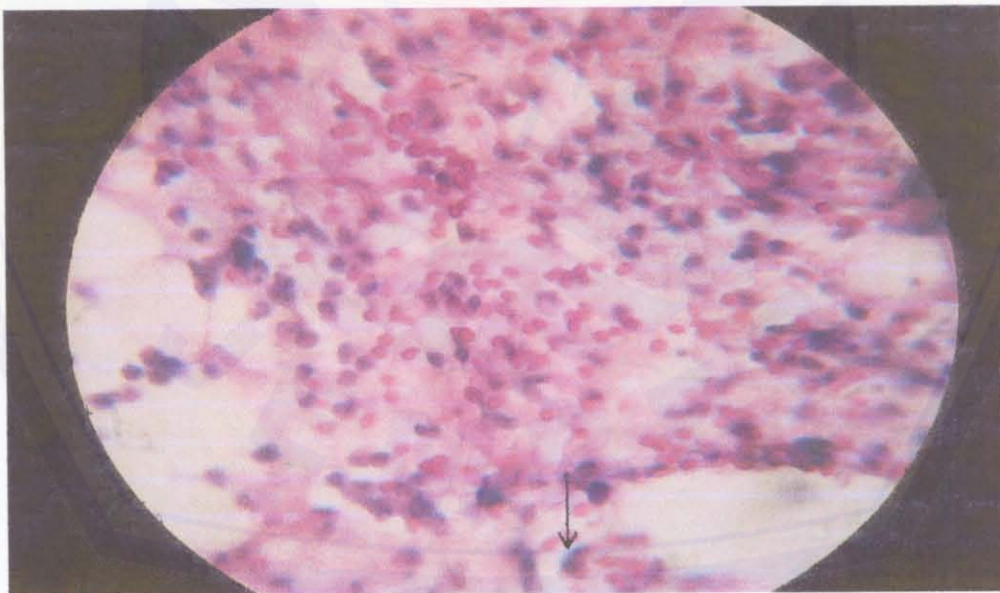
Gambar 4 menunjukkan bahwa kelompok dengan jumlah neutrofil PMN paling banyak terdapat pada kelompok kontrol negatif yaitu kelompok yang hanya dilakukan pencabutan gigi saja tanpa diberi perasan daun biduri. Pada kelompok kontrol positif yaitu kelompok yang hanya diberi perasan daun biduri tanpa dilakukan pencabutan gigi dari hari-2 sampai hari ke-8 jumlah neutrofil PMNnya tetap, sedangkan pada kelompok kontrol negatif dan perlakuan dari hari ke-2 sampai hari ke-8 mengalami penurunan jumlah neutrofil PMN. Pada kelompok perlakuan hari ke- 4 sampai hari ke- 8 mengalami penurunan jumlah neutrofil PMNnya yang kecil.

Hasil pengamatan jumlah neurofil PMN pada lapang pandang kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar di bawah ini. Pada gambar tersebut dapat dilihat perbedaan jumlah

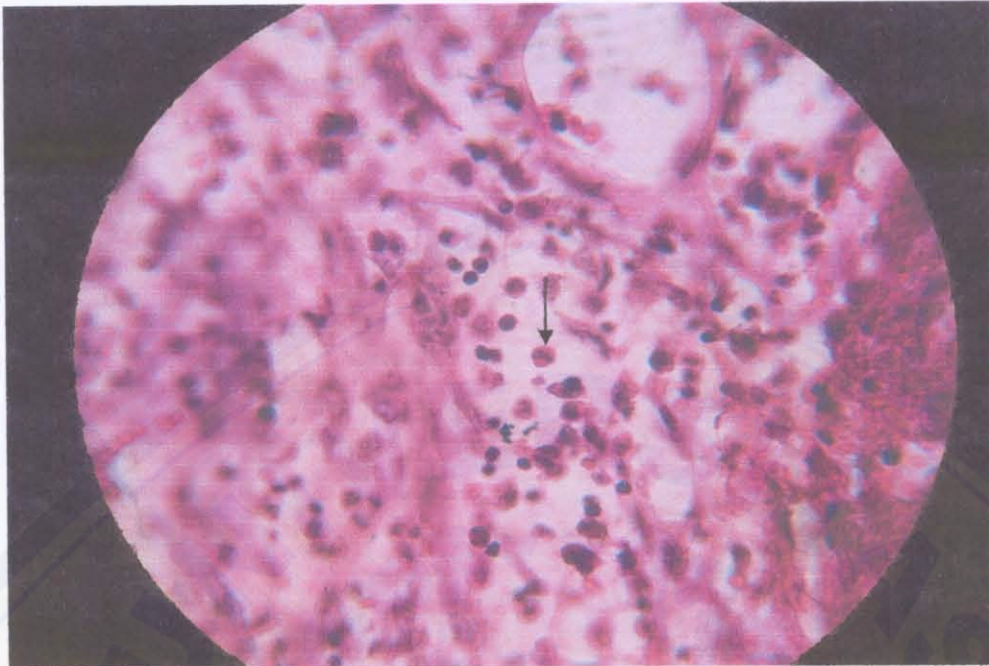
neutrofil PMN pada kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan pada hari ke - 2, hari ke - 4 dan hari ke - 8.



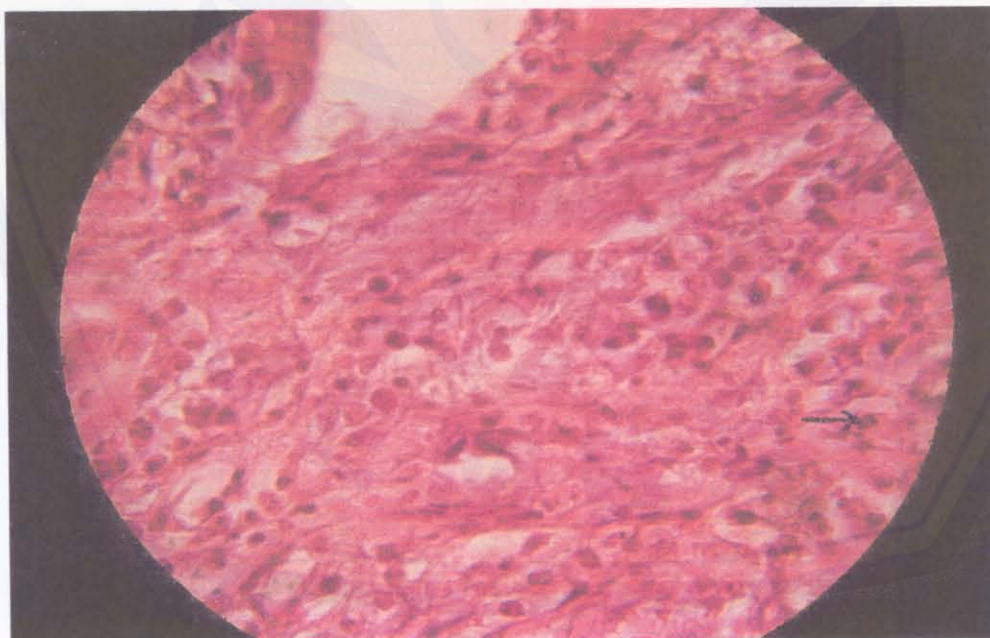
Gambar 5: Preparat hasil pengamatan neutrofil pada kontrol (+) dengan pembesaran 1000x dan pengecatan *Haemotoxilin-eosin*



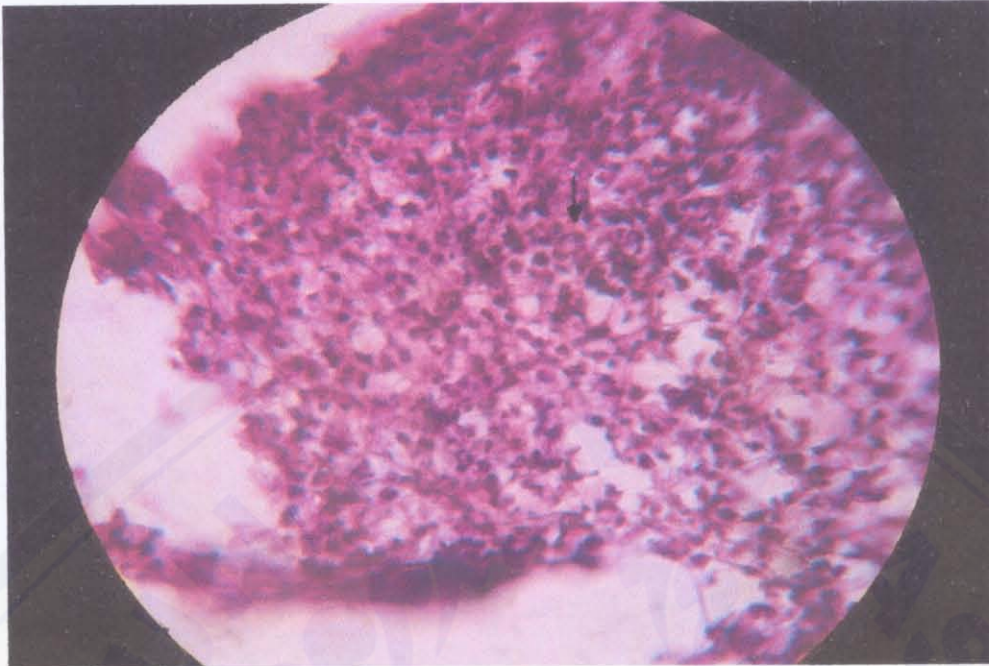
Gambar 6: Preparat hasil pengamatan neutrofil pada perlakuan hari ke-2 dengan pembesaran 1000x dan pengecatan *Haemotoxilin-eosin*



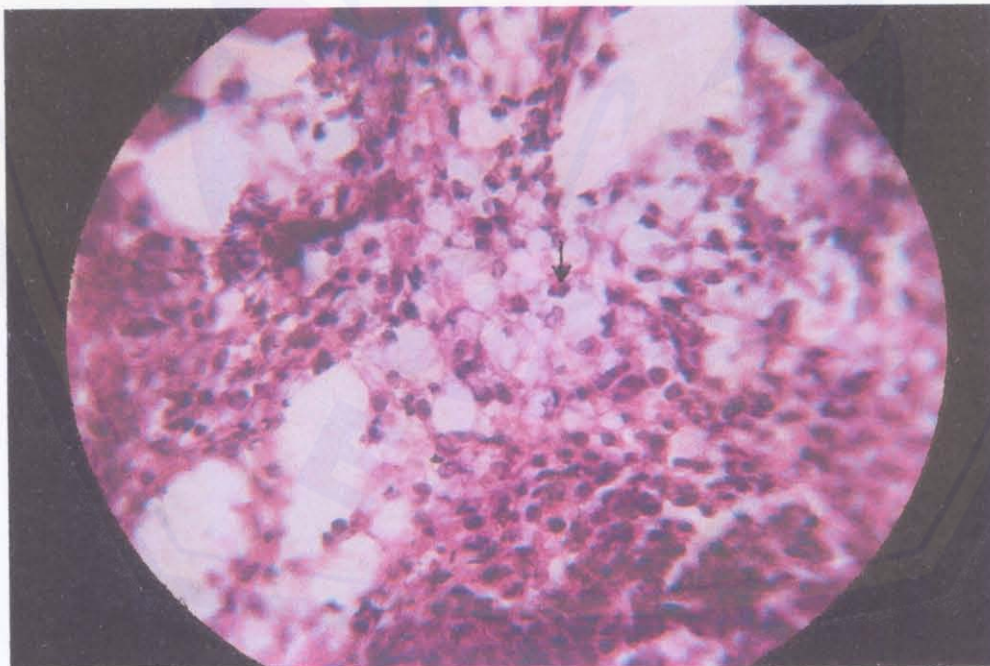
Gambar 7: Preparat hasil pengamatan neutrofil pada perlakuan hari ke-4 dengan pembesaran 1000x dan pengecatan *Haemotoxilin-eosin*



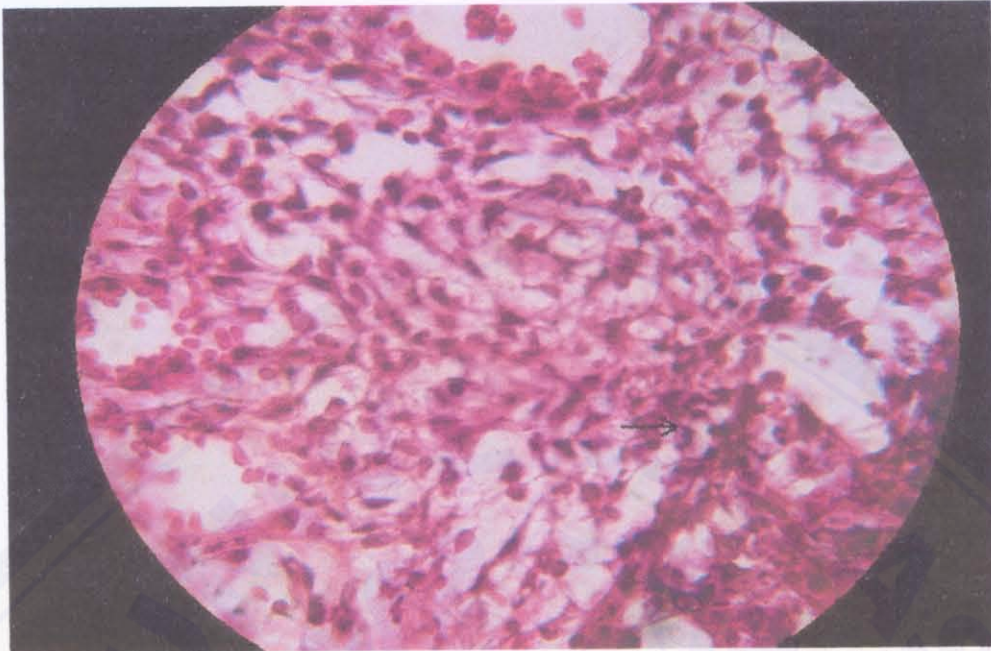
Gambar 8 : Preparat hasil pengamatan neutrofil pada perlakuan hari ke-8 dengan pembesaran 1000x dan pengecatan *Haemotoxilin-eosin*



Gambar 9: Preparat hasil pengamatan neutrofil pada kontrol (-) hari ke-2 dengan pembesaran 1000x dan pengecatan *Haemotoxilin-eosin*



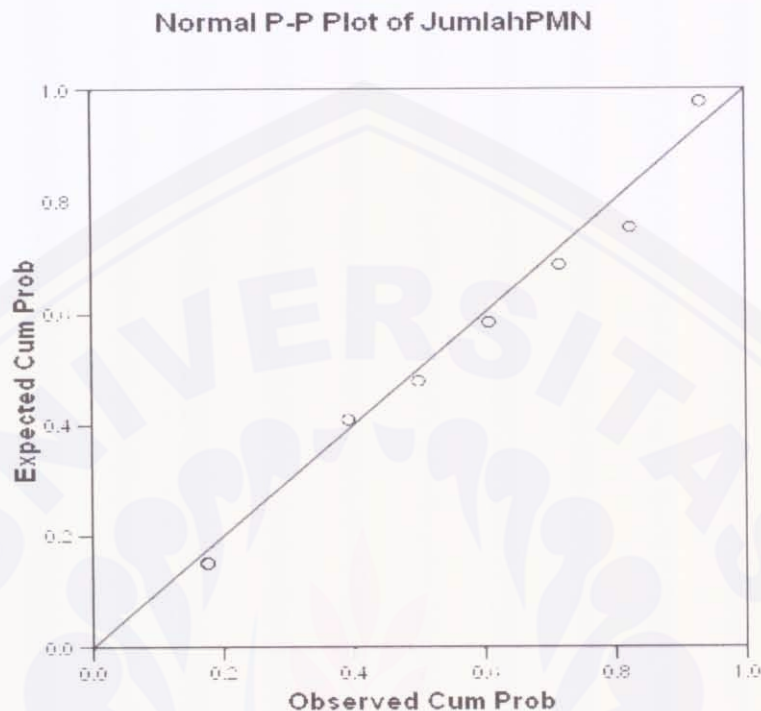
Gambar 10: Preparat hasil pengamatan neutrofil pada kontrol (-) hari ke-4 dengan pembesaran 1000x dan pengecatan *Haemotoxilin-eosin*



Gambar 11: Preparat hasil pengamatan neutrofil pada kontrol (-) hari ke-8 dengan pembesaran 1000x dan pengecatan *Haemotoxilin-eosin*

4.2 Analisa Hasil Penelitian

Data-data hasil penelitian tersebut diuji statistik dengan menggunakan uji parametrik yaitu uji *Two Way Anova* program SPSS dengan tingkat kemaknaan 95% ($P < 0,05$) untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antara jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan gigi tikus putih *Wistar* jantan pada tiap-tiap perlakuan, tiap-tiap waktu pengamatan, dan interaksi antar tiap-tiap perlakuan dengan waktu pengamatan dan dilanjutkan dengan uji *Least Significance Difference (LSD)*, sebagaimana yang tersaji dalam lampiran 8 sampai lampiran 10. Untuk memenuhi uji parametrik maka analisa didahului dengan uji normalitas data dan uji homogenitas. Uji normalitas data dengan menggunakan SPSS *PP Plot* seperti yang terlihat pada gambar grafik di bawah bertujuan untuk melihat apakah data yang didapatkan tersebut terdistribusi normal atau tidak.



Gambar 12. Grafik uji normalitas *PP Plot* rata-rata jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan gigi tikus putih *Wistar* jantan

Pada grafik *PP Plot* di atas menunjukkan bahwa keseluruhan kelompok berada di sekitar garis lurus, sehingga dapat disimpulkan bahwa data pada setiap kelompok terdistribusi normal. Pengujian dilanjutkan dengan uji homogenitas, seperti yang terlihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji homogenitas *Levene's test* dari rata-rata jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan gigi tikus putih *Wistar* jantan

Levene Statistik	df1	df2	Sig
4.542	5	42	.002

Keterangan :
 Levene Statistik : Taraf kepercayaan
 df1 : Derajat bebas kelompok perlakuan
 df2 : Standar error
 sig : Probabilitas

Berdasarkan tabel 2, dapat dilihat bahwa probabilitas jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan gigi tikus putih *Wistar* jantan sebesar 0,002 ($P < 0,05$) dengan demikian data tidak homogen, tetapi masih dapat dilanjutkan dengan uji *Two Way Anova*.

Tabel 3. Hasil uji *Two Way Anova* dari rata-rata jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan gigi tikus putih *Wistar* jantan

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Squares	F	Sig
Corrected Model	986.5834	8	123.323	262.396	.000
Intercept	4627.861	1	4627.861	9846.771	.000
Bahan	810.760	2	405.380	862.533	.000
Waktu	86.853	2	43.426	92.399	.000
Bahan*Waktu	88.970	4	22.243	47.326	.000
Error	29.609	63	.470		
Total	5644.053	72			
Corrected Total	1016.192	71			

Keterangan :
 Source : Sumber
 Sum of squares : Jumlah kuadrat
 df : Derajat bebas
 Mean square : Kuadrat tengah
 F : Varians taksiran
 Sig : Probabilitas

Hasil analisa data dengan *Two Way Anova* pada tabel 3 memperlihatkan bahwa jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan gigi tikus putih *Wistar* jantan pada masing-masing perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna dengan nilai 0,000 ($P < 0,05$), demikian juga pada tiap-tiap waktu pengamatan dan interaksi perlakuan dan waktu. Hal ini berarti hipotesa diterima, Selanjutnya dilakukan uji statistik *Least Significance Difference* (LSD) dengan derajat kemaknaan 95% ($P < 0,05$).

Tabel 4. Hasil uji LSD dari jumlah neutrofil PMN pada jaringan pasca pencabutan gigi tikus putih *Wistar* jantan

	K+ (2)	K+ (4)	K+ (8)	K- (2)	K- (4)	K-(8)	P 2	P 4	P 8
K+ (2)	-	1,000	1,000	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K+ (4)	1,000	-	1,000	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K+ (8)	1,000	1,000	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K- (2)	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K- (4)	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-	0,029*	0,000*	0,000*	0,000*
K- (8)	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,029*	-	0,002*	0,000*	0,000*
P (2)	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,002*	-	0,003*	0,000*
P (4)	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,003*	-	0,066
P (8)	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,066	-

Keterangan :

- * : Berbeda secara signifikan
- K + (2) : Kontrol positif hari ke - 2
- K + (4) : Kontrol positif hari ke - 4
- K + (8) : Kontrol positif hari ke - 8
- K - (2) : Kontrol negatif hari ke - 2
- K - (4) : Kontrol negatif hari ke - 4
- K - (8) : Kontrol negatif hari ke - 8
- P (2) : Perlakuan hari ke - 2
- P (4) : Perlakuan hari ke - 4
- P (8) : Perlakuan hari ke - 8

Dari hasil analisa data dengan uji LSD pada tiap kelompok perlakuan dan kontrol (tabel 4) dapat terlihat bahwa kelompok yang memiliki perbedaan tidak bermakna jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan gigi tikus putih *Wistar* jantan yaitu pada kelompok kontrol positif hari ke - 2 dengan kontrol positif hari ke - 4 dan hari ke - 8 sebesar 1,000 ($P > 0,05$), kelompok kontrol positif hari ke - 4 dengan kontrol positif hari ke - 2 dan hari ke - 8 dengan nilai signifikan 1,000 ($P > 0,05$), kontrol positif hari ke - 8 dengan kontrol positif hari ke - 2 dan hari - 4 bernilai 1,000 ($P > 0,05$), kelompok perlakuan hari ke - 4 dengan perlakuan hari ke - 8 sebesar 0,066 ($P > 0,05$), serta kelompok

perlakuan hari ke – 8 dengan perlakuan hari ke – 4 bernilai 0,066 ($P > 0,05$). Untuk kelompok – kelompok selain yang disebut diatas menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan gigi tikus putih *Wistar* jantan dengan nilai $P < 0,05$.



BAB V. PEMBAHASAN

Trauma yang terjadi akibat dilakukannya pencabutan memberikan reaksi dengan segera. Hal ini dapat dilihat pada tabel I yaitu pada kelompok kontrol negatif dan perlakuan. Pada kedua kelompok tersebut rata – rata jumlah PMN lebih besar daripada kelompok kontrol positif. Keradangan yang terjadi tersebut mempunyai suatu mekanisme pertahanan dan merupakan suatu respon terhadap luka jaringan (Lawler dkk, 1992). Sebagai respon protektif keradangan atau inflamasi tersebut diperlukan dalam upaya untuk mengembalikan luka sebelum mendapat injuri atau jejas dan memperbaiki diri sendiri setelah terkena injuri. Repon inflamatori mencoba untuk mempertahankan homeostasis di bawah lingkungan yang merugikan (Belanti, 1993). Keradangan yang ada ditandai dengan munculnya sel – sel radang dalam jaringan granulasi pasca pencabutan.

Pada hari ke – 2, kelompok kontrol negatif dan perlakuan, rata – rata jumlah neutrofil PMN nya meningkat. Peningkatan jumlah neutrofil PMN tersebut dikarena radang yang terjadi pada hari ke – 2 ini berada pada tahap akut. Hal ini sesuai dengan Price dan Wilson (1998) yang mengatakan bahwa sel – sel pertama yang muncul dalam jumlah besar pada jam – jam pertama keradangan adalah neutrofil polimorfonuklear. Yuwono dkk (2001) mengatakan tahap awal keradangan dimulai saat terjadinya luka dan hilangnya faktor yang memperlama keradangan $\pm 3 - 5$ hari.

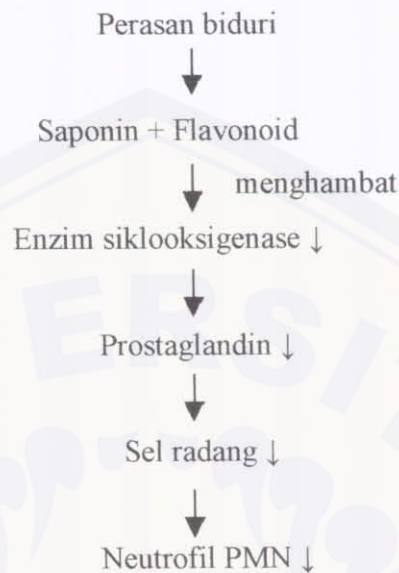
Hasil penelitian pada tabel I menunjukkan rata – rata jumlah neutrofil PMN pada tiap perlakuan dan kontrol menunjukkan adanya perbedaan antar ketiganya. Pada kelompok kontrol negatif dan perlakuan, jumlah neutrofil PMN dari hari ke – 2 sampai hari ke – 4 dan hari ke – 8 mengalami penurunan. Penurunan ini disebabkan oleh karena masa paruh neutrofil PMN yang singkat. Neutrofil tidak akan melampaui umur 24 – 48 jam atau mungkin oleh karena adanya aktifitas fagositosis makrofag. Monosit akan mengganti neutrofil dalam waktu 48 jam (Robbins dan Kumar, 1995). Radang kronis akan terjadi sesudah radang akut dan menunjukkan usaha tubuh untuk melokalisir agen penyebab dan memperbaiki kerusakan yang terjadi (Lawler dkk,

1992). Pada radang kronis lebih banyak ditemukan limfosit, sel plasma, makrofag dan fibroblas (Thomson dan Cotton, 1997). Sedangkan neutrofil PMN ditemukan dalam jumlah yang sangat sedikit (Robbins dan Kumar, 1995). Pada radang kronis, limfosit dan sel plasma memberikan reaksi ketahanan imunologis humoral dan seluler setempat. Makrofag merupakan fagositik dan membersihkan sisa – sisa jaringan setempat, sedangkan fibroblas berproliferasi dan sel – sel endotel yang membatasi kapiler untuk membentuk jaringan granulasi. Fibroblas akan mensekresikan kolagen, elastin dan bahan dasar menuju proses perbaikan (Lawler dkk, 1992). Pada penelitian ini radang kronis terjadi pada rentangan hari ke – 4 sampai hari ke – 8 pada kelompok kontrol negatif dan perlakuan.

Perbedaan penurunan jumlah neutrofil PMN yang signifikan antara keadaan tikus putih yang tidak dilakukan pencabutan tetapi diberi perasan daun biduri (kontrol positif) dengan keadaan tikus putih yang diterapi (perlakuan), membuktikan bahwa daun biduri sangat efektif sebagai terapi peradangan. Hal ini sesuai dengan Muscle dan Joint Rubs (2002) yang menyatakan bahwa daun biduri dapat digunakan untuk penyembuhan luka.

Efek anti inflamasi pada daun biduri disebabkan karena adanya saponin (Dalimartha, 2000) dan flavonoid (Robinson, 1995). Selama hidrolisis saponin menghasilkan *aglycosil* yang disebut sapogenin (Claus, 1961). Sapogenin merupakan kortikosteroid sintetis yang mengandung glukokortikoid yang dapat mempengaruhi reaksi inflamasi dengan cara menurunkan sintesis prostaglandin dengan jalan menghambat enzim siklooksigenase (Katzung, 2002). Glukokortikoid yang terdapat dalam sapogenin tersebut berfungsi sebagai agen anti radang yang kuat dan dapat menyebabkan sintesis suatu protein yaitu lipomodulin atau makrokortin yang dapat menghambat fosfolipase A₂. Seperti diketahui, fosfolipase ini diperlukan untuk pembentukan asam arakidonat dari fosfolipid sel, sehingga glukokortikoid yang melakukan blokade sintesis asam arakidonat dapat dengan efektif mencegah pembentukan lebih lanjut prostaglandin. Landolfi *et al* (2003), melaporkan bahwa pada konsentrasi tinggi, flavonoid juga dapat menghambat pelepasan arakidonat

dengan jalan memblokir jalur siklooksigenase sehingga dapat menurunkan sintesis prostaglandin. Ganiswarna (1995), menyatakan bahwa prostaglandin merupakan turunan asam lemak yang dibentuk endogen dengan efek fisiologi yang besar. Prostaglandin merupakan suatu produk mast sel yang dapat menyebabkan vasodilatasi, peningkatan permeabilitas vaskuler dan rasa sakit (Robbins dan Kumar, 1995). Prostaglandin sendiri dilepaskan dari neutrofil selama fagositosis (Thomson dan Cotton, 1997). Prostaglandin diproduksi dari asam arakidonat oleh siklooksigenase (COX₁ dan COX₂). COX₁ bersama dengan COX₂ bertanggung jawab untuk memproduksi prostaglandin (<http://en.wikipedia.org/wiki/prostaglandin>, 2005). Prostaglandin dapat menimbulkan permeabilitas vaskular, vasodilatasi dan nyeri pada proses radang (Thomson dan Cotton, 1997). Prostaglandin bertindak sebagai mediator pada hampir setiap tahap proses radang. Prostaglandin juga dapat ditemukan pada eksudat radang (Robbins dan Kumar, 1995). Dengan terhambatnya jalur prostaglandin oleh saponin dan flavonoid sebagai agen anti radang akan mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga migrasi sel radang pada area radang akan menurun. Untuk melihat adanya peranan daun biduri dalam menurunkan jumlah neutrofil PMN dalam proses peradangan dapat dilihat pada gambar skema di bawah.



Gambar 13. Skema peranan perasan daun biduri dalam menurunkan jumlah neutrofil PMN

Penurunan jumlah neutrofil PMN pada kelompok perlakuan dari hari ke – 4 sampai hari ke – 8 menunjukkan perbedaan yang kecil. Hal ini menunjukkan bahwa perasan daun biduri mempunyai efek anti inflamasi yang optimum. Hal ini kemungkinan disebabkan kandungan saponin yang terkandung dalam daun biduri sudah cukup efektif untuk menurunkan radang yang terjadi pada rentangan hari tersebut.

Proses penyembuhan radang tanpa terapi (kontrol negatif) akan berlangsung 10 – 14 hari (Sonis dkk, 1984), tetapi daun biduri dengan kandungan bahannya sebagai terapi anti inflamasi mampu menurunkan jumlah neutrofil PMN dalam 4 hari perlakuan. Pada perlakuan hari ke – 8 jumlah neutrofil PMN belum sama dengan keadaan sehat (kontrol positif) hal ini bisa dikatakan bahwa pemberian perasan daun biduri selama 7 hari masih belum bisa mengembalikan jumlah neutrofil PMN ke dalam keadaan normal (kontrol positif). Jadi perlu pemberian perasan daun biduri lagi dalam 2 – 3 hari lagi.

Jumlah neutrofil PMN dari hari ke – 2 hingga hari ke – 8 kelompok kontrol positif tidak mengalami perubahan. Berbeda sekali dengan kelompok perlakuan yang terdapat penurunan jumlah neutrofil PMN setelah diberi perasan daun biduri. Hal ini menunjukkan bahwa perasan daun biduri tidak efektif diberikan jika tidak ada suatu keradangan.



VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Perasan daun biduri dapat menurunkan jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan tikus *Wistar* jantan.
2. Semakin lama pemberian perasan daun biduri maka semakin menurun jumlah neutrofil PMN pada jaringan granulasi pasca pencabutan tikus *Wistar* jantan.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dan pengujian baik uji laboratoris dan uji klinis mengenai efek samping dari daun biduri jika digunakan peroral.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang metode pemberian daun biduri yang lain, misalnya secara topikal.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek toksikologi dari efek antiinflamasi perasan daun biduri pada tikus *wistar* jantan untuk mengetahui dosis aman dari perasan daun biduri

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, S. 1993. *Dasar – dasar Patologi*. Jakarta: EGC. Hal 8 – 28
- Anonim, 2000. *Herb information*. [Http://www.holisticonline.com](http://www.holisticonline.com). Diakses pukul 19.00.Tanggal 16 Maret 2004
- 2005. *Specialty Definition : Neutrophil*. [Http://www.websters-online.dictionaty.org/definition/english/Ne/Neutrophil.html](http://www.websters-online.dictionaty.org/definition/english/Ne/Neutrophil.html) # Definitions. Diakses pukul 10.00. Tanggal 12 Februari 2005
- 2005. *Saponin*. [Http://micro.magnet.fsu.edu/phtochemicals/pages/saponin.html](http://micro.magnet.fsu.edu/phtochemicals/pages/saponin.html). Diakses pukul 10.15. Tanggal 12 Februari 2005
- 2005. *Saponin*. [Http://www.eas.com/glossary/glossary.asp?glos.pk=278](http://www.eas.com/glossary/glossary.asp?glos.pk=278). Diakses pukul 10.30. Tanggal 12 Februari 2005
- 2005. *Prostaglandin*. [Http://en.wikipedia.org/wiki/prostaglandin](http://en.wikipedia.org/wiki/prostaglandin) # Biochemistry. Diakses pukul 10.35. Tanggal 12 Februari 2005
- Baker, H. J, J. R. Lindsey dan S. H. Weisgroth. 1979. *The Laboratory Rat*. Volume 1 *Biology ad Diseases*. London LTD: Academic Press Inc. Hal 110
- Bellanti, J.A. 1993. *Imunologi III*. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press. Hal 223 – 226
- Choiriyah, A. 2003. Uji Efek Antipiretik Perasan Daun Biduri (*Calotropis gigante*) Pada Tikus Putih (*Rattus norwegicus*) Jantan. *Skripsi*. Jember : FKG Unej
- Claus, E. P. 1961. *Pharmacognansy Philadelphia*. Hal 129, 169 - 292
- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tanaman Obat Indonesia*. Jilid 2. Jakarta: Trutus Agriwidya. Hal 12 - 13
- Dorland, 1996. *Kamus Kedokteran*. Edisi 26. Jkt :EGC. Hal 1065
- Ganiswarna S. Group investigation dkk. 1995. *Farmakologi Dan Terapi*. Edisi IV. Jakarta: Fakultas kedokteran Universitas Indonesia. Hal 251 - 260
- Guyton, A. C dan J. E Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Jakarta: EGC. Hal 249
- Howe, G. L. 1989. *Pencabutan Gigi Geligi*. Alih Bahasa drg. P. P. Sianita Kurniawan. Edisi ke – 2. Jakarta: EGC. Hal 95 - 96

- Jonqueira, L. C, J. Corneiro dan R. Kelly. 1997. *Histologi Dasar*. Alih Bahasa : dr. Jon Tambayong. Edisi VIII. Jakarta : EGC. Hal 237, 240, 272
- Katzung, B. G. 1989. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edii 3. Terjemahan Staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. Jakarta: Dian Rakyat. Hal 305 –312, 583 - 585
- Lawler, W, A. Ahmed dan J. H. William 1992. *Buku Pintar Patologi Untuk Kedokteran Gigi*. Terjemahan Agus Djaya dari Essential Pathology For Dental Student. Jakarta : EGC. Hal 9 - 11
- Leeson, C. R, Thomas. S. L. dan A. A. Paparo. 1995. *Buku Ajar Histologi*. Edisi 5. Jakarta: EGC. Hal 163 - 165
- Maheswari, H. 2002. *Pemanfaatan Obat Alami: Potensi dan Prospek Pengembangan*. <http://www.healing-art.org/>. Diakses Pukul 20.00. Tanggal 12 April 2004.
- Muscle dan Joint Rub. 2002. *Herbal Monograph*. [Http://www.himalayahealthcare.com/hebfinder/h.calotropis.htm](http://www.himalayahealthcare.com/hebfinder/h.calotropis.htm). Diakses pukul 19.00. Tanggal 22 Maret 2004
- Pedersen, G. W. 1996. *Buku Ajar Praktis Bedah Mulut*. Alih Bahasa drg. Purwanto dan drg. Basoesena. Jakarta:EGC. Hal 29 - 65
- Price, S. A dan L. Mc Carty Wilson. 1988. *Patofisiologi Konsep Klinik Proses - proses Penyakit*. Edisi 2. Jakarta: EGC. Hal 34 - 43
- Robbins dan Kumar. 1995. *Buku Ajar Patologi I*. Edisi 4. Jakarta: EGC. Hal 28 - 52
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*.Edisi VI. Bandung : ITB. Hal 157 – 158, 191 – 193
- Ross. M. H dan J. R. Edward. 1985. *Histology : A Text and Atlas*. New York : J.B Lippincott Company. Hal 2 – 3
- Saptoyono, B. 1996. Pengaruh aplikasi Getah Pisang Pada Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi *Cavia cobaya*. *Dalam Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal)*. Vol. 29 No 1. Surabaya:FKG UNEJ. Hal 117
- Sastroamidjojo, S. 1997. *Obat Asli Indonesia*. Jakarta: Dian Rakyat. Hal 35 - 53
- Sobotta dan F. Hammersen. 1993. *Histoogi Atlas Berwarna Anatomi Mikroskopik*. Edisi 3. Alih Bahasa : Petrus Andrianto. Jakarta : EGC. Hal 2

- Sonis, ST, RC Fazio dan L. Fang. 1984. *Principles and Practice of oral medicine*. Philadelphia : W.B - Saunders
- Sheldon dan M. D. Sommers. 1965. *Manual For Histologic Technicians*. London: J. A. Churchill Ltd. Hal 102 - 105
- Steel, R. G. D dan H. Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statika Suatu Pendekatan Biometrik*. Edisi kedua. Alih Bahasa: Bambang Sumantri. Judul Asli: *Principles and Procedures of Statistic*, 1996. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama. Hal 145
- Thomson, A. D dan R. E. Cotton. 1997. *Catatan Kuliah Patologi*. Jakarta: EGC. Hal 27 - 36
- Tjitrosoepomo. 1994. *Toksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Pres. Hal 352
- Tjokronegoro, A, Prof dr, PhD dan H Utama, dr. SpFk. 1999. *Metodologi Penelitian Bidang Kedokteran*. Cetakan ketiga. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hal 39 - 57
- Wang, C. Y, Tanii I. N dan Stashenko. P. 1997. Bone Resorptive Cytokine Expression in Periapical Lesions. *Dalam Majalah Kedokteran Gigi Oral Microbal Immunology*. Vol 12. Jakarta : FKG Usakti. Hal : 65 - 72
- Wijayakusuma, H. M. Hembing. 2000. *Ensiklopedia Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia*. Jakarta: Perani Insan Indoneia. Hal 182
- Yanti, N. 1999. Sitotoksitas Larutan Saponin dari Buah Sapindus Rarak DC. *Dalam Majalah Dentika (Dental Journal) Volume 32. No.2 : 48*. Medan. Fakultas Kedokteran gigi Universitas Sumatera Utara.
- Yuwono, B, Purwanto, M. Syafriadi dan M. Novita. 1999. *Buku Ajar Bedah Mulut I*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Hal 1 – 8
- 2001. *Buku Ajar Bedah Mulut II*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Hal 90 - 178

LAMPIRAN 1

Penghitungan Besar Sampel

Penghitungan Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan rumus sebagai berikut :

$$n = \left[\frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \sigma p^2}{\delta^2} \right]$$

n = Besar sampel minimal

Z_{α} = Batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (1,96)

Z_{β} = Batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (0,85)

σp^2 = Diasumsikan $\sigma p^2 = 2 \delta^2$

α = Tingkat signifikan (0,025)

P = Prosentase taksiran hal yang akan diteliti (0,80)

α = $1 - \beta$

β = 0,20

(Steel dan Torrie, 1995)

Keterangan :

Perhitungan besar sampel terdapat pada lampiran 1. Berdasarkan perhitungan rumus besar sampel diatas, diperoleh jumlah sampel minimal = 8, maka besar sampel = 56, yang diambil peneliti telah memenuhi kriteria tersebut (Steel dan Torrie, 1995).

LAMPIRAN 2

Tabel Komposisi Makanan Standar Dalam %

Komposisi	Jumlah (%)
Protein	21
Serat	4
Lemak	4
Air	14
Abu	6,5
Kalsium	0,9 – 1,1
Phospor	0,7 – 0,9

Sumber : Feedmill Malindo, Gresik

LAMPIRAN 3

Foto Alat dan Bahan Penelitian

Foto Alat



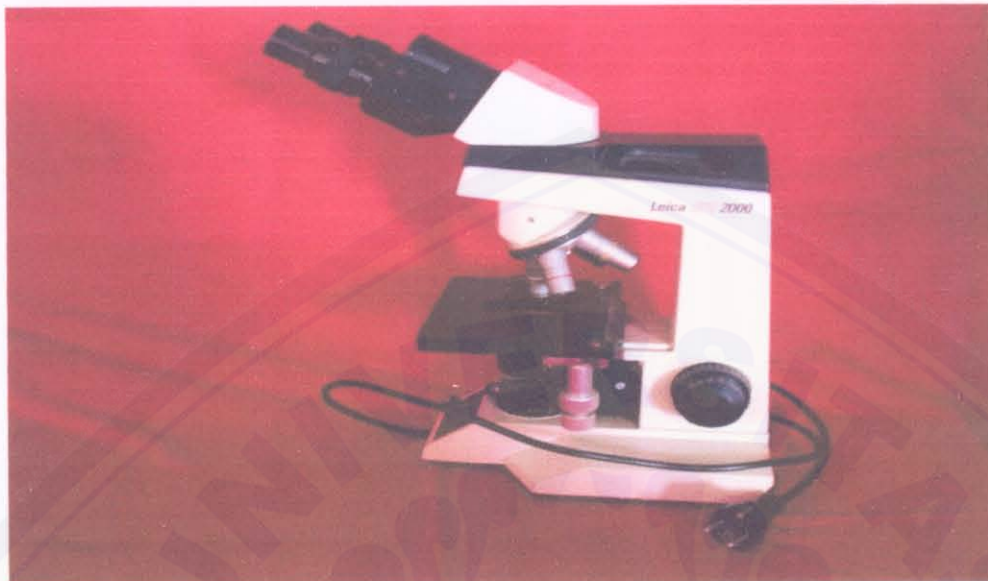
Gambar 14 : Alat yang digunakan dalam penelitian

Keterangan :

- a. Timbangan
- b. Sonde
- c. Eksavator
- d. Scalpel dan Blade
- e. Pinset
- f. Gunting
- g. Sonde Lambung
- h. *Syringe*
- i. Gelas obyek dan *Cover glass*



Foto Mikroskop



Gambar 15 : Mikroskop

Foto Tikus



Gambar 16 : Tikus Putih

Foto Bahan



Gambar 17 : Bahan Penelitian

Keterangan :

- a. Cat HE
- b. Larutan Eosine
- c. Perasan daun biduri
- d. Minyak emersi
- e. Eter
- f. Aquabidest
- g. Ketalar

LAMPIRAN 4

Tabel Hasil Pengukuran Neutrofil PMN Pada Jaringan Granulasi Pasca
Pencabutan Tikus Putih *Wistar* Jantan

	KONTROL				PERLAKUAN		
	KONTROL(+)	KONTROL (-)			Hari	Hari	Hari
		Hari ke- 2	Hari ke- 4	Hari ke- 8	ke- 2	ke- 4	ke- 8
1.	3.78	16	10.56	10	7.67	8.22	6.89
2.	3.44	13.78	10.67	9.44	7.11	7.56	7.11
3.	4.33	14	9.67	11	9.56	7.56	7.56
4.	3.89	15.56	10.11	9.89	9.33	7.89	7.11
5.	3.44	17.22	11.33	10.33	8.56	7.89	7
6.	4	16.78	10.56	9.22	9.89	8.11	7.44
7.	4.78	17.22	11.56	9.78	9.56	7.56	7.44
8.	3.89	16.11	11.22	9.89	9.22	7.67	6.78
X	3.94	15.83	10.71	9.94	8.86	7.81	7.17

LAMPIRAN 5

DESCRIPTIVES

Descriptive Statistics

Dependent Variable: PMN

Bahan	Waktu	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol (+)	Hari ke-2	3,9438	,4459	8
	Hari ke-4	3,9438	,4459	8
	Hari ke-8	3,9438	,4459	8
	Total	3,9438	,4261	24
Kontrol (-)	Hari ke-2	15,8338	1,3362	8
	Hari ke-4	10,7100	,6387	8
	Hari ke-8	9,9438	,5449	8
	Total	12,1625	2,8093	24
Perlakuan	Hari ke-2	8,8625	,9971	8
	Hari ke-4	7,8075	,2613	8
	Hari ke-8	7,1663	,2839	8
	Total	7,9454	,9264	24
Total	Hari ke-2	9,5467	5,0732	24
	Hari ke-4	7,4871	2,8672	24
	Hari ke-8	7,0179	2,5392	24
	Total	8,0172	3,7832	72

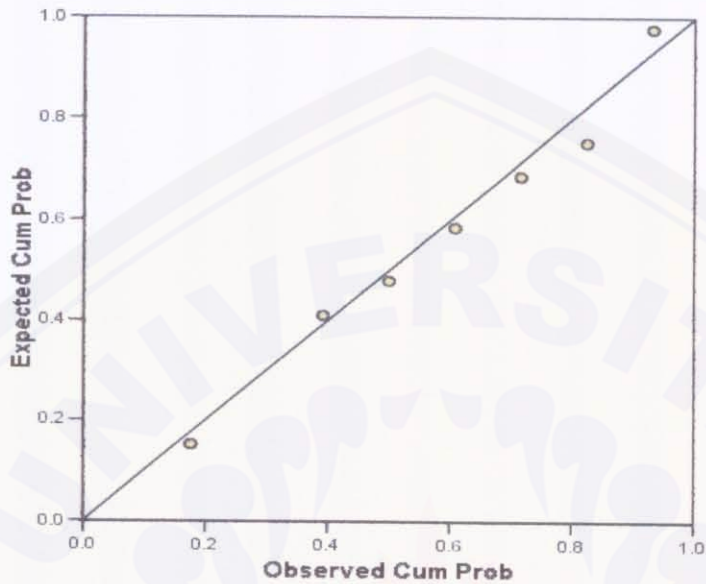
Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std.	Kurtosis	
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error
Perlakuan	72	1,00	3,00	2,0000	,8222	-1,521	,559
Waktu	72	1,00	3,00	2,0000	,8222	-1,521	,559
PMN	72	3,44	17,22	8,0172	3,7832	,009	,559
Valid N (listwis)	72						

LAMPIRAN 6

UJI NORMALITAS DAN HOMOGENITAS

Normal P-P Plot of JumlahPMN



Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
PMN	72	8,0172	3,7832	3,44	17,22

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
PMN	Based on Mean	4,854	5	42	,001
	Based on Median	2,780	5	42	,029
	Based on Median and with adjusted df	2,780	5	21,084	,044
	Based on trimmed mean	4,542	5	42	,002

LAMPIRAN 7

UJI TWO WAY ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PMN

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	986,583 ^a	8	123,323	262,396	,000
Intercept	4627,861	1	4627,861	9846,771	,000
BAHAN	810,760	2	405,380	862,533	,000
WAKTU	86,853	2	43,426	92,399	,000
BAHAN * WAKTU	88,970	4	22,243	47,326	,000
Error	29,609	63	,470		
Total	5644,053	72			
Corrected Total	1016,192	71			

a. R Squared = ,971 (Adjusted R Squared = ,967)

LAMPIRAN 8

TABEL UJI LSD FAKTOR BAHAN

Multiple Comparisons

Dependent Variable: PMN

LSD

(I) Bahan	(J) Bahan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol (+)	Kontrol (-)	-8,2187*	,1979	,000	-8,6142	-7,8233
	Perlakuan	-4,0017*	,1979	,000	-4,3971	-3,6062
Kontrol (-)	Kontrol (+)	8,2187*	,1979	,000	7,8233	8,6142
	Perlakuan	4,2171*	,1979	,000	3,8216	4,6126
Perlakuan	Kontrol (+)	4,0017*	,1979	,000	3,6062	4,3971
	Kontrol (-)	-4,2171*	,1979	,000	-4,6126	-3,8216

Based on observed means.

*.The mean difference is significant at the ,05 level.

LAMPIRAN 9

TABEL UJI LSD FAKTOR WAKTU

Multiple Comparisons

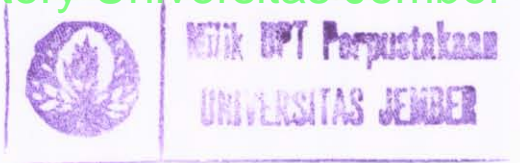
Dependent Variable: PMN

LSD

(I) Waktu (J) Waktu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Hari ke-2 Hari ke-4	2,0596*	,1979	,000	1,6641	2,4551
	Hari ke-8	2,5287*	,1979	2,1333	2,9242
Hari ke-4 Hari ke-2	-2,0596*	,1979	,000	-2,4551	-1,6641
	Hari ke-8	,4692*	,1979	7,369E-02	,8646
Hari ke-8 Hari ke-2	-2,5287*	,1979	,000	-2,9242	-2,1333
	Hari ke-4	-,4692*	,1979	-,8646	7,3689E-02

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.



LAMPIRAN 10

TABEL UJI LSD KOMBINASI BAHAN DAN WAKTU

Multiple Comparisons

Dependent Variable: PMN
LSD

(I) Kombinasi	(J) Kombinasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol (+) - Hari ke-2	Kontrol (+) - Hari ke-4	.0000	.3428	1,000	-.6850	.6850
	Kontrol (+) - Hari ke-8	.0000	.3428	1,000	-.6850	.6850
	Kontrol (-) - Hari ke-2	-11,8900*	.3428	.000	-12,5750	-11,2050
	Kontrol (-) - Hari ke-4	-6,7662*	.3428	.000	-7,4512	-6,0813
	Kontrol (-) - Hari ke-8	-6,0000*	.3428	.000	-6,8850	-5,3150
	Perlakuan - Hari ke-2	-4,9188*	.3428	.000	-5,6037	-4,2338
	Perlakuan - Hari ke-4	-3,8637*	.3428	.000	-4,5487	-3,1788
	Perlakuan - Hari ke-8	-3,2225*	.3428	.000	-3,9075	-2,5375
Kontrol (+) - Hari ke-4	Kontrol (+) - Hari ke-2	.0000	.3428	1,000	-.6850	.6850
	Kontrol (+) - Hari ke-8	.0000	.3428	1,000	-.6850	.6850
	Kontrol (-) - Hari ke-2	-11,8900*	.3428	.000	-12,5750	-11,2050
	Kontrol (-) - Hari ke-4	-6,7662*	.3428	.000	-7,4512	-6,0813
	Kontrol (-) - Hari ke-8	-6,0000*	.3428	.000	-6,8850	-5,3150
	Perlakuan - Hari ke-2	-4,9188*	.3428	.000	-5,6037	-4,2338
	Perlakuan - Hari ke-4	-3,8637*	.3428	.000	-4,5487	-3,1788
	Perlakuan - Hari ke-8	-3,2225*	.3428	.000	-3,9075	-2,5375
Kontrol (+) - Hari ke-8	Kontrol (+) - Hari ke-2	.0000	.3428	1,000	-.6850	.6850
	Kontrol (+) - Hari ke-4	.0000	.3428	1,000	-.6850	.6850
	Kontrol (-) - Hari ke-2	-11,8900*	.3428	.000	-12,5750	-11,2050
	Kontrol (-) - Hari ke-4	-6,7662*	.3428	.000	-7,4512	-6,0813
	Kontrol (-) - Hari ke-8	-6,0000*	.3428	.000	-6,8850	-5,3150
	Perlakuan - Hari ke-2	-4,9188*	.3428	.000	-5,6037	-4,2338
	Perlakuan - Hari ke-4	-3,8637*	.3428	.000	-4,5487	-3,1788
	Perlakuan - Hari ke-8	-3,2225*	.3428	.000	-3,9075	-2,5375
Kontrol (-) - Hari ke-2	Kontrol (+) - Hari ke-2	11,8900*	.3428	.000	11,2050	12,5750
	Kontrol (+) - Hari ke-4	11,8900*	.3428	.000	11,2050	12,5750
	Kontrol (+) - Hari ke-8	11,8900*	.3428	.000	11,2050	12,5750
	Kontrol (-) - Hari ke-4	5,1238*	.3428	.000	4,4388	5,8087
	Kontrol (-) - Hari ke-8	5,8900*	.3428	.000	5,2050	6,5750
	Perlakuan - Hari ke-2	6,9713*	.3428	.000	6,2863	7,6562
	Perlakuan - Hari ke-4	8,0263*	.3428	.000	7,3413	8,7112
	Perlakuan - Hari ke-8	8,6675*	.3428	.000	7,9825	9,3525
Kontrol (-) - Hari ke-4	Kontrol (+) - Hari ke-2	6,7662*	.3428	.000	6,0813	7,4512
	Kontrol (+) - Hari ke-4	6,7662*	.3428	.000	6,0813	7,4512
	Kontrol (+) - Hari ke-8	6,7662*	.3428	.000	6,0813	7,4512
	Kontrol (-) - Hari ke-2	-5,1238*	.3428	.000	-5,8087	-4,4388
	Kontrol (-) - Hari ke-8	.7662*	.3428	.029	.0813	1,4512
	Perlakuan - Hari ke-2	1,8475*	.3428	.000	1,1625	2,5325
	Perlakuan - Hari ke-4	2,9025*	.3428	.000	2,2175	3,5875
	Perlakuan - Hari ke-8	3,5437*	.3428	.000	2,8588	4,2287
Kontrol (-) - Hari ke-8	Kontrol (+) - Hari ke-2	6,0000*	.3428	.000	5,3150	6,6850
	Kontrol (+) - Hari ke-4	6,0000*	.3428	.000	5,3150	6,6850
	Kontrol (+) - Hari ke-8	6,0000*	.3428	.000	5,3150	6,6850
	Kontrol (-) - Hari ke-2	-5,8900*	.3428	.000	-6,5750	-5,2050
	Kontrol (-) - Hari ke-4	-.7662*	.3428	.029	-1,4512	-.0813
	Perlakuan - Hari ke-2	1,0812*	.3428	.002	.3963	1,7662
	Perlakuan - Hari ke-4	2,1362*	.3428	.000	1,4513	2,8212
	Perlakuan - Hari ke-8	2,7775*	.3428	.000	2,0925	3,4625
Perlakuan - Hari ke-2	Kontrol (+) - Hari ke-2	4,9188*	.3428	.000	4,2338	5,6037
	Kontrol (+) - Hari ke-4	4,9188*	.3428	.000	4,2338	5,6037
	Kontrol (+) - Hari ke-8	4,9188*	.3428	.000	4,2338	5,6037
	Kontrol (-) - Hari ke-2	-6,9713*	.3428	.000	-7,6562	-6,2863
	Kontrol (-) - Hari ke-4	-1,8475*	.3428	.000	-2,5325	-1,1625
	Kontrol (-) - Hari ke-8	-1,0812*	.3428	.002	-1,7662	-.3963
	Perlakuan - Hari ke-4	1,0550*	.3428	.003	.3700	1,7400
	Perlakuan - Hari ke-8	1,8963*	.3428	.000	1,0113	2,3812
Perlakuan - Hari ke-4	Kontrol (+) - Hari ke-2	3,8637*	.3428	.000	3,1788	4,5487
	Kontrol (+) - Hari ke-4	3,8637*	.3428	.000	3,1788	4,5487
	Kontrol (+) - Hari ke-8	3,8637*	.3428	.000	3,1788	4,5487
	Kontrol (-) - Hari ke-2	-8,0263*	.3428	.000	-8,7112	-7,3413
	Kontrol (-) - Hari ke-4	-2,9025*	.3428	.000	-3,5875	-2,2175
	Kontrol (-) - Hari ke-8	-2,1362*	.3428	.000	-2,8212	-1,4513
	Perlakuan - Hari ke-2	-1,0550*	.3428	.003	-1,7400	-.3700
	Perlakuan - Hari ke-8	.6413	.3428	.066	-.0437	1,3262
Perlakuan - Hari ke-8	Kontrol (+) - Hari ke-2	3,2225*	.3428	.000	2,5375	3,9075
	Kontrol (+) - Hari ke-4	3,2225*	.3428	.000	2,5375	3,9075
	Kontrol (+) - Hari ke-8	3,2225*	.3428	.000	2,5375	3,9075
	Kontrol (-) - Hari ke-2	-8,6675*	.3428	.000	-9,3525	-7,9825
	Kontrol (-) - Hari ke-4	-3,5437*	.3428	.000	-4,2287	-2,8588
	Kontrol (-) - Hari ke-8	-2,7775*	.3428	.000	-3,4625	-2,0925
	Perlakuan - Hari ke-2	-1,8963*	.3428	.000	-2,3812	-1,0113
	Perlakuan - Hari ke-4	-.6413	.3428	.066	-1,3262	.0437

*. The mean difference is significant at the .05 level.