



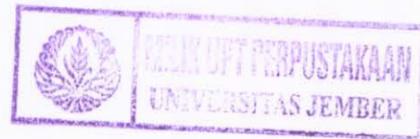
**PENURUNAN JUMLAH PMN NEUTROFIL DARAH TEPI  
TIKUS PUTIH GALUR WISTAR JANTAN SETELAH  
PEMBERIAN EKSTRAK DAUN ASAM  
(*Tamarindus Indica* Linn)**

**SKRIPSI**

Oleh :

**KRISTINA MAYASARI**  
011610101047

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2005**



**PENURUNAN JUMLAH PMN NEUTROFIL DARAH TEPI  
TIKUS PUTIH GALUR WISTAR JANTAN SETELAH  
PEMBERIAN EKSTRAK DAUN ASAM  
(*Tamarindus Indica* Linn)**

**SKRIPSI**

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

Oleh :

**KRISTINA MAYASARI**

011610101047

Asal :	Hadiah	Klass
	Persewaan	615.882
		MAY
Pengkatalog :		OP

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2005**

Dengan rasa syukur,  
Kupersembahkan karya sederhana ini untuk

Ayahanda H.Kisman dan Ibunda Hj.Kasiyati,  
atas curahan kasih sayang dan cinta, doa tulusnya yang tiada henti  
terpanjatkan, serta dukungan dan pengorbanan besar yang mengiringi demi  
tercapainya cita-cita Ananda. Kebahagiaan Ayahanda dan Ibunda menjadi  
semangat buat Ananda

Kakakku Heny Kismawati dan Adikku Mirna Ayu Kismawati tersayang,  
walau jauh namun doa, semangat dan motivasimu selalu menyertaiku.  
Bersama kalian Aku merasa semakin kuat

Mbah'uti, dhe Tres dan keluarga besar di Pandaan,  
yang telah memberikan perhatian dan doa yang tulus serta pengorbanan yang  
tiada ternilai untuk kesuksesan dan kebahagiaanku

Agamaku

Almamater yang selalu kubanggakan

*MOTTO*

*Dia tidak dapat dicapai oleh penglihatan mata, sedang Dia dapat melihat segala penglihatan itu dan Dialah Yang Maha Halus lagi Maha Mengetahui*

*(QS. Al-An'aam : 103)*

*Aku memperoleh kekuatan, keberanian dan rasa percaya diri dari setiap pengalaman yang membuatku berhenti sejenak untuk mengatasi rasa takutku dan aku dapat berkata pada diriku sendiri :*

*"Aku pasti bisa menghadapi hal-hal berikutnya"*

*(Chicken soup for the collage)*

*Bukan kecerdasan saja yang membawa sukses, tapi juga hasrat untuk sukses, komitmen untuk bekerja keras dan keberanian untuk percaya akan diri sendiri*

*(Chicken soup for the soul)*

*Kunci sukses dalam hidup adalah berpikir positif, berdoa dan berani mencoba*

*(Maya)*



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Kristina Mayasari

NIM : 011610101047

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul: **"Penurunan Jumlah PMN Neutrofil Darah Tepi Tikus Putih Galur Wistar Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Daun Asam (*Tamarindus indica* Linn)"** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 17 September 2005

Yang menyatakan,

Kristina Mayasari  
NIM. 011610101047

**PENGESAHAN**

Skripsi ini diterima oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari : Sabtu

tanggal : 17 September 2005

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua (Dosen Pembimbing Utama),

Sekretaris,

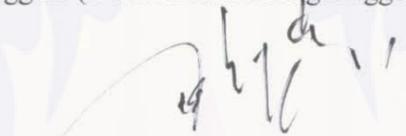


drg. Budi Sumarsetyo, Sp. BM.  
NIP. 140 146 683



drg. Budi Yuwono, M. Kes.  
NIP. 132 232 800

Anggota (Dosen Pembimbing Anggota),



drg. H. Sonny Subiyantoro, M. Kes.  
NIP. 131 417 214

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember



drg. Zahren Hamzah, MS.  
NIP. 131 558 576

RINGKASAN

**Penurunan Jumlah PMN Neutrofil Darah Tepi Tikus Putih Galur Wistar Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Daun Asam (*Tamarindus indica* Linn), Kristina Mayasari, 011610101047, 2005, 46 halaman.**

Salah satu tindakan pembedahan di bidang Kedokteran Gigi yang sering menimbulkan peradangan adalah pencabutan gigi. Segera setelah dimulainya proses peradangan, neutrofil akan muncul. Jika respon peradangan tidak terkendali dapat terjadi akibat serius. Pelimpahan neutrofil yang berlebihan dan pelepasan isi enzimatisnya dapat mengakibatkan kerusakan struktur yang serius. Pengobatan dari kejadian ini adalah terapi anti radang. Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai anti radang adalah daun asam. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui penurunan jumlah PMN Neutrofil darah tepi pada tikus putih galur Wistar jantan setelah diberi ekstrak daun asam peroral paska insisi *full thickness*.

Penelitian dilakukan selama bulan Maret-April 2005. Sampel penelitian sebanyak 16 ekor tikus putih galur Wistar jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 100-200 gram, sehat dan dibagi menjadi dua kelompok. Delapan ekor tikus (kelompok kontrol) dilakukan insisi *full thickness* pada lipatan labial anterior bawah dan delapan ekor tikus lainnya (kelompok perlakuan) dilakukan insisi *full thickness* pada lipatan labial anterior bawah dan diberi ekstrak daun asam peroral sebanyak 3,6 ml/200 gr BB. Setiap sampel dilakukan pengambilan darah tepi dan penghitungan jumlah PMN neutrofil pada hari pertama.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan uji *t-test* ( $p < 0,05$ ) diketahui terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Hal ini dikarenakan daun asam memiliki khasiat sebagai anti radang.

Kesimpulan yang didapat dari hasil analisis data dan pembahasan adalah pemberian ekstrak daun asam peroral dapat menurunkan jumlah sel PMN neutrofil pada hapusan darah tepi tikus.

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penyusunan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul "**Penurunan Jumlah PMN Neutrofil Darah Tepi Tikus Putih Galur Wistar Jantan Setelah Pemberian Ekstrak Daun Asam (*Tamarindus indica* Linn)**" dapat terselesaikan dengan baik.

Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini diselesaikan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan program Sarjana Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih kepada:

1. **drg. Zahreni Hamzah, MS.** sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
2. **drg. Budi Sumarsetyo, Sp. BM.** selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, petunjuk dan motivasi penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. **drg. H. Sonny Subiyantoro, M. Kes.** selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan, petunjuk dan motivasi penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. **drg. Budi Yuwono, M. Kes.** selaku Sekretaris yang telah memberikan masukan dan arahan untuk kesempurnaan penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. **drg. Erawati Wulandari** yang telah memberikan bimbingan dan motivasi serta selalu mengajarkan dan mengingatkan agar menjadikanku lebih baik.
6. Staf teknisi Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember khususnya **Mas Agus, A. Md.** atas bantuannya selama penelitian.
7. My best friend, **Dwi Fitria Nila Sari** yang selalu menyediakan waktu untuk mendengarkan segala keluh kesahku disaat suka maupun susah. Semoga persahabatan ini sampai akhir nanti.

8. Teman-teman sejawatku, **Feby Elyana Wardani** dan **Esti Triana Putri** telah menjadi sobatku yang banyak mengisi kekosongan dan memberi warna serta keceriaan hidup. Semangat dan kebersamaan kita menciptakan keberhasilan ini.
9. Teman-teman senasib dan seperjuangan **Angkatan '01** yang telah membantuku dalam segala hal. Terima kasih juga atas doa dan senyumnya.
10. Semua pihak yang membantu dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat menambah khasanah Ilmu Pengetahuan bagi semua pihak dan bermanfaat bagi pengembangan Ilmu Kedokteran Gigi. Penulis juga mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.

Jember, 15 Juni 2005

Kristina Mayasari

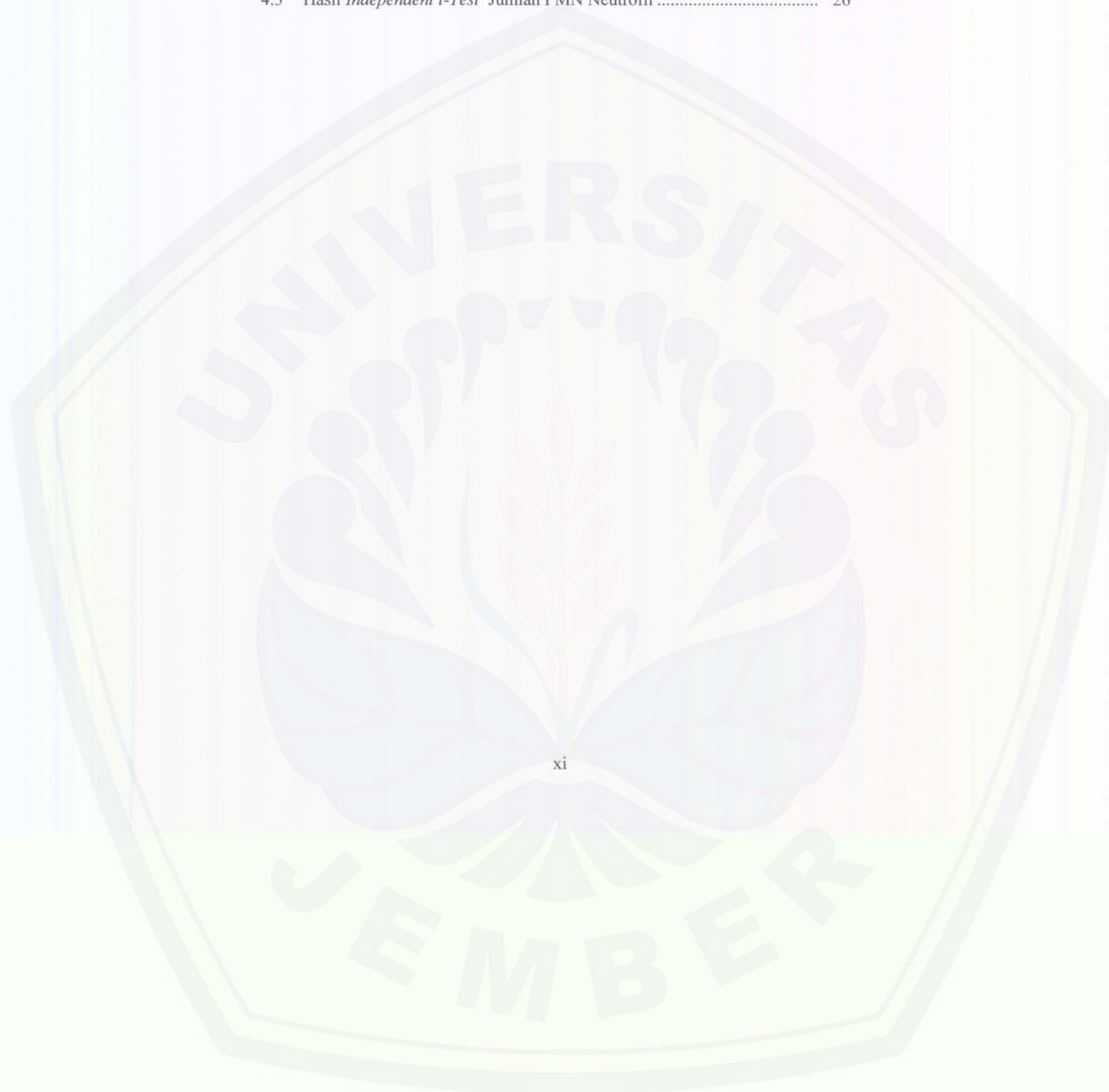
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN MOTTO.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iv
HALAMAN PENGESAHAN .....	v
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat.....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Tanaman Asam (<i>Tamaridus indica</i> Linn) .....</b>	<b>4</b>
2.1.1 Morfologi .....	4
2.1.2 Sifat dan Kandungan Kimia.....	5
2.1.3 Manfaat .....	6
<b>2.2 Penyembuhan Luka.....</b>	<b>8</b>
2.2.1 Proses Radang.....	9
2.2.2 Mekanisme Penyembuhan Luka .....	10
<b>2.3 Leukosit Polimorfonuklear (PMN) Neutrofil.....</b>	<b>12</b>
2.3.1 Karakteristik PMN Neutrofil .....	13
2.3.2 Respon terhadap Radang.....	13
<b>2.4 Hipotesis.....</b>	<b>14</b>
<b>2.5 Kerangka Penelitian .....</b>	<b>15</b>

<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>16</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....</b>	<b>16</b>
<b>3.3 Variabel Penelitian .....</b>	<b>16</b>
3.3.1 Variabel Bebas .....	16
3.3.2 Variabel Terikat .....	16
3.3.3 Variabel Terkendali.....	17
<b>3.4 Definisi Operasional .....</b>	<b>17</b>
<b>3.5 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>17</b>
3.5.1 Alat.....	17
3.5.2 Bahan .....	18
<b>3.6 Jumlah dan Kriteria Sampel .....</b>	<b>18</b>
3.6.1 Jumlah Sampel.....	18
3.6.2 Kriteria Sampel .....	18
<b>3.7 Konversi Dosis Asam .....</b>	<b>19</b>
<b>3.8 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>19</b>
3.8.1 Tahap Persiapan .....	19
3.8.2 Tahap Pengelompokan Sampel.....	19
3.8.3 Perlakuan Pada Sampel.....	20
3.8.4 Tahap Pengamatan .....	20
<b>3.9 Analisa Data .....</b>	<b>21</b>
<b>3.10 Alur Penelitian .....</b>	<b>23</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN ANALISA DATA .....</b>	<b>24</b>
<b>4.1 Hasil Penelitian .....</b>	<b>24</b>
<b>4.2 Analisa Data .....</b>	<b>26</b>
<b>BAB 5. PEMBAHASAN .....</b>	<b>27</b>
<b>BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>32</b>
<b>6.1 Kesimpulan.....</b>	<b>32</b>
<b>6.2 Saran .....</b>	<b>32</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>33</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>37</b>

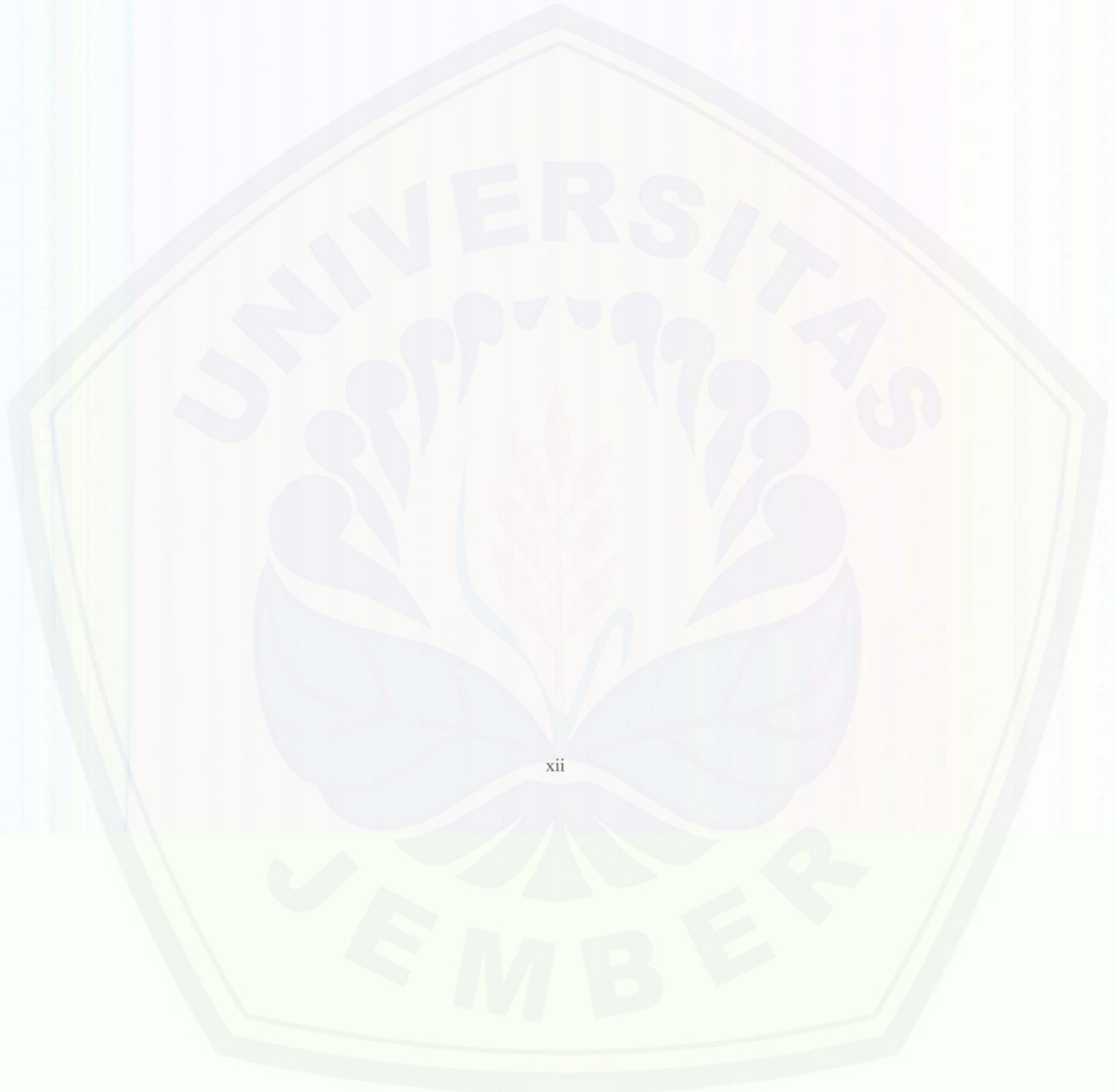
DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Penghitungan Jumlah PMN Neutrofil Darah Tepi pada Tikus Putih Galur Wistar Jantan .....	24
4.2 Rata-rata Hasil Penghitungan Jumlah PMN Neutrofil pada Tiap kelompok .....	25
4.3 Hasil <i>Independent t-Test</i> Jumlah PMN Neutrofil .....	26



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tanaman Asam ( <i>Tamarindus indica</i> Linn).....	5
4.2 Grafik Batang Penghitungan Rata-Rata Jumlah PMN Neutrofil pada Tiap Kelompok.....	25
5.3 Biosintesis Prostaglandin.....	29



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan Jumlah Sampel.....	37
Lampiran 2. Makanan Standar Tikus.....	38
Lampiran 3. Konversi Perhitungan Dosis Antar Jenis Hewan .....	39
Lampiran 4. Uji Normalitas.....	40
Lampiran 5. Uji Independent <i>t-Test</i> .....	42
Lampiran 6. Foto-Foto Penelitian.....	43



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Salah satu tindakan pembedahan di bidang kedokteran gigi adalah pencabutan gigi yang dapat menyebabkan rusaknya jaringan periodontal dan pembuluh darah sekitar gigi yang bersangkutan. Bila sel-sel atau jaringan-jaringan tubuh mengalami cedera atau mati, selama hospes tetap hidup, ada suatu respon yang menyolok pada jaringan hidup di sekitarnya. Respon terhadap cedera ini dinamakan peradangan (Price dan Wilson, 1998:223). Peradangan dapat dipandang sebagai suatu peristiwa kompleks yang berkembang bila tubuh terdapat injuri secara mekanik atau agen kimia atau oleh proses penghancuran diri (autoimun) seperti luka akibat jatuh, tergores atau teriris, pencabutan gigi dan sebagainya (Bellanti, 1993:223). Tanpa proses pertahanan seperti radang (inflamasi) dan pemulihan, manusia tidak dapat bertahan hidup dalam lingkungan yang kadang-kadang membahayakan jiwanya. Infeksi akan bertambah parah dan luka akan tetap terbuka tanpa penyembuhan (Robbins dan Kumar, 1992:28).

Penyembuhan adalah penggantian sel mati oleh sel hidup atau jaringan fibrosa dan terjadi melalui regenerasi (penggantian oleh proliferasi sel sejenis sama yang bertahan hidup) atau organisasi (penggantian oleh fibrosis). Penyembuhan luka pasca pembedahan ada dua cara, yaitu penyatuan primer tepi-tepi yang saling bersentuhan (jahitan) dan pemberian obat-obatan (Lawler, 1992:15-16).

Radang adalah respon *protektif* yang sangat diperlukan dimana tubuh berupaya untuk mengembalikan keadaan sebelum injuri atau untuk memperbaiki diri sendiri sesudah terkena injuri. Segera setelah dimulainya proses peradangan, dalam waktu 30-60 menit dari injuri, neutrofil akan muncul. Neutrofil merupakan garis pertahanan pertama melawan mikroorganisme yang masuk. Fungsi utama neutrofil adalah memfagosit dan menghancurkan secara potensial agen yang berbahaya (Bellanti, 1993:223-226). Neutrofil dalam sirkulasi dapat meningkat dengan segera dari 5000/ $\mu$ l sampai 30000/ $\mu$ l. Peningkatan tersebut disebabkan oleh migrasi neutrofil ke sirkulasi yang berasal dari sumsum tulang dan

persediaan marginal intravaskuler (Baratawidjaja, 1996:220). Namun demikian, perlu diketahui bahwa jika respon peradangan menyimpang dari kebiasaan, dapat terjadi akibat serius. Pelimpahan terlalu banyak cairan dari pembuluh darah ke daerah injuri seperti pada otak akan menyebabkan terjadinya kenaikan tekanan intrakranial yang serius. Demikian juga, datangnya sejumlah neutrofil yang berlebihan dan pelepasan isi enzimatiknya dapat mengakibatkan kerusakan struktur yang serius. Banyak penyakit yang dihadapi pada klinisi disebabkan karena respon peradangan yang tidak terkendali. Pengobatan dari kejadian-kejadian ini adalah terapi anti radang (Bellanti, 1993:226).

Terapi anti radang dapat menggunakan obat kimia dan obat alami. Obat alami ini dapat diperoleh dari tanaman-tanaman yang berkhasiat sebagai obat. Di Indonesia tidak kurang dari 1000 jenis tanaman obat yang telah dimanfaatkan, baik secara tradisional sebagai obat, jamu maupun sebagai bahan kosmetika. Namun, selama ini pembudidayaan tanaman obat belum banyak diungkap sehingga informasinya sangat terbatas (Sudarto, 1997:9). Salah satu tanaman yang telah lama dikenal oleh masyarakat sebagai tanaman obat yaitu daun asam. Selain mudah didapat dan harganya murah, kandungan flavonoid dalam daun asam (*Tamarindus indica* Linn) dapat dimanfaatkan untuk menghilangkan rasa sakit (analgesik), sebagai anti radang dan membantu pengeluaran keringat (diaforetik), memperlancar buang air besar dan sebagai obat luka maupun sariawan (Mursito, 2000:55-56).

Flavonoid sebagai anti radang dapat menghambat pelepasan asam arakidonat dengan jalan memblok jalur siklooksigenase, jalur lipoksigenase dan fosfolipase A<sub>2</sub> (Sabir, 2003:84). Asam arakidonat sendiri dibutuhkan untuk pembentukan prostaglandin dan leukotrin yang bertindak sebagai mediator pada hampir setiap tahap proses radang akut. Pada umumnya, radang akut ini ditandai dengan penimbunan polimorfonuklear (PMN) neutrofil dalam jumlah banyak (Robbins dan Kumar, 1992:33-42). Dengan demikian, adanya hambatan pada pembentukan prostaglandin dan leukotrin dapat menekan jumlah PMN neutrofil pada peradangan akut.

Oleh karena daun asam memiliki khasiat sebagai anti radang, maka dalam penelitian ini penyusun ingin mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun asam peroral terhadap penurunan jumlah PMN neutrofil darah tepi paska insisi *full thickness*.

### 1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut di atas dapat diambil rumusan masalah, yaitu : apakah terjadi penurunan jumlah PMN neutrofil darah tepi pada tikus putih galur Wistar jantan setelah diberi ekstrak daun asam secara peroral paska insisi *full thickness*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui penurunan jumlah PMN neutrofil darah tepi pada tikus putih galur Wistar jantan setelah diberi ekstrak daun asam peroral paska insisi *full thickness*.
2. Mengetahui efektifitas daun asam terhadap efek anti inflamasi dengan penurunan jumlah PMN neutrofil paska luka.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan :

1. Dapat memberikan pengetahuan tambahan bahwa ekstrak daun asam dapat digunakan sebagai obat anti radang alternatif yang murah dan mudah didapatkan.
2. Dapat memberikan informasi kepada masyarakat dan tenaga medis dalam menggunakan daun asam sebagai obat dalam kesehatan gigi dan mulut khususnya dan kesehatan tubuh pada umumnya.
3. Dapat digunakan sebagai dasar atau acuan penelitian lebih lanjut mengenai khasiat daun asam.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Asam (*Tamarindus indica* Linn)

*Tamarindus* berasal dari bahasa Arab "*Tamar Hindi*" yang berarti *Kurma India*. Marga *Tamarindus* termasuk famili Leguminocae yang hanya mempunyai satu spesies yaitu *Tamarind* yang dikenal sebagai "asam" atau *Tamarindus indica* (Rismunandar, 1996:70). Pada umumnya tanaman asam di Indonesia banyak dikenal dengan nama bak me, acamlagi, asam jawa, kayu asam, mencelaki (Sumatera); tangkal asem, wit asem, acem (Jawa); asam jawa (Kalimantan); asang jauri, camba, cempa (Sulawesi); celagi, bage, mengge, kamaru, make, tobi, knefo (Nusa tenggara); tobelaki, asam jawuka (Maluku) (Mursito, 2000:54-55).

#### 2.1.1 Morfologi

Pohon asam berukuran besar dengan ketinggian mencapai 30 m. Batang utamanya pendek (1-2 m) dengan diameter dapat mencapai 2 m, kulit batangnya kasar dan kayunya sangat keras (Ashari, 1995:438-439). Bagian-bagian dari pohon asam :

##### 1. Daun

Daunnya berseling, menyirip genap, warna sisi bawahnya yang sudah tua hijau biru. Daun yang masih muda berwarna hijau agak kuning dan di Jawa khusus diberi nama sinom (Rismunandar, 1996:70) (Gambar 2.1a).

##### 2. Bunga

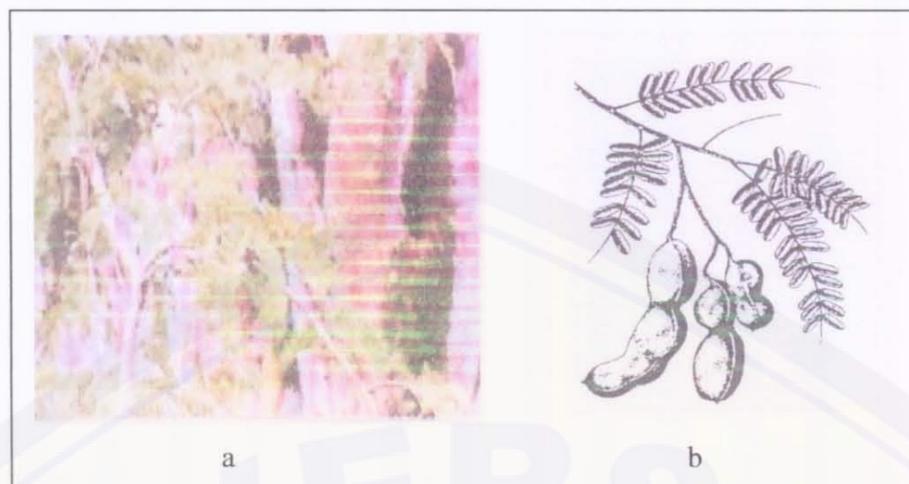
Bunganya bergerombol yang muncul pada ujung ranting, panjangnya hingga 13 cm. Bunganya berukuran panjang 3 cm (Ashari, 1995:439).

##### 3. Buah

Buah berbentuk polong, dagingnya berasa asam dan berwarna putih kehijauan pada saat masih muda dan berubah coklat, serta lebih lunak setelah masak. Hal itu diikuti oleh perubahan kulit buahnya yang menjadi keras dan mudah dilepas dari daging buahnya (Mursito, 2002:61) (Gambar 2.1b).

#### 4. Biji

Biji asam dibalut oleh lapisan daging, rasanya masam, namun ada pula yang manis. Bijinya beragam bentuknya, pipih, terang hingga coklat gelap (Ashari, 1995:439).



Sumber : Kapiten, 2003:2; Mursito, 2002:60.

Gambar 2.1 Tanaman Asam (*Tamarindus indica* Linn)

- a. Daun Asam
- b. Buah Asam

#### 2.1.2 Sifat dan Kandungan Kimia

Bahan kimia yang terdapat dalam tanaman asam :

1. Buah asam mengandung bermacam-macam asam seperti asam tartat 4%-8%, asam sitrat 2%-6%, asam malat 6% dan kalium bitartat 4%-8%, serta gula invert 25%-40% (Sutedjo, 1990:26). Buah asam sangat masam karena kandungan asamnya tidak menurun sewaktu buah matang. Namun ada yang manis, hal ini terjadi karena sintesis dan hidrolisis amilose yang menghasilkan gula (Ashari, 1995:438).
2. Daun asam banyak mengandung flavonoid (Mursito, 2002:61). Selain itu, daun asam juga mengandung sitexin, isovitexin, orientin, isoorientin, 1-malic acid. Daun asam rasanya masam (Wijayakusuma, 1997:27).

### 2.1.3 Manfaat

Dengan kandungan zat-zat tersebut diatas, buah asam sangat baik untuk obat pencahar lemah, dosis yang diperlukan sekitar 4g-30g dan sebagai bahan minuman yang menyegarkan dengan dicampur gula putih atau gula merah (Sutedjo, 1990:25). Kandungan buah asam juga dapat dimanfaatkan untuk memperlancar peredaran darah (Mursito, 2000:56).

Vitamin A dalam daun asam berperan penting pada penglihatan, perkembangan dan kesehatan kulit, rambut dan mukosa membran; dan sistem imun (Felix, 2004:1). Vitamin A juga berperan dalam membantu fungsi sel-sel darah putih untuk menghancurkan bakteri dan virus sehingga lebih efektif (Grant, 2000:3). Sedangkan vitamin C (asam askorbat) diperlukan untuk pertumbuhan dan perbaikan jaringan dalam tubuh, penyembuhan luka dan perbaikan serta pemeliharaan kartilago, tulang dan gigi (Kevin, 2004:1). Vitamin C berperan penting pada pembentukan kolagen sehingga apabila kekurangan vitamin C dapat mengakibatkan kecepatan penyembuhan luka dan kekuatan regangan luka akan terganggu (Robbins dan Kumar, 1992:62-63).

Penelitian secara *in vivo* maupun *in vitro* menunjukkan bahwa kandungan flavonoid dalam daun asam memiliki aktivitas biologis maupun farmakologis. Salah satu aktivitas flavonoid yang diketahui hingga saat ini adalah bersifat anti bakteri dan anti radang. Flavonoid bersifat anti bakteri karena mampu berinteraksi dengan *Deoxiribonucleat Acid* (DNA) bakteri. Hasil interaksi menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom. Selain itu, kandungan gugus hidroksil yang dimiliki oleh flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transpor nutrisi sehingga menimbulkan efek toksik terhadap bakteri (Sabir, 2003:84).

Flavonoid sebagai anti radang dapat menghambat pelepasan asam arakidonat dengan jalan memblok jalur siklooksigenase, jalur lipoksigenase dan fosfolipase A<sub>2</sub> (Sabir, 2003:84). Asam arakidonat sendiri dibutuhkan untuk pembentukan prostaglandin dan leukotrin yang bertindak sebagai mediator pada hampir setiap tahap proses radang akut (Robbins dan Kumar, 1992:42). Hambatan pada jalur siklooksigenase akan berpengaruh terhadap penurunan prostaglandin

sebagai mediator dan memicu timbulnya *cyclic Adenosine Monophosphate* (cAMP) intraseluler. Tingginya cAMP dapat mempengaruhi produksi sitokin interleukin 1 (IL-1) dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF). Dengan adanya hambatan pada jalur siklooksigenase yang berpengaruh terhadap penurunan prostaglandin dan sitokin proinflamasi akan berpengaruh terhadap penurunan aktivitas fagositosis. Hambatan pada jalur lipoksigenase akan berpengaruh pada produksi leukotrin yang berperan dalam menstimulasi agregasi dan kemotaksis PMN. Dengan turunnya produksi leukotrin karena hambatan pada jalur lipoksigenase, maka akan mempengaruhi penurunan aktivitas fagositosis (Arundina, 2003:404).

Walaupun diketahui bahwa toksisitas flavonoid sangat rendah, namun bila senyawa ini dikonsumsi secara berlebihan (dosis tinggi), dapat menyebabkan mutagen dan menghambat enzim-enzim tertentu yang penting untuk metabolisme hormon. Oleh karenanya, para peneliti merekomendasikan dosis maksimal untuk orang dewasa 1 g/hr (Sabir, 2003:84).

Selain itu, kandungan flavonoid dalam daun asam dapat dimanfaatkan untuk menghilangkan rasa sakit (analgesik), membantu pengeluaran keringat (diaforetik), memperlancar buang air besar (laksan) dan sebagai obat luka maupun sariawan (Mursito, 2000:55-56). Menurut Agus (1997:2), vitamin C dengan bioflavonoid adalah campuran vitamin C dengan flavonoid. Beberapa penelitian secara *in vitro* membuktikan bahwa flavonoid dan vitamin C bekerja secara sinergis.

Dalam kedokteran gigi, flavonoid dapat dimanfaatkan sebagai obat *parodontosis*, yaitu suatu penyakit dimana terjadi peradangan pada jaringan periodonsium disertai kerusakan jaringan ikat. Di bidang bedah mulut, flavonoid berperan dalam mempercepat proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi dengan cara meningkatkan atau mempercepat proliferasi sel fibroblas dan produksi serabut kolagen. Selain itu, aplikasi flavonoid dapat mengurangi rasa sakit yang timbul pasca ekstraksi gigi dengan cara menghambat jalur siklooksigenase dan fosfolipase A<sub>2</sub> sehingga sintesis prostaglandin akan berkurang (Sabir, 2003:85).

Menurut Achyad (2000:1), Ashari (1995:438) dan Rismunandar (1996:75-78), tanaman asam pada hakikatnya merupakan suatu jenis warga Leguminosae yang serba guna. Kegunaan tanaman asam, antara lain :

1. Batang pokok

Kayu asam cukup kuat untuk dijadikan bahan bangunan rumah, bahan pembuatan perahu dan membuat ukiran (pahatan), serta bahan baku yang sangat baik untuk dijadikan arang kayu.

2. Daun asam

Daun asam yang masih muda (sinom) merupakan obat mujarab untuk penyakit kulit (infeksi), bisul, obat demam, sakit mata serta obat luka.

3. Biji asam

Biji asam dapat digunakan sebagai obat disentri, reumatik dan luka. Selain itu, biji asam enak dimakan dan dapat dijadikan bahan baku untuk membuat jelly dan bahan baku perekat.

4. Daging buah asam

Daging buah asam dimanfaatkan sebagai bumbu makanan, makanan dalam bentuk sirup, jelly dan juice. Daging buah asam juga mempunyai efek *laxatif*, yaitu memudahkan buang air besar. Daging buah asam yang diseduh dengan air hangat dapat menghilangkan rasa mual untuk ibu-ibu hamil dan membasmi cacing pada anak-anak.

## 2.2 Penyembuhan Luka

Penyembuhan merupakan suatu rangkaian proses biologis yang sangat kompleks. Penyembuhan adalah suatu proses penggantian jaringan yang mati atau rusak dengan jaringan baru dan sehat dengan jalan regenerasi (Indrawati, 1996:6).

Tahap awal penyembuhan luka dimulai dengan peradangan. Peradangan adalah mekanisme penting yang diperlukan tubuh untuk mempertahankan diri dari bahaya seperti kerusakan jaringan, invasi mikroorganisme, antigen dan bahan asing yang mengganggu keseimbangan yang dapat memperbaiki gangguan struktur dan fungsi jaringan yang ditimbulkan bahaya tersebut (Baratawidjaja, 1996:216). Menurut Robbins dan Kumar (1992:28), radang adalah reaksi jaringan

hidup terhadap semua bentuk jejas. Dalam reaksi ini ikut berperan pembuluh darah, saraf, cairan dan sel-sel tubuh di tempat jejas. Dengan demikian, respon peradangan adalah pelindung yang sangat diperlukan dan merupakan reaksi perbaikan tubuh karena respon ini mencoba untuk mempertahankan homeostasis dibawah pengaruh lingkungan yang merugikan (Bellanti, 1993:223). Sedangkan berat dan lamanya proses peradangan berhubungan dengan luasnya luka dan beratnya infeksi yang terjadi (Santosa, 1996:390).

#### 2.2.1 Proses Radang

Segera setelah jejas akan terjadi dilatasi arteriol lokal yang didahului oleh vasokonstriksi singkat. Hal ini akan meningkatkan viskositas darah, sehingga sel darah menggumpal dan tahanan terhadap aliran darah satu atau lebih tinggi. Oleh karena itu, aliran darah yang keluar dari tempat jejas akan terhalang dan menambah statis dan bendungan. Dalam darah yang mengalir lambat, gumpalan sel darah merah terdapat dibagian sentral aliran dan sel darah putih terutama neutrofil terletak di tepi aliran (marginasi). Jadi, letak leukosit sedemikian rupa, sehingga mengadakan hubungan dengan permukaan endotel. Setelah itu, akan terjadi emigrasi yaitu proses perpindahan sel darah putih yang bergerak keluar dari pembuluh darah. Meskipun semua sel darah putih dapat bergerak, tetapi yang paling aktif ialah neutrofil dan monosit, dan paling lamban ialah limfosit. Setelah meninggalkan pembuluh darah, leukosit bergerak menuju ke arah utama lokasi jejas. Migrasi sel-sel darah putih yang terarah ini disebabkan oleh pengaruh-pengaruh kimia yang dapat berdifusi dan proses ini dinamakan kemotaksis (Robbins dan Kumar, 1992:30-33). Bila neutrofil, monosit, makrofag dan eosinofil kontak dengan sasaran inflamasi (bakteri, parasit, bahan asing dan sebagainya) akan terjadi fagositosis (Baratawidjaja, 1996:226).

Leukosit yang bersirkulasi dalam aliran darah dan emigrasi kedalam eksudat peradangan berasal dari sumsum tulang, dimana tidak saja leukosit tetapi juga sel darah merah dan trombosit dihasilkan secara terus menerus. Jumlah tiap jenis leukosit yang bersirkulasi dalam darah perifer diatur secara ketat dalam batas-batas tertentu, tetapi dapat berubah sesuai dengan kebutuhan jika timbul proses

peradangan. Artinya, dengan rangsangan respon peradangan, sinyal umpan balik kepada sumsum tulang mengubah laju produksi dan pengeluaran satu jenis leukosit atau lebih ke dalam aliran darah (Price dan Wilson, 1998:38). Namun demikian, jika respon peradangan menyimpang dari kebiasaan, dapat terjadi akibat serius. Pelimpahan terlalu banyak cairan dari pembuluh darah ke daerah injuri seperti pada otak akan menyebabkan terjadinya kenaikan tekanan intrakranial yang serius. Demikian juga datangnya sejumlah neutrofil yang berlebihan dan pelepasan isi enzimatiknya dapat mengakibatkan kerusakan struktur yang serius. Banyak penyakit yang dihadapi pada klinisi disebabkan karena respon peradangan yang tidak terkendali. Pengobatan dari kejadian-kejadian ini adalah terapi anti radang (Bellanti, 1993:226).

Manifestasi lokal radang akut dan kronik aktif dikenal sebagai tanda-tanda kardinal (utama) radang, yaitu rubor (warna merah), calor (panas), tumor (pembengkakan), dolor (rasa nyeri) dan functio laesa (hilangnya fungsi) (Lawler, 1992:10). Panas lokal dan warna merah disebabkan oleh meningkatnya aliran darah dalam sirkulasi di tempat jejas. Pembengkakan akibat eksudasi disertai peningkatan cairan interstitial. Rasa nyeri dikaitkan dengan tekanan pada ujung-ujung saraf sebagai akibat eksudasi. Hilangnya fungsi disebabkan oleh produk radang yang menimbulkan kerusakan pada jaringan (Robbins dan Kumar, 1992:52).

#### 2.2.2 Mekanisme Penyembuhan Luka

Tahap awal penyembuhan luka dimulai dengan proses peradangan yaitu suatu reaksi pertahanan tubuh terhadap setiap infeksi yang terjadi (Indrawati, 1996:6). Leukosit menginvasi luka dan mulai memakan debris sel dan bakteri. Mula-mula leukosit polimorfonuklear lebih banyak, tetapi sel-sel dengan masa hidup singkat ini digantikan oleh monosit yang akan menggantikan aktivitas fagositnya. Monosit juga diperlukan untuk membantu munculnya fibroblas (Sabiston, 1994:102). Reaksi selanjutnya adalah reaksi yang disebut respons hemostatik yang ditandai oleh terjadinya kontraksi pembuluh darah kecil, sehingga luka tertutup (Indrawati, 1996:6).

Pada hari ke-5 sampai ke-21 setelah terjadinya luka, terjadilah tahap proliferasi yang dimulai dengan proses epitelisasi, kontraksi luka dan akhirnya terbentuklah jaringan ikat padat. Proses epitelisasi merupakan kombinasi pergerakan sel dan pembentukan sel-sel baru yang membutuhkan waktu selama 2-7 hari sedangkan proses kontraksi adalah pengurangan secara mekanis ukuran daerah yang rusak. Kontraksi merupakan suatu kejadian dimana luka pada jaringan lunak yang terbuka akan tertutup tanpa terbentuknya jaringan parut (Santosa, 1996:390).

Proses yang terakhir adalah proses pembentukan jaringan ikat. Proses pembentukan jaringan ikat dimulai dengan terjadinya proliferasi fibroblas dan elemen jaringan ikat di sekitar luka. Fibroblas akan mensintesis kolagen dan memberikan kekuatan pada jaringan untuk melakukan perbaikan. Fibroblas membentuk dan mengabsorpsi kolagen pada bagian tepi luka yang terbuka, yang akan mengakibatkan terjadinya kontraksi dengan reaksi akhir berupa tertutupnya luka dan kolagen berdeferensiasi menjadi kolagen yang matang. Pembentukan serat kolagen yang matang akan tampak pada hari ke-21 setelah perawatan (Indrawati, 1996:6-7).

Kolagen merupakan protein fibrosa yang terdiri atas 18 asam amino. Komposisi asam aminonya berbeda-beda sepertiganya adalah glisin, prolin, lisin, hidroksiprolin dan hidroksilisin (Indrawati, 1996:5). Salah satu tahap penting dalam proses pembentukan kolagen adalah hidoksilasi prolin menjadi hidroksiprolin. Dikatakan lebih lanjut bahwa bila terjadi kekurangan vitamin C maka terjadi pula kegagalan sintesis prolin menjadi hidroksiprolin sehingga serabut kolagen yang terbentuk tidak sempurna (Subiyantoro, 2001:228).

Menurut Lawler (1992:16), penyembuhan luka atas dasar pembentukan jaringan granulasi dibagi menjadi dua yaitu penyembuhan primer (penyembuhan tahap pertama) terjadi bila tepi-tepinya saling bersentuhan dan penyembuhan sekunder (penyembuhan tahap kedua) terjadi pada kehilangan setempat secara luas.

Menurut Robbins dan Kumar (1992:57), penyembuhan sekunder berbeda dari penyembuhan primer dalam beberapa hal. Pada umumnya kerusakan jaringan

luas dan mengandung lebih banyak sel nekrosis serta eksudat yang harus dibersihkan. Pertumbuhan jaringan granulasi memegang peran yang lebih besar pada penyembuhan sekunder. Selain itu, jaringan granulasi ini hampir selalu diliputi oleh neutrofil dan makrofag yang lebih padat, karena lesi yang lebih luas menimbulkan reaksi radang yang lebih kuat. Pada dasarnya kontraksi luka hanya akan timbul, bila didapat lesi luas karena pada luka dengan penyembuhan primer tidak terdapat cukup jaringan yang hilang. Sebagai akibat ini, penyembuhan sekunder hampir selalu mengakibatkan pembentukan jaringan parut dan hilangnya fungsi lebih banyak. Jelaslah bahwa penyembuhan primer berlangsung secara cepat untuk mendapatkan kesembuhan dibandingkan penyembuhan sekunder yang jelas lebih rumit keadaannya.

### **2.3 Leukosit Polimorfonuklear (PMN) Neutrofil**

Pada keadaan normal terdapat 4.000-11.000 sel darah putih per mikroliter darah manusia. Dari jumlah tersebut, jenis terbanyak adalah granulosit (leukosit polimorfonuklear, PMN) (Ganong, 1999:502). PMN adalah sel darah putih yang paling umum. Terbentuk pada sumsum tulang dan merupakan sel darah yang paling penting untuk melindungi tubuh terhadap serangan bakteri akut (Manson dan Elley, 1993:37).

Dalam darah manusia, neutrofil berjumlah paling banyak dan merupakan 65% sampai 75% dari jumlah seluruh leukosit (Leeson, 1996:163). Neutrofil mempunyai ukuran besar dari limfosit kecil, berbentuk bulat dengan sitoplasma yang banyak agak kemerahan. Inti berwarna ungu, berbentuk batang atau segmen (Wirawan dkk., 1996:34). Neutrofil muda (berbentuk batang) memiliki inti tanpa segmen dalam bentuk tapal kuda. Neutrofil dengan lebih dari lima lobus disebut hipersegmen dan secara khas merupakan sel tua (Carlos, 1998:231-234). Secara mikroskopis, dikatakan berbentuk batang bila lekukan inti melebihi setengah diameter inti dan berbentuk segmen bila inti terbagi menjadi beberapa bagian yang saling dihubungkan dengan benang kromatin (Wirawan dkk., 1996:34). Sitoplasma mengandung granula netrofilik dan granula azurofilik. Granula neutrofil ini pada mikrograf elektron tampak relatif padat dan mengandung enzim

lisosom dan peroksidase. Enzim ini dilepaskan setelah neutrofil menelan benda seperti karbon, bakteri dan mikroorganisme lain (Leeson, 1996:164).

### 2.3.1 Karakteristik PMN Neutrofil

Menurut Roeslan (2002:2-3), mekanisme alamiah dapat dikelompokkan menjadi garis pertahanan pertama yang meliputi barrier anatomik, fisiologik dan biokimiawi (kulit tubuh yang utuh, sekresi kelenjar sebacea di dalam kulit, aliran air mata, air liur, umur, suhu tubuh, keseimbangan hormonal, dan lain-lain), serta garis pertahanan kedua yang lebih didominasi oleh elemen seluler meliputi sel fagosit termasuk PMN neutrofil, monosit dan makrofag. Garis pertahanan kedua ini mempunyai karakteristik sebagai berikut :

1. Pergerakan amuboid, dapat keluar masuk pembuluh darah dan melewati jaringan.
2. Respons kemotaktik, bergerak kearah objek karena atraksi oleh bahan kimia tertentu, seperti komponen jaringan atau komplemen.
3. Diapedesis, mampu bergerak dari kapiler.
4. Fagositosis, sewaktu dekat dengan sel target, sel fagosit akan menelan dan menghancurkannya.
5. Sitopepsis, membunuh melalui agen yang terdapat dalam lisosom.

Walaupun peranannya adalah untuk pertahanan primer, PMN juga dapat memproduksi enzim proteolitik yang dapat merusak jaringan sekitarnya (Manson dan Elley, 1993:37). Enzim proteolitik ini mampu menghidrolisis kolagen, jaringan elastik dan kartilago. Dengan demikian, neutrofil mampu menghancurkan membran basalis dan struktur-struktur penyokong yang lain. Paling sedikit beberapa dari enzim ini dilepaskan dan dilibatkan dalam kerusakan dinding pembuluh darah, hemoragi dan nekrosis dari lesi yang dirangsang oleh kelompok imun (Bellanti, 1993:251).

### 2.3.2 Respon terhadap Radang

Penimbunan sel-sel darah putih, terutama neutrofil dan monosit pada lokasi jejas, merupakan aspek terpenting reaksi radang (Robbins dan Kumar, 1992:32).

Dalam jam pertama atau jam-jam berikutnya setelah mulai terjadi peradangan, di dalam darah terjadi kenaikan jumlah neutrofil sampai empat hingga lima kali lipat dari jumlah normal 4.000 hingga 5.000 menjadi 15.000 sampai 25.000 neutrofil permikroliter. Hal ini disebabkan oleh produk yang berasal dari jaringan yang meradang yang memicu reaksi berikut :

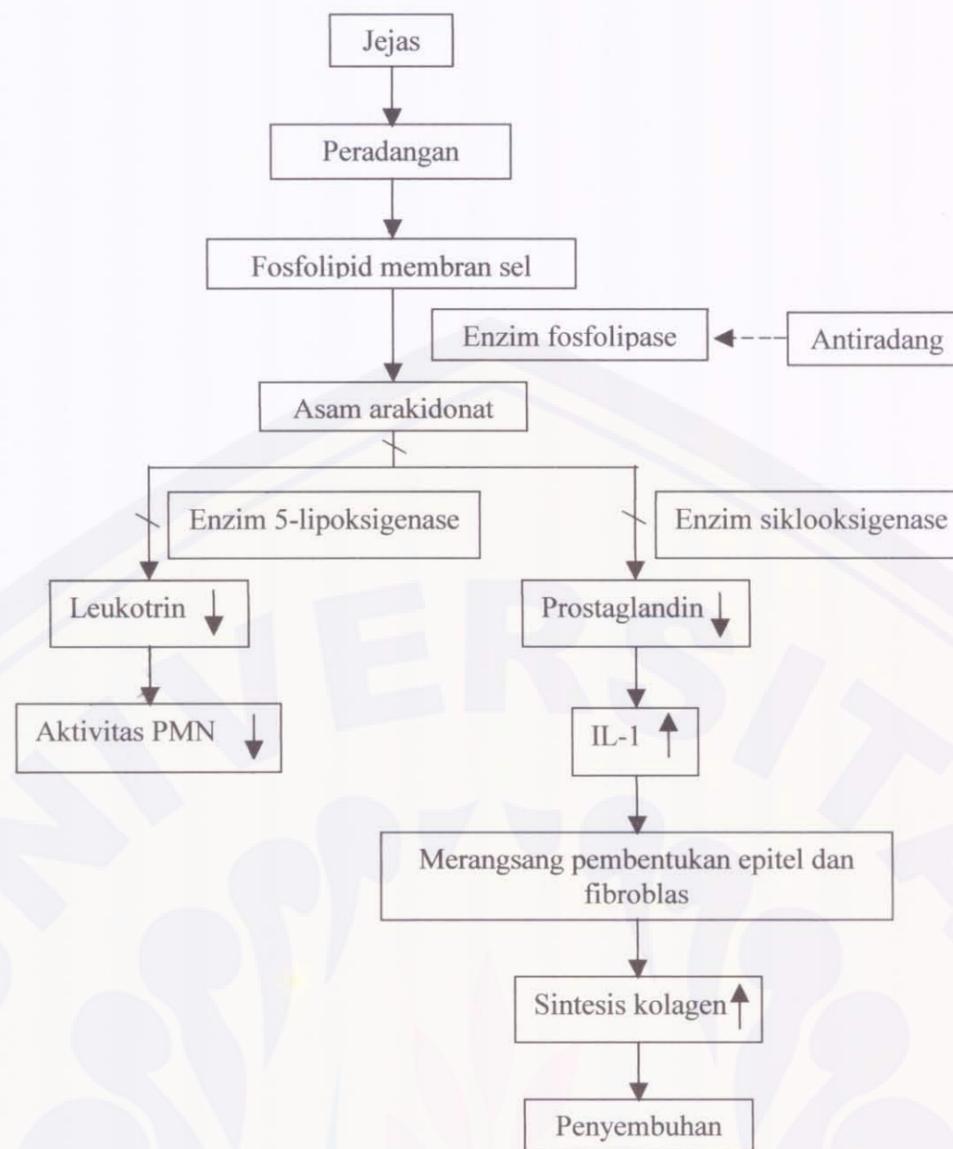
1. Produk tersebut mengubah permukaan bagian dalam endotel kapiler sehingga menyebabkan neutrofil melekat pada dinding kapiler yang meradang. Proses ini dinamakan *marginasi*.
2. Produk ini menyebabkan sel-sel endotel pada kapiler dan vena-vena kecil untuk memisah dan terbuka sehingga menyebabkan neutrofil melewatinya dengan cara *diapedesis* menuju ke dalam ruang jaringan.
3. Produk lain dari peradangan dapat menyebabkan *kemotaksis* neutrofil menuju jaringan yang terluka.

Jadi, dalam beberapa jam setelah dimulainya kerusakan jaringan, area tersebut akan diisi oleh neutrofil. Karena neutrofil darah telah menjadi sel matur, maka sel-sel tersebut sudah siap untuk melakukan fungsinya guna membunuh bakteri dan menyingkirkan bahan-bahan asing (Guyton, 1997:549-550). Neutrofil tampak pertama, sebagian besar disebabkan oleh mobilitasnya yang tinggi dan juga karena neutrofil terdapat dalam jumlah banyak dalam sirkulasi darah. Selain itu, faktor yang mempengaruhi ialah neutrofil telah aktif pada awal reaksi radang. Oleh karena masa paruh yang singkat, neutrofil tidak melampaui umur lebih dari 24-48 jam di luar pembuluh darah (Robbins dan Kumar, 1992:33). Pada keadaan infeksi jaringan yang berat, masa hidup keseluruhan seringkali berkurang sampai hanya beberapa jam, karena granulosit dengan cepat menuju daerah infeksi, melakukan fungsinya dan masuk dalam proses dimana sel-sel itu sendiri dimusnahkan (Guyton, 1997:545).

#### **2.4 Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun asam peroral dapat menurunkan jumlah PMN neutrofil darah tepi tikus putih galur Wistar jantan paska insisi *full thickness*.

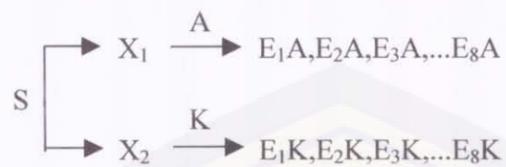
## 2.5 Kerangka Penelitian



### BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post only control group design* (Notoatmodjo, 2002:25). Secara skematis rancangan penelitian digambarkan sebagai berikut :



- Keterangan :
- S = Sampel penelitian.
  - X<sub>1</sub> = Kelompok perlakuan dengan ekstrak daun asam.
  - X<sub>2</sub> = Kelompok kontrol.
  - A = Perlakuan dengan ekstrak daun asam.
  - K = Tanpa perlakuan (kontrol).
  - E<sub>1-8A</sub> = Data kelompok perlakuan ekstrak daun asam.
  - E<sub>1-8K</sub> = Data kelompok kontrol.

#### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-April 2005 di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Kesehatan Daerah Kabupaten Jember.

#### 3.3 Variabel Penelitian

##### 3.3.1 Variabel Bebas

Ekstrak daun asam (*Tamarindus indica* Linn).

##### 3.3.2 Variabel Terikat

Jumlah PMN neutrofil darah tepi pada hari pertama paska insisi *full thickness* dengan skala rasional.

### 3.3.3 Variabel Terkendali

1. Makan dan minum hewan coba.
2. Jenis kelamin hewan coba.
3. Berat badan hewan coba.
4. Usia hewan coba.
5. Prosedur penelitian.
6. Jenis daun asam.
7. Dosis daun asam.
8. Konsentrasi daun asam.
9. Cara dan besar insisi flap.
10. Teknik pewarnaan (staining).

### 3.4 Definisi Operasional

1. Daun asam yaitu daun berseling, menyirip genap, warna sisi bawahnya yang sudah tua hijau biru. Daun yang masih muda berwarna hijau agak kuning dan khusus di Jawa diberi nama sinom. Ekstrak daun asam diberikan secara peroral (Rismunandar, 1996:71).
2. PMN neutrofil yaitu leukosit granular yang memiliki nukleus dengan tiga hingga lima lobus yang dihubungkan oleh benang kromatin dan sitoplasma yang mengandung granula yang sangat halus (Dorland, 1998:775).

### 3.5 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini :

1. Kandang hewan coba.
2. Timbangan untuk hewan coba.
3. Sarung tangan.
4. Sonde lambung.
5. Gunting bedah.
6. Scalpel.
7. Pisau dapur.

8. Pinset.
9. Syringe.
10. Blender.
11. Kain tipis.
12. Saringan.
13. Kaca objek.
14. Rak kaca objek.
15. Mikroskop binokuler (merk *Leica*).

### 3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu :

1. Ekstrak daun asam 100%.
2. Makanan tikus.
4. Eter dan aquadest.
5. Minyak emersi.
6. Cat giemsa.
7. Metanol.
8. Air.

### 3.6 Jumlah dan Kriteria Sampel

#### 3.6.1 Jumlah Sampel

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 16 tikus putih galur Wistar jantan yang dibagi menjadi dua kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari delapan ekor (Nurrohman dkk, 2002:99; Stell dan Torrie, 1995:113).

#### 3.6.2 Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar dengan kriteria sebagai berikut :

1. Jenis kelamin jantan.
2. Berat badan 100-200 gram.
3. Usia 2-3 bulan.

4. Dalam keadaan sehat.

### 3.7 Konversi Dosis Asam

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

Dosis ekstrak daun asam manusia per hari = 100-300 ml

$\bar{X}$  = 200 ml

Dosis ekstrak daun asam = 0,018 x 200 ml

= 3,6 ml/200 gBB

(Davis, 1994 dalam Syaekoh, 2001: 3)

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Tahap Persiapan

1. Tikus putih galur Wistar jantan diadaptasikan dengan lingkungan selama  $\pm$  satu minggu dan diberi makanan serta minuman.
2. Mempersiapkan ekstrak daun asam konsentrasi 100% yang didapatkan dari 100g daun asam dengan 1000ml air kemudian diblender lalu disaring menggunakan kain tipis dan saringan (Ritscel, 1974:17).

#### 3.8.2 Tahap Pengelompokan Sampel

Jumlah sampel sebanyak 16 ekor yang terbagi atas dua kelompok. Pada kedua kelompok dibawah bius umum dilakukan insisi *full thickness* pada lipatan labial anterior bawah dengan lebar  $\pm$  0,5 cm dan kedalamannya mencapai mukoperiosteal dengan menggunakan scalpel. Masing-masing kelompok terdiri dari delapan ekor dengan perlakuan sebagai berikut :

1. Kelompok perlakuan dengan ekstrak daun asam

Setelah dilakukan insisi *full thickness*, diberi ekstrak daun asam sebanyak 3,6 ml/200 gBB peroral. Selanjutnya dilakukan pengambilan sampel darah tepi dan perhitungan jumlah PMN neutrofil pada hari pertama.

2. Kelompok kontrol

Setelah dilakukan insisi *full thickness*, dilakukan pengambilan sampel darah tepi dan perhitungan jumlah PMN neutrofil pada hari pertama.

### 3.8.3 Perlakuan Pada Sampel

1. Enam belas ekor tikus putih galur Wistar jantan yang telah diadaptasikan dan dinyatakan dalam keadaan sehat dilakukan penimbangan berat badan.
2. Dengan pengaruh eter, semua tikus dilakukan insisi *full thickness* pada lipatan labial anterior bawah dengan lebar  $\pm 0,5$  cm dan kedalamannya mencapai mukoperiosteal dengan menggunakan scalpel yang diberi tanda sebelumnya.
3. Dilakukan pemberian ekstrak daun asam peroral sebanyak 3,6 ml/200 gBB pada kelompok perlakuan dengan menggunakan sonde lambung.
4. Selama masa pengamatan, tikus diberi makanan dan minuman dengan jenis dan jumlah makanan yang sama.

### 3.8.4 Tahap Pengamatan

#### a. Pengambilan Sampel Darah

Sampel darah diambil pada hari pertama paska insisi *full thickness*. Hal ini disebabkan masa paruh neutrofil yang singkat, yaitu tidak melampaui umur lebih dari 24-48 jam di luar pembuluh darah (Robbins dan Kumar, 1992:33). Pengambilan sampel darah tepi dilakukan dengan menginsisi ekor tikus dengan scalpel. Sebelumnya ekor tikus diberi alkohol agar tidak terdapat kotoran yang menempel di ekor kemudian dibuat sediaan hapusan darah menggunakan kaca objek.

#### b. Pembuatan Sediaan Hapusan Darah

- 1) Setetes darah kapiler atau darah vena dengan antikoagulan diletakkan 1 cm dari salah satu ujung dari kaca objek.
- 2) Kaca penghapus dipegang sedemikian rupa sehingga membentuk sudut  $30^\circ$  dengan kaca objek dan tetesan darah tadi terletak di dalam sudut tersebut.
- 3) Kaca penghapus digeserkan ke arah tetesan darah sehingga menyentuhnya dan darah tadi akan dibiarkan merata antara ujung kaca penghapus dan kaca objek.
- 4) Dengan cepat kaca penghapus digeserkan ke arah yang bertentangan dengan arah pertama. Dengan demikian darah tadi akan merata diatas kaca objek sebagai lapisan yang tipis.

- 5) Hapusan tersebut segera dikeringkan dengan menggerak-gerakannya di udara atau dapat dipakai kipas angin dan diberi tanda sesuai dengan perlakuan (Wirawan dkk., 1996:29-30).

c. Pewarnaan Giemsa (Prinsip Romanowsky)

- 1) Hapusan yang sudah kering difiksasi dengan meneteskan wright's stain pada hapusan darah sehingga tertutup seluruhnya. Waktu fiksasi yaitu  $\pm$  dua menit.
- 2) Pengecatan dilanjutkan dengan meneteskan larutan buffer yang sama banyaknya dengan wright's stain tadi. Buffer dan wright's stain segera dicampur dengan cara ditiup beberapa kali. Tunggu  $\pm$  20 menit sehingga sel-sel tercat dengan baik.
- 3) Hapusan dicuci dengan aquades atau air biasa. Caranya aquades dituangkan pada hapusan yang berada di atas rak sehingga semua cat terhanyut.
- 4) Hapusan diletakkan pada sisinya dan ditunggu sampai kering. Jangan mengeringkan hapusan dengan kertas saring, kapas dan sebagainya (Wirawan dkk., 1996:30-31).

d. Cara Memeriksa

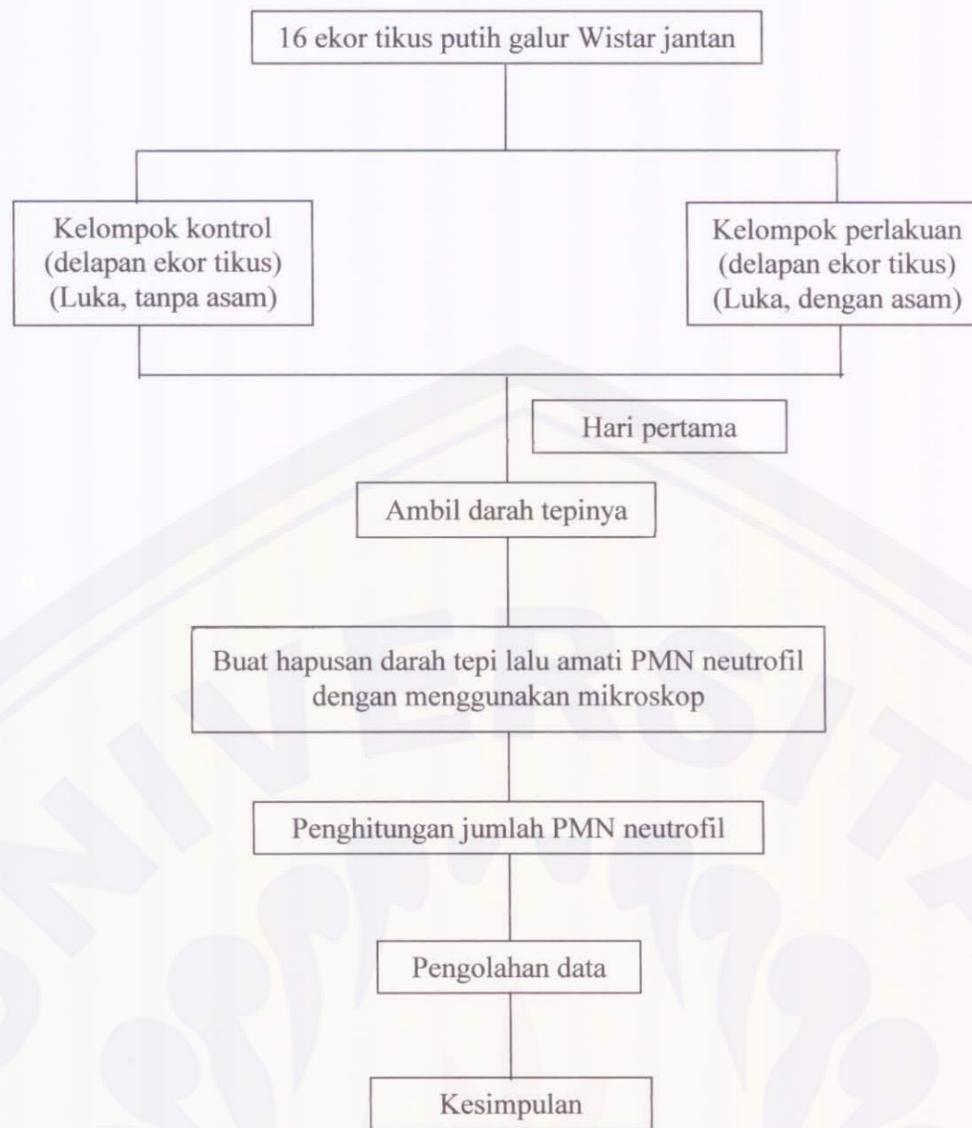
Letakkan satu tetes minyak emersi pada sediaan hapusan yang akan diperiksa. Dengan menggunakan mikroskop binokuler dengan pembesaran 1000 kali kemudian dilakukan penghitungan jumlah PMN neutrofil tiap 100 leukosit. Urutan penghitungan leukosit yang telah dibakukan adalah basofil, eosinofil, stab/batang (neutrofil) dan segmen (neutrofil), limfosit dan monosit (Wirawan dkk., 1996:32-33).

### 3.9 Analisa Data

Berdasarkan perhitungan jumlah PMN neutrofil dari dua kelompok sampel diatas diperoleh data dengan skala rasional, kemudian data dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Data tersebut juga dilakukan uji *homogenitas of variances* untuk mengetahui apakah data tersebut homogen

atau tidak, kemudian data dianalisis secara statistik parametrik dengan uji *t-test* dengan tingkat kepercayaan 95% ( $P < 0,05$ ) untuk dapat menyimpulkan apakah perbedaan yang diperoleh bermakna atau tidak (Sugiyono dan Wibowo, 2002:68).



**3.10 Alur Penelitian**

## BAB 4. HASIL DAN ANALISA DATA

## 4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan selama satu bulan yaitu pada bulan Maret-April 2005. Sampel yang digunakan adalah tikus putih galur Wistar jantan sebanyak 16 ekor dengan berat badan 100-200 gram dan umur 2-3 bulan. Sampel dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu kontrol dan perlakuan dimana masing-masing kelompok terdiri atas delapan ekor. Dari hasil penelitian diperoleh data yang ditunjukkan dalam Tabel (4.1) berikut ini :

**Tabel 4.1 Penghitungan Jumlah PMN Neutrofil Darah Tepi pada Tikus Putih Galur Wistar Jantan**

Kelompok	Stab	Segmen	Total
Kontrol			
1	2	33	35
2	3	35	38
3	2	37	39
4	3	39	42
5	2	39	41
6	3	37	40
7	2	40	42
8	3	38	41
Perlakuan			
1	1	29	30
2	2	27	29
3	2	30	32
4	2	31	33
5	3	28	31
6	3	29	32
7	3	27	30
8	2	32	34

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel (4.1) dapat dilihat perbedaan jumlah PMN neutrofil darah tepi setiap sampel pada masing-masing kelompok. Perbedaan jumlah PMN neutrofil ini pada tiap-tiap tikus tidak terlalu jauh, yaitu pada kelompok kontrol berkisar antara 35-42 sedangkan pada kelompok perlakuan berkisar antara 29-34.

Data hasil penghitungan berdasarkan rata-rata jumlah PMN neutrofil darah tepi pada hari pertama pada masing-masing kelompok terdapat pada Tabel (4.2).

**Tabel 4.2 Rata-rata Hasil Penghitungan Jumlah PMN Neutrofil pada Tiap Kelompok**

Kelompok	n	$\bar{X}$	SD
Kontrol	8	39,75	2,38
Perlakuan	8	31,38	1,69

Sumber : data penelitian yang terolah

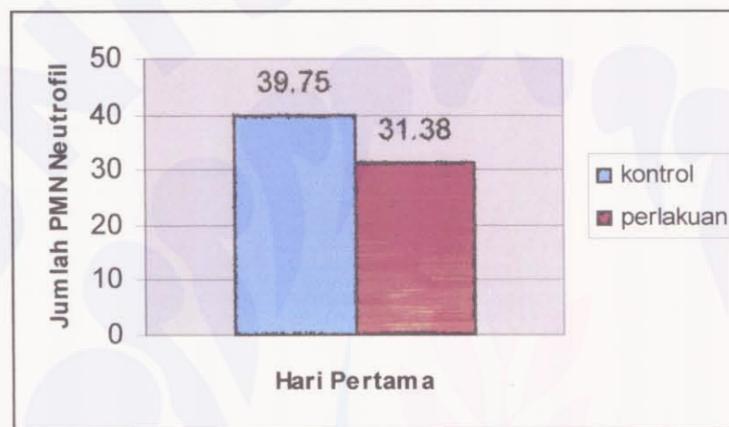
Keterangan :

$n$  = Jumlah sampel

$\bar{X}$  = Rata-rata

SD = Standart deviasi

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel (4.2) dapat dilihat rata-rata jumlah PMN neutrofil untuk kelompok kontrol sebesar 39,75 dan kelompok perlakuan sebesar 31,38. Grafik batang untuk rata-rata jumlah PMN neutrofil pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar (4.2).



Gambar 4.2 Grafik Batang Penghitungan Rata-rata Jumlah PMN Neutrofil pada Tiap Kelompok

Gambar (4.2) menunjukkan bahwa jumlah PMN neutrofil kelompok kontrol lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Hal ini berarti bahwa pada kelompok perlakuan terjadi penurunan jumlah PMN neutrofil pada hari pertama paska insisi *full thickness*.

#### 4.2 Analisa Data

Data hasil penghitungan jumlah PMN neutrofil pada tiap kelompok sebelumnya dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *Uji Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi secara normal atau tidak. Data tersebut juga dilakukan uji homogenitas agar data tersebut homogen.

Berdasarkan uji *Kolmogorov-Smirnov* didapatkan nilai probabilitas 0,904 ( $p > 0,05$ ) untuk kelompok kontrol dan nilai probabilitas untuk kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak daun asam 0,978 ( $p > 0,05$ ) yang artinya data tersebut berdistribusi normal.

Berdasarkan uji tes *homogenitas of variances* data jumlah PMN neutrofil pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan didapatkan  $p = 0,453$  ( $p > 0,05$ ) yang artinya data tersebut berasal dari populasi yang homogen. Selanjutnya dilakukan uji t-Test untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Hasil perhitungan yang dianalisis dengan menggunakan Independent t-Test dengan taraf kepercayaan 95%, dapat diketahui nilai rata-rata jumlah PMN neutrofil pada kelompok kontrol (39,75) dan kelompok perlakuan (31,38). Hasil uji Independent t-Test disajikan pada Tabel (4.3) di bawah ini.

**Tabel 4.3 Hasil Uji Independent t-Test Jumlah PMN Neutrofil**

Pengukuran	t-hitung	t-tabel	Probabilitas	Keterangan
Rata-rata jumlah PMN neutrofil	8,133	1,761	0,000	Signifikan

Sumber : data penelitian yang terolah

Pada Tabel (4.3) didapatkan probabilitas = 0,000 ( $p < 0,05$ ) dengan derajat kemaknaan 95% yang artinya terdapat perbedaan bermakna rata-rata jumlah PMN neutrofil kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak daun asam.

## BAB 5. PEMBAHASAN

Salah satu tindakan pembedahan di bidang kedokteran gigi adalah pencabutan gigi yang dapat menyebabkan rusaknya jaringan periodontal dan pembuluh darah sekitar gigi yang bersangkutan (Price dan Wilson, 1998:223). Secara alamiah, tubuh akan memberikan reaksi berupa peradangan (Bahar, 2001:543). Peradangan (inflamasi) adalah reaksi jaringan hidup terhadap semua bentuk kerusakan karena infeksi, iritasi atau substansi asing (Indahyani, 2001:225). Peradangan yang pertama kali terjadi merupakan radang akut, apabila keadaan tubuh baik maka radang akut ini akan segera berubah menjadi radang kronis yang kemudian diikuti oleh proses perbaikan. Semakin cepat proses peradangan ini hilang, semakin cepat pula penyembuhan terjadi (Bahar, 2001:543).

Dalam jam pertama atau jam-jam berikutnya setelah mulai terjadi peradangan, didalam darah terjadi kenaikan jumlah neutrofil sampai 4-5 kali lipat dari jumlah normal (Guyton, 1997:550). Neutrofil tampak pertama, sebagian besar disebabkan oleh mobilitasnya yang tinggi dan juga karena neutrofil terdapat dalam jumlah banyak dalam sirkulasi darah. Selain itu, faktor yang mempengaruhi ialah neutrofil telah aktif pada awal reaksi radang (Robbins dan Kumar, 1992:33).

Pengamatan terhadap perbedaan jumlah PMN neutrofil setiap sampel pada masing-masing kelompok dilakukan pada hari pertama. Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel (4.1) dapat dilihat jumlah PMN neutrofil setiap sampel pada masing-masing kelompok bervariasi, yaitu pada kelompok kontrol berkisar antara 35-42 sedangkan pada kelompok perlakuan berkisar antara 29-34. Hal ini disebabkan karena produksi sumsum tulang dan daya tahan hidup neutrofil pada tiap-tiap individu tidak sama (Waterbury, 2001:186).

Dalam beberapa jam setelah jaringan mulai dirusak, tempat tersebut akan diisi penuh oleh neutrofil. Karena neutrofil telah menjadi sel matur maka sel-sel tersebut sudah siap berfungsi untuk memakan dan membuang bahan-bahan asing dari jaringan meradang (Guyton, 1995:73). Faktor-faktor penting yang mempengaruhi kemotaksis neutrofil, yaitu : (1)  $C_{5a}$  komponen sistem komplemen,

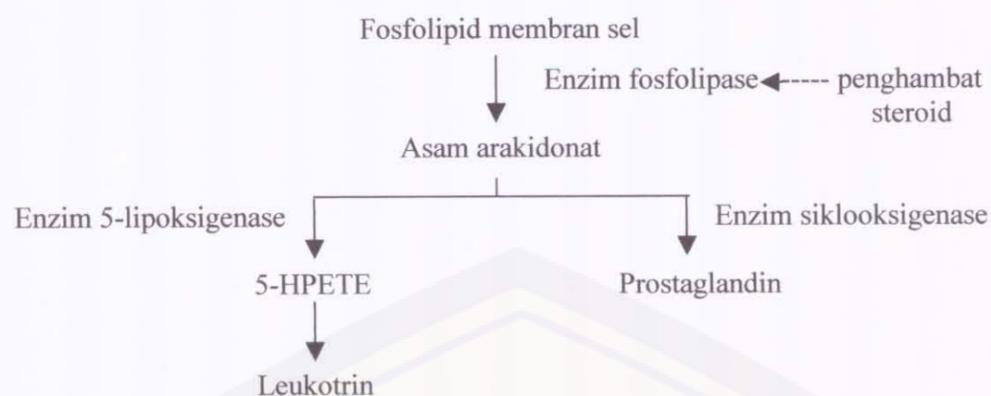
(2) leukotrin B<sub>4</sub>, hasil metabolisme asam arakidonat dan (3) produk-produk kuman (Robbins dan Kumar, 1992:33).

Berdasarkan pengamatan pada Tabel (4.2) dapat dilihat rata-rata jumlah PMN neutrofil pada kelompok kontrol  $39,75 \pm 2,38$  dan kelompok perlakuan  $31,38 \pm 1,69$ . Selain itu, pada Tabel (4.2) juga menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol dimana tidak dilakukan pemberian ekstrak daun asam, jumlah PMN neutrofil lebih banyak dibandingkan kelompok perlakuan. Hal ini dikarenakan pada kelompok perlakuan diberi ekstrak daun asam yang memiliki kandungan yang berkhasiat, yaitu: vitamin A yang berperan dalam membantu fungsi sel-sel darah putih untuk menghancurkan bakteri dan virus sehingga lebih efektif (Grant, 2000:3), vitamin C yang dapat mengurangi infiltrasi leukosit terutama neutrofil (Null, 1994:7), dan flavonoid yang berfungsi sebagai anti radang (Mursito, 2000:55). Beberapa penelitian secara *in vitro* membuktikan bahwa flavonoid dan vitamin C bekerja secara sinergis (Agus, 1997:2). Pada peradangan akut, golongan sel darah putih yang banyak terlibat adalah PMN neutrofil sehingga dengan adanya anti radang maka dapat menekan jumlah PMN neutrofil.

Menurut Sabir (2003:84), mekanisme flavonoid dalam menghambat terjadinya radang melalui dua cara, yaitu : (1) menghambat pelepasan asam arakidonat sekresi enzim lisosom dari sel neutrofil dan endothelial dan (2) menghambat fase proliferasi fase eksudasi dari proses inflamasi. Menurut Katzung (1989:476), sifat anti radang disebabkan oleh kemampuannya menghambat sintesa prostaglandin. Ini dilakukan dengan menghambat secara irreversibel enzim siklooksigenase (prostaglandin sintase) yang mengkatalisis reaksi asam arakidonat menjadi senyawa endoperoksidase.

Produk-produk yang berasal dari metabolisme asam arakidonat mempengaruhi berbagai macam proses biologi seperti inflamasi dan hemostasis. Asam arakidonat (AA) adalah suatu asam lemah poli-tidak jenuh yang terdapat dalam jumlah banyak sebagai fosfolipid selaput sel. Agar dapat dipergunakan oleh sel untuk membentuk mediator, AA harus dibebaskan dari fosfolipid selaput oleh

aktivasi fosfolipase sel. Selama radang, lisosom neutrofil diyakini merupakan sumber fosfolipase yang penting (Robbins dan Kumar, 1992:40).



Sumber : Robbins dan Kumar, 1992:41  
Gambar 5.3 Biosintesis Prostaglandin

Pada jalur siklooksigenase, enzim siklooksigenase akan mensintesis asam arakidonat menjadi endoperoksidase, yaitu prostaglandin. Pada jalur lipoksigenase, enzim 5-lipoksigenase yang merupakan enzim utama neutrofil akan mensintesis asam arakidonat menjadi golongan senyawa yang disebut leukotrin (Gambar 5.3). Leukotrin sendiri merupakan agen kemotaksis kuat dan menyebabkan agregasi neutrofil (Robbins dan Kumar, 1992:40-41). Sistem siklooksigenase ini terdapat di dalam mikrosom sedangkan sistem lipoksigenase hanya ditemukan dalam paru, trombosit dan leukosit (Indahyani, 2001:226).

Berdasarkan uraian diatas, mediator inflamasi yang penting adalah prostaglandin dan leukotrin. Beberapa laporan menyebutkan bahwa kadar prostaglandin lebih tinggi pada daerah inflamasi dibanding pada daerah sehat (Saraswati dan Joelijanto, 2003:432). Prostaglandin merupakan derivat asam lemak 20 atom karbon dan mempunyai cincin siklopentan. Senyawa ini banyak tersebar dalam organ tubuh. Pembentukan dan pelepasannya karena adanya aktivitas enzim fosfolipase A2 (Indahyani, 2001:226). Salah satu sumber fosfolipase yang diperlukan untuk sintesis asam arakidonat berasal dari neutrofil (Robbins dan Kumar, 1992:43). Prostaglandin disintesis dari asam lemak esensial

yaitu linoleat dan  $\alpha$ -linoleat atau langsung dari arakidonat dan eikosapentanoat. Secara fisiologis, prostaglandin memproduksi limfokin, melepaskan sel sitotoksik dan migrasi leukosit. Prostaglandin juga menekan pelepasan IL-1 dan TNF. Sedangkan leukotrin merupakan mediator pada aktivitas leukosit. Leukotrin menstimulasi agregasi lisosom dan kemotaksis PMN, mempunyai aksi biologi yang penting dan berpartisipasi pada kondisi patologis, seperti inflamasi (Indahyani, 2001:226).

Daun asam yang memiliki kandungan flavonoid memiliki mekanisme kerja yang sama dengan aspirin sebagai anti radang yaitu menghambat enzim siklooksigenase dengan mengasetilasi gugus aktif serin dari enzim ini secara irreversibel (Santosa, 1996:938). Hambatan pada jalur siklooksigenase akan berpengaruh terhadap penurunan prostaglandin sebagai media reseptor dan produksi sitokin IL-1 dan TNF. Dengan adanya hambatan pada jalur siklooksigenase yang berpengaruh terhadap penurunan prostaglandin dan sitokin proinflamasi akan berpengaruh terhadap penurunan aktivitas fagositosis. Hambatan pada jalur lipoksigenase oleh flavonoid yang berpengaruh pada produksi leukotrin yang dikenal sebagai mediator aktivitas leukosit, yaitu berperan dalam menstimulasi agregasi dan kemotaksis PMN. Dengan turunnya produksi leukotrin karena hambatan pada jalur lipoksigenase, maka akan mempengaruhi penurunan aktivitas fisiologis (Arundina, 2003:404).

Konsentrasi tinggi dari beberapa senyawa flavonoid dapat menghambat pelepasan asam arakidonat dan sekresi lisosom dari membran dengan jalan memblok jalur siklooksigenase, jalur lipoksigenase dan fosfolipase A<sub>2</sub>, sementara pada konsentrasi rendah hanya memblok jalur lipoksigenase. Terhambatnya pelepasan asam arakidonat dari inflamasi akan menyebabkan kurang tersedianya subarakidonat bagi jalur siklooksigenase dan jalur lipoksigenase, yang pada akhirnya akan menekan jumlah prostaglandin dan leukotrin (Landolfi *dalam* Sabir, 2003:84).

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel (4.3), antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang bermakna terhadap jumlah PMN neutrofil. Menurut Robbins dan Kumar (1992:29-33), neutrofil memiliki masa

paruh yang singkat yaitu tidak melampaui umur 24-48 jam di jaringan. Pada umumnya radang akut ditandai penimbunan sel-sel neutrofil dalam jumlah yang banyak. Respon ini relatif singkat hanya berlangsung beberapa jam atau hari.

Selain itu, daun asam mempunyai kandungan vitamin C yang ikut berperan sebagai koenzim dalam pembentukan kolagen dengan cara mengkatalisis hidroksilasi lisin dan prolin dengan pengaktifan enzim prolil dan lisil hidroksilase yang inaktif. Defisiensi vitamin C dapat mengakibatkan gangguan pembentukan kolagen karena hidroksilasi diperlukan untuk pembentukan konfigurasi heliks yang stabil. Kolagen yang kurang mengalami hidroksilasi lebih mudah mengalami degradasi intrasel, sehingga kolagen yang disekresi tidak dapat membentuk fibril. Oleh karena itu pada defisiensi vitamin C, kecepatan penyembuhan luka dan kekuatan regangan jelas terganggu (Robbins dan Kumar, 1992:62-63). Begitu juga dengan defisiensi vitamin A yang secara tidak langsung dapat memperlambat penyembuhan luka, akan tetapi mekanismenya tidak jelas (Sabiston, 1994:105).



## BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

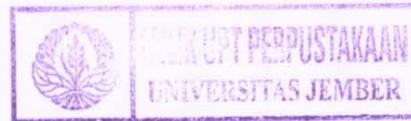
Berdasarkan hasil penelitian secara eksperimental laboratoris dan analisa statistik dapat diambil kesimpulan bahwa terjadi penurunan jumlah PMN neutrofil pada hapusan darah tepi tikus putih galur Wistar jantan setelah pemberian ekstrak daun asam (*Tamarindus indica* Linn) peroral paska insisi *full thickness*.

### 6.2 Saran

Diharapkan ada penelitian lebih lanjut tentang :

1. Pengaruh lama pemberian ekstrak daun asam terhadap penurunan jumlah PMN neutrofil paska insisi *full thickness*.
2. Pengaruh dosis ekstrak daun asam yang efektif untuk mengurangi peradangan.

DAFTAR PUSTAKA



- Achyad, D. E. dan R. Rasyidah. 2000. *Asam Jawa (Tamarindus indica L.)*. [http://www.asiamaya.com/jamu/isi/asamjawa\\_tamarindusindica.htm](http://www.asiamaya.com/jamu/isi/asamjawa_tamarindusindica.htm). diakses tanggal 31 Mei 2005.
- Agus, D. B., dkk. 1997. *Vitamin C*. [http://www.lef.org/prod\\_hp/abstracts/php\\_ab405a.html](http://www.lef.org/prod_hp/abstracts/php_ab405a.html). diakses tanggal 31 Mei 2005.
- Arundina, I. 2003. "Efek Anti Inflamasi Catechin terhadap PMN yang Memfagosit Actinobacillus actinomycetemcomitans Penyebab Periodontitis". Dalam *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal) Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III (Agustus)*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- Ashari, S. 1995. *Hortikultura Aspek Budaya*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Bahar, M. L. 2001. "Pengaruh Hidroksiapatit terhadap Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi". Dalam *Majalah Kedokteran Gigi (Agustus) Vol.34 No.3a*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- Baratawidjaja, K. G. 1996. *Imunologi Dasar Edisi III*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Bellanti, J. A. 1993. *Immunology III*. Terjemahan Samik Wahab dari *Immunology III* (1985). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Carlos, J. L., dkk. 1998. *Histologi Dasar*. Jakarta: EGC.
- Dorland. 1998. *Kamus Saku Kedokteran Edisi 25*. Terjemahan Tim Penerjemah EGC dari *Dorland's Illustrated Medical Dictionary* (1985). Jakarta: EGC.
- Felix, J. 2004. *Vitamin A (Retinol)*. Columbus: Departement of Human Nutrition, Ohio State University. [http://ohioline.osu.edu/hyg\\_fact/5000/5551.html](http://ohioline.osu.edu/hyg_fact/5000/5551.html). diakses tanggal 31 Mei 2005.
- Ganong, W. F. 1999. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 17*. Terjemahan M. Djauhari Widjayakusuma dari *Refiew of Medical Physiology* (1995). Jakarta: EGC.
- Grant, W. 2000. *Facts About Vitamin A and Carotenoids*. <http://ods.od.nih.gov/factsheets/cc/vit.a.html>. diakses tanggal 31 Mei 2005.

- Guyton, A. C. 1995. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 7*. Terjemahan Ima Ken Ariata Tengadi dari *Textbook of Medical Physiology*. Jakarta: EGC.
- , 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 9*. Terjemahan Irawati Setiawan dari *Textbook of Medical Physiology*. Jakarta: EGC.
- Indahyani, D. E. 2001. "Mekanisme Minyak Ikan dalam Menghambat Proses Inflamasi". Dalam *Majalah Kedokteran Gigi (Agustus) Vol.34 No.3a*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Jember.
- Indrawati, A. 1996. "Peran Kolagen dalam Makanan terhadap Kecepatan Penyembuhan Luka Jaringan Periodontal Tikus". Dalam *Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti.
- Kapiten. 2003. *Tanaman untuk Menurunkan Kolesterol Tinggi*. <http://www.gaul.com>. diakses tanggal 29 Mei 2005.
- Katzung, B. G. 1989. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Terjemahan Petrus Adrian dari *Basic and Clinical Pharmacology (1987)*. Jakarta: EGC.
- Kevin. 2004. *Medical Encyclopedia Vitamin C*. Boston: Boston VA Medical Center. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/002404.htm>. diakses tanggal 31 Mei 2005.
- Lawler, W. 1992. *Buku Ajar Patologi untuk Kedokteran Gigi*. Terjemahan Agus Djaja dari *Essential Pathology for Dental Student (1987)*. Jakarta: EGC.
- Leeson, dkk. 1996. *Buku Teks Histologi*. Terjemahan Yan Tambayong, dkk. dari *Textbook of Histology (1985)*. Jakarta: EGC.
- Manson, J. D. dan Elley B. M. 1993. *Buku Ajar Periodonti*. Terjemahan Anastasia S. dari *Outline of Periodontics (1989)*. Jakarta: Hipokrates.
- Mursito, B. 2000. *Tampil Percaya Diri dengan Ramuan Tradisional*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- , 2002. *Ramuan Tradisional untuk Kesehatan Anak*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Ngatijan. 1991. *Metode Laboratorium dalam Toksikologi*. Yogyakarta: PAU Bioteknologi UGM.
- Notoatmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan Edisi Revisi*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.

- Null, G. 1994. *The Antioxidant Vitamin C*. <http://www.garynull.com/documents/vit.C.htm>. diakses tanggal 31 Mei 2005.
- Nurrohman, H., dkk. 2002. "Efek Aplikasi Ekstraksi Jaringan Achatina Fulica ke dalam Soket Bekas Pencabutan terhadap Pembentukan Kolagen". Dalam *Majalah Kedokteran Gigi Volume 34. No. 3a Agustus 2001 Edisi Khusus FORIL*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Trisakti.
- Price, S. A. dan Wilson L. M. 1998. *Patofisiologi Konsep Klinik Proses-proses Penyakit Edisi 2*. Terjemahan Adji Dharma (1988). Jakarta: EGC.
- Rismunandar. 1996. *Mengenal Tanaman Buah-buahan*. Bandung: Sinar Baru Algensiado.
- Ritscel. 1974. *Pemberian Dosis Maksimum Hewan Coba*. Jakarta: Trubus Agrividya.
- Robbins dan Kumar. 1992. *Buku Ajar Patologi I Edisi 4*. Terjemahan Staf Pengajar Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dari *Basic Pathology* (1987). Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Roeslan, B. O. 2002. *Imunologi Oral: Kelainan di dalam Rongga Mulut*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Sabir, A. 2003. "Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi". Dalam *Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III*. Makasar: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hassanudin.
- Sabiston, L. 1994. *Buku Teks Ilmu Bedah Jilid I*. Terjemahan Lyndon Saputra dari *Pocket Comparison Textbook of Surgery* (1992). Jakarta: Bina Rupa Aksara.
- Santosa, D. N. (a). 1996. "Biosintesis Prostaglandin dan Hubungannya dengan Efek Samping Obat Anti Inflamasi Non Steroid". Dalam *Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Ceramah Singkat*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti.
- (b). 1996. "Zat Kolagen Murni Secara Topikal". Dalam *Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Ceramah Singkat*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti.
- Saraswati, W. dan Joelijanto, R. 2003. "Peran Tumor Necrosis Faktor- $\alpha$  dan Prostaglandin E2 sebagai Mediator Inflamasi pada Penyakit Periodantal". Dalam *Majalah Kedokteran Gigi Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

- Subiyantoro, S. 2001. "Bawang Putih (*Allium Sativum* L.) Berkhasiat Mempercepat Penyembuhan Luka pada Mukosa Gingiva". Dalam *Kumpulan Makalah Ceramah Ilmiah dan Poster Ilmiah*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Stell dan Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. Terjemahan Sumantri dari *Principle and Procedure of Statistic* (1980). Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Sudarto, Y. 1997. *Lidah Buaya*. Yogyakarta: Caninus.
- Sugiyono dan Wibowo E. 2002. *Statistika Penelitian dan Aplikasinya dengan SPSS 10,0 for Window*. Bandung: Alfabeta.
- Sutedjo, M. M. 1990. *Pengembangan Kultur Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Syaekoh. 2001. *Penyembuh Luka di Sekitar Kita*. <http://www.glorianet.org/Keluarga/kesehatan/keseluka.html>. diakses tanggal 16 Oktober 2004.
- Waterbury, L. 2001. *Hematologi Edisi 31*. Jakarta: EGC.
- Wijayakusuma, H., S., dkk. 1997. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia Jilid 3*. Jakarta: Pustaka Kartini.
- Wirawan, R., dkk. 1996. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana Edisi II*. Jakarta: EGC.

**Lampiran 1. Perhitungan jumlah sampel**

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

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma\rho^2}{\delta^2}$$

Keterangan :

n = besar sampel minimal

$Z\alpha$  = batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (1.96)

$Z\beta$  = batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (0.85)

$\sigma\rho^2$  = diasumsikan  $\sigma\rho^2$  ( $2\delta^2$ )

$\alpha$  = tingkat signifikan (0.20)

$P=1-\beta$

$\beta$  = 0.20

Maka hasil perhitungan sampel adalah sebagai berikut

$$n = \frac{(1.96 + 0.85)^2 \sigma\rho^2}{\sigma\rho^2}$$

$$n = 7.896$$

$$n = 8$$

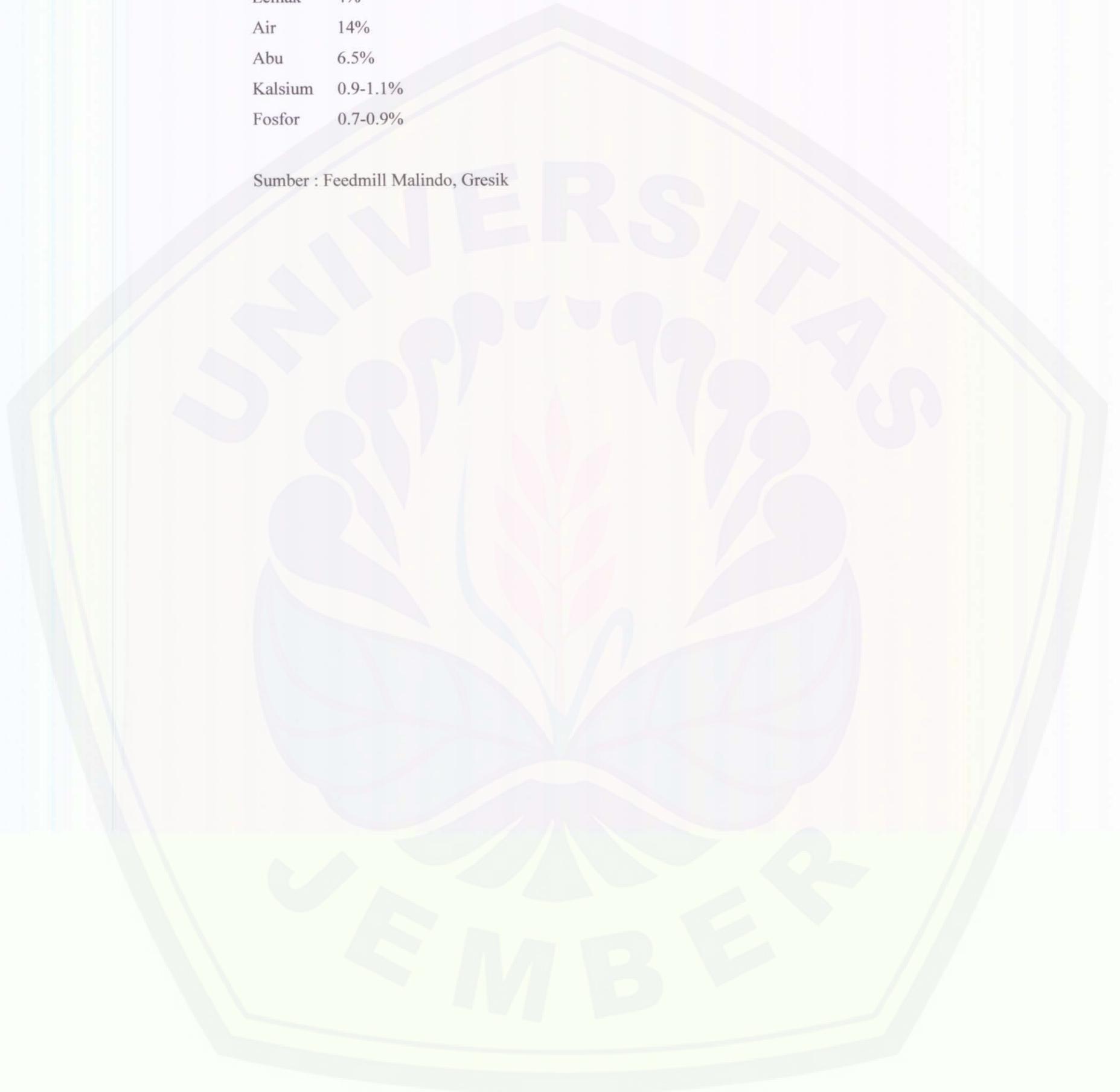
Jadi, besar sampel minimal berdasarkan perhitungan diatas adalah 8 sampel untuk tiap kelompok (Nurrohman dkk., 2002:99; Stell dan Torrie, 1995:113).

**Lampiran 2. Makanan Standar Tikus****Makanan Standar Tikus**

Makanan standar untuk tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis konsentrat yang memiliki komposisi sebagai berikut :

Protein	21%
Serat	4%
Lemak	4%
Air	14%
Abu	6.5%
Kalsium	0.9-1.1%
Fosfor	0.7-0.9%

Sumber : Feedmill Malindo, Gresik



**Lampiran 3. Konversi perhitungan dosis antar jenis hewan menurut Laurence dan Bacharach**

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1.5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1.0	7.0	12.25	27.8	29.7	64.1	124.2	387.9
Tikus 200 g	0.14	1.0	1.74	3.9	4.2	9.2	17.8	56.6
Marmot 400 g	0.08	0.57	1.0	2.25	2.4	5.2	10.2	31.5
Kelinci 1.5 kg	0.04	0.25	0.44	1.0	1.08	2.4	4.5	14.2
Kucing 2 kg	0.03	0.23	0.41	0.92	1.0	2.2	4.1	13.0
Kera 4 kg	0.016	0.11	0.19	0.42	0.45	1.0	1.9	6.1
Anjing 12 kg	0.08	0.06	0.10	0.22	0.24	0.52	1.0	3.1
Manusia 70 kg	0.0026	0.018	0.031	0.07	0.076	0.16	0.32	1.0

Sumber : Laurence dan Bacharach (1964) *dalam* Ngatijan, 1991:212

**Lampiran 4. Uji Normalitas****Descriptives (Uji Deskriptif kelompok kontrol)**

## Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
PMN kontrol	8	35.00	42.00	39.7500	2.37547
Valid N (listwise)	8				

**Descriptives (Uji Deskriptif kelompok perlakuan)**

## Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
PMN perlakuan	8	29.00	34.00	31.3750	1.68502
Valid N (listwise)	8				

**NPar Tests (Uji normalitas kelompok kontrol)**

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		PMN control
N		8
Normal Parameters(a,b)	Mean	39.7500
	Std. Deviation	2.37547
Most Extreme Differences	Absolute	.201
	Positive	.172
	Negative	-.201
Kolmogorov-Smirnov Z		.567
Asymp. Sig. (2-tailed)		.904

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

**NPar Tests (uji normalitas kelompok perlakuan)**

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		PMN perlakuan
N		8
Normal Parameters(a,b)	Mean	31.3750
	Std. Deviation	1.68502
Most Extreme Differences	Absolute	.168
	Positive	.168
	Negative	-.145
Kolmogorov-Smirnov Z		.474
Asymp. Sig. (2-tailed)		.978

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.



## Lampiran 5. Uji Independent

## T-Test

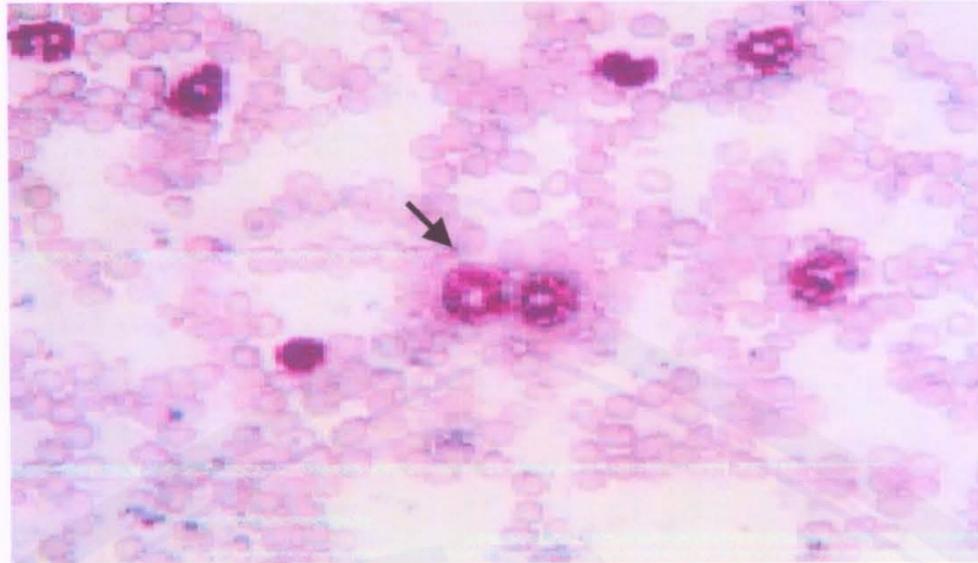
## Group Statistics

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
jumlah PMN	Kontrol	8	39.7500	2.37547	.83986
	Perlakuan	8	31.3750	1.68502	.59574

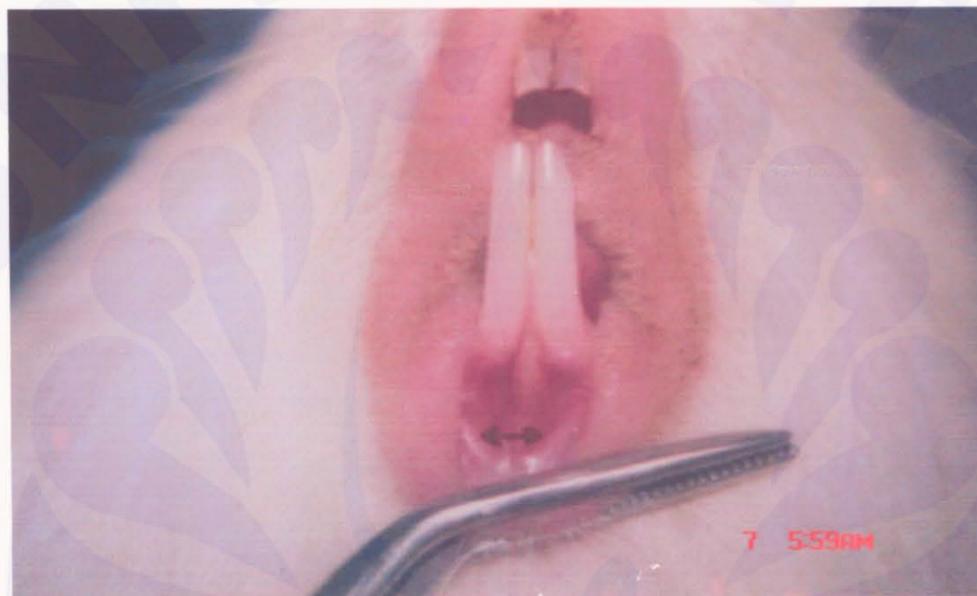
## Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Jumlah PMN	Equal variances assumed	.597	.453	8.133	14	.000	8.37500	1.02969	6.16653	10.58347
	Equal variances not assumed			8.133	12.621	.000	8.37500	1.02969	6.14368	10.60632

Lampiran 6. Foto-foto Penelitian



Gambar 1. Neutrofil (bagian yang ditunjuk garis panah)



Gambar 2. Insisi *full thickness* lipatan labial anterior pada tikus putih galur Wistar jantan



Gambar 3. Alat-alat penelitian

- a. Kaca objek
- b. Deck glass
- c. Syringe
- d. Scalpel
- e. Gunting bedah
- f. Pinset
- g. Masker
- h. Sarung tangan



Gambar 6. Bahan-bahan penelitian

- a. Aquadest
- b. Eter
- c. Alkohol
- d. Ekstrak daun asam

