



**EFEKTIVITAS GEL EKSTRAK BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.) TERHADAP INTENSITAS KOLAGEN PADA PENYEMBUHAN LUKA JARINGAN LUNAK SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS WISTAR**

**SKRIPSI**

Oleh:

**Nadia Farhatika**

**NIM 141610101014**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**



**EFEKTIVITAS GEL EKSTRAK BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.) TERHADAP INTENSITAS KOLAGEN PADA PENYEMBUHAN LUKA JARINGAN LUNAK SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS WISTAR**

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Nadia Farhatika**  
**NIM 141610101014**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

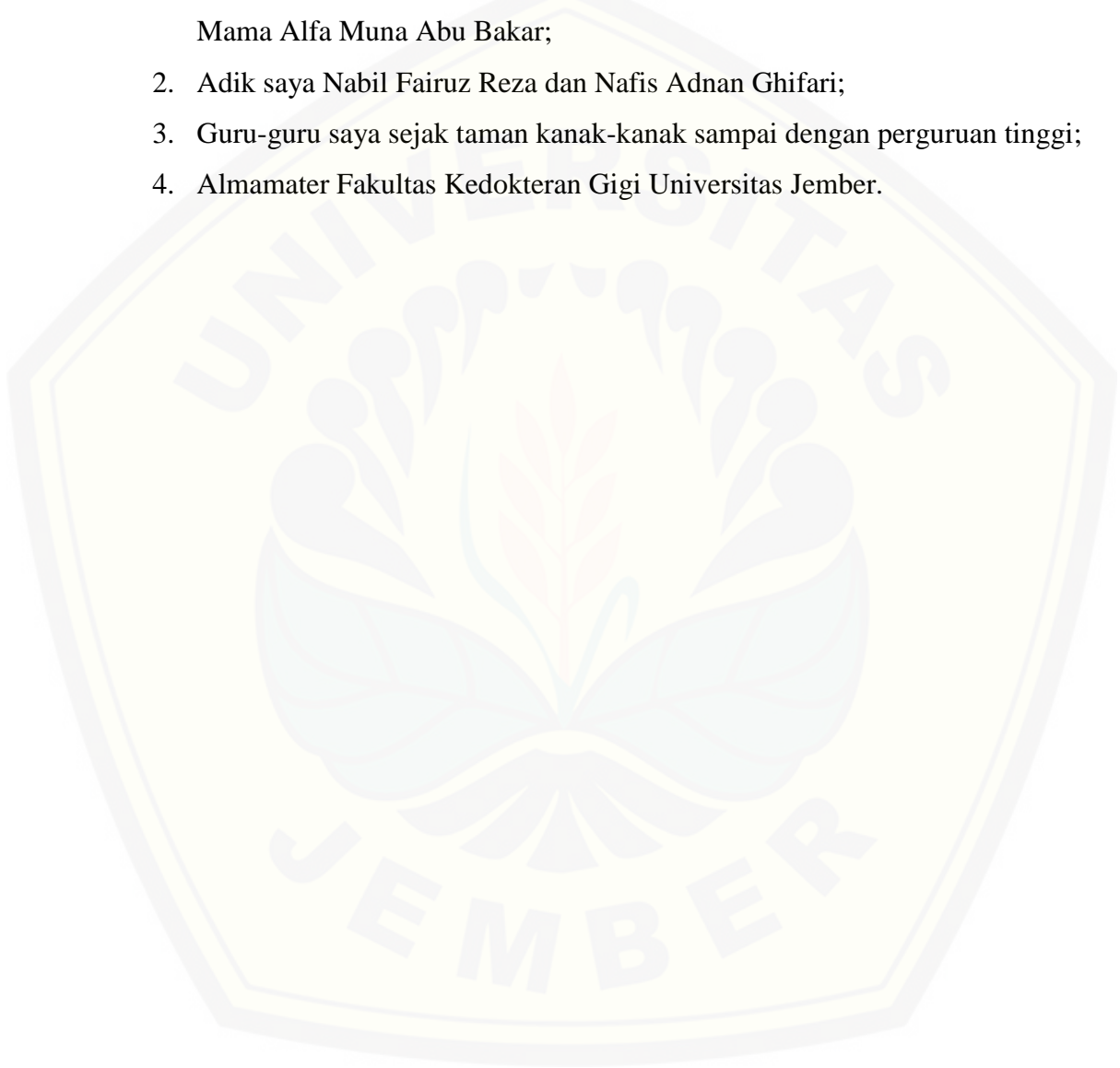
**UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua saya Bapak Sulkani Sastromihardjo, Ibu Erlina Koesman dan Mama Alfa Muna Abu Bakar;
2. Adik saya Nabil Fairuz Reza dan Nafis Adnan Ghifari;
3. Guru-guru saya sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



## MOTO

Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu; Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.

(terjemahan Surat *Al Baqarah* ayat 216)\*

Apa saja yang menimpa kamu adalah disebabkan oleh perbuatan tanganmu sendiri.

(terjemahan Surat *Asy Syuura* ayat 30)\*

---

\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2013. Al-Qur'an dan Terjemahannya. Solo: PT Tiga Serangkai Pustaka Mandiri.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Nadia Farhatika

Nim : 141610101014

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efektivitas Gel Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Intensitas Kolagen pada Penyembuhan Luka Jaringan Lunak Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 02 April 2018

Yang menyatakan,

Nadia Farhatika

NIM 141610101014

**SKRIPSI**

**EFEKTIVITAS GEL EKSTRAK BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.) TERHADAP INTENSITAS KOLAGEN PADA PENYEMBUHAN LUKA JARINGAN LUNAK SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS WISTAR**

Oleh

Nadia Farhatika

NIM 141610101014

**Pembimbing**

Dosen Pembimbing Utama : drg. Yani Corvianindya R., M.KG

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Budi Yuwono, M.Kes

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Efektivitas Gel Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Intensitas Kolagen pada Penyembuhan Luka Jaringan Lunak Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Senin, 02 April 2018

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Hengky B. Ardhiyanto, MDSc.

Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes

NIP 197905052005011005

NIP 197102041998022002

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping

drg. Yani Corvianindya R., M.KG

drg. Budi Yuwono, M. Kes

NIP 197308251998022001

NIP 196709141999031002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember,

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

NIP 196901121996011001



## RINGKASAN

**Efektivitas Gel Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Intensitas Kolagen pada Penyembuhan Luka Jaringan Lunak Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar**; Nadia Farhatika, 141610101014; 2018: 84 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Pencabutan gigi merupakan salah satu tindakan dalam bidang kedokteran gigi yang merupakan suatu proses pengeluaran gigi dari alveolus, di mana melibatkan jaringan keras dan jaringan lunak pada rongga mulut dan dapat menimbulkan luka pada soket gigi. Biji kakao (*Theobroma cacao* Linn.) merupakan salah satu tanaman herbal yang dapat membantu proses penyembuhan luka. Biji kakao kering yang tidak difermentasi memiliki kandungan polifenol dan asam fenolik sekitar 12-18%. Senyawa polifenol lebih banyak didominasi oleh gugus flavonoid yang terdiri dari kelompok *proanthocyanidin* sebanyak  $\pm 58\%$ , flavanol  $\pm 37\%$ , *anthocyanidin*  $\pm 4\%$  dan flavanol glikosida  $\pm 1\%$ . Flavonoid merupakan salah satu subkelas dari polifenol yang menstimulasi proses penyembuhan luka dan memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Berdasarkan latar belakang di atas penulis akan melakukan penelitian tentang efektivitas gel ekstrak biji kakao terhadap intensitas kolagen pada penyembuhan luka jaringan lunak soket pasca pencabutan gigi tikus wistar.

Jenis penelitian adalah *experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2017 sampai dengan bulan Februari 2018. Sejumlah 32 ekor tikus Wistar jantan dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu 2 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan. Kemudian dilakukan pencabutan gigi molar satu kiri bawah. Selanjutnya pada kelompok kontrol negatif diberi gel Placebo, kontrol positif diberi Alvogyl<sup>®</sup>, sedangkan kelompok perlakuan diberi gel ekstrak biji kakao 8% dan 16% secara topikal. Dekapitasi dilakukan pada hari ke-3 dan ke-7 pasca pencabutan, dilanjutkan dengan pembuatan jaringan secara histologis.



Kepadatan serabut kolagen adalah gambaran mikroskopik serabut kolagen yang dibuat dari soket pasca pencabutan dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* dengan perbesaran 400x. Hasil pengamatan kemudian difoto menggunakan kamera *Optilab* dan diamati menggunakan *software Adobe Photoshop CS 6.0* untuk melihat jumlah *pixel* kolagen. Jumlah kepadatan serabut kolagen didapat dari rata-rata jumlah *pixel* kolagen dalam 3 lapang pandang. Kemudian hasil dianalisis menggunakan program SPSS

Berdasarkan hasil pembahasan di atas, terbukti pada hari ke-3 dan ke-7 terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif (gel Placebo) dengan kelompok perlakuan baik berdasarkan hasil perhitungan secara histologis maupun secara statistik. Dengan demikian dapat dikatakan gel ekstrak biji kakao dengan konsentrasi 8% dan 16% efektif dalam meningkatkan intensitas kolagen pada proses penyembuhan luka jaringan lunak soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar.

## PRAKATA

Puji syukur Alhamdulillah kehadiran Allah SWT. Atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektivitas Gel Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Intensitas Kolagen pada Penyembuhan Luka Jaringan Lunak Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Orangtua tersayang, bapak Sulkani Sastromihardjo, ibu Erlina Koesman, dan mama Alfa Muna Abu Bakar atas dukungan moril, doa, nasihat, dan semua curahan kasih sayang tidak pernah putus;
2. Adik-adikku, Nabil Fairuz Reza dan Nafis Adnan Ghifari yang selalu memberikan semangat dan motivasi untuk menyelesaikan skripsi ini;
3. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan dalam menempuh Pendidikan Dokter Gigi di Universitas Jember.
4. drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Budi Yuwono, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Pendamping;
5. drg. Hengky Bowo Ardhiyanto, MDSc selaku Dosen Penguji Ketua dan Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota;
6. drg. Niken Probosari, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik;
7. Analis Laboratorium Bioscience dan Biomedik FKG Universitas Jember dan analis Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini;
8. Keluarga besar Sastromihardjo, Koesman, dan Abdurrachman Bafagih yang selalu mendukung penulis;
9. Saudari-saudariku, Edda Rachmadenawanti, Rafiqah Amalia Chasanah, Karimah Bafagih, dan Rizky Putri Agma Wijayanti atas motivasi dan dukungannya dalam penyelesaian skripsi ini;

10. Sahabat-sahabatku Cynthia Paramita Astarari, Indi Auliana, Firda Rahmawati, Jenar Pratiwi Mahardini, Meilina Retno Hapsari, Efriza Putri Sabrina, Nisrina Safira Sari, Dea Putri Pamungkas, Anindya Astika Khofshoh, Wanda Revina Dewi Santoso, Adinda Nur Jannah Santoso, dan Yulintan Maulidar yang selalu memberikan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini;
11. Sahabat-sahabatku sejak mahasiswa baru Zulfah Al-Fa'izah, Paramita Rachmawati Zulkarnain, Shinta Permata Sari, Nanik Rahmawati, Puti Ganisari, Heni Jayanti, Arie Puspaningtyas, Dini Roswati Sya'bani dan Arwinda Hening Pangestu yang memberikan keceriaan dan dukungan setiap hari;
12. *My research partner* Nufsi Egi Pratama, Maqdisi Firdaus Ali, dan Stefani Silvia Veronika yang selalu bekerjasama dan memberi semangat untuk menyelesaikan skripsi ini;
13. Keluarga LISMA Jaya Mas I Gede Mahendra Prihandana, Mas Choriul Faizol Alam, dan Kholisa yang selalu sabar mengajari saya menyusun skripsi ini;
14. Seluruh teman-teman FKG 2014, terimakasih atas kerjasama dan kebersamaannya selama ini;
15. Koko-ku, *who has always been supporting me since the beginning*;
16. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu atas segala bantuan dan motivasinya.

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

Jember, 02 April 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Rumusan Masalah.....</b>	<b>4</b>
<b>1.3. Tujuan Penelitian .....</b>	<b>5</b>
<b>1.4. Manfaat Penelitian .....</b>	<b>5</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
<b>2.1. Pencabutan Gigi .....</b>	<b>6</b>
<b>2.2. Penyembuhan Luka .....</b>	<b>6</b>
2.2.1 Pengertian Luka .....	6
2.2.2 Proses Penyembuhan Luka .....	7
2.2.3 Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi .....	10
<b>2.3. Antiinflamasi.....</b>	<b>11</b>
2.3.1 Mekanisme Kerja Antiinflamasi .....	11
<b>2.4. Alvogyl® .....</b>	<b>12</b>
<b>2.5. Kolagen.....</b>	<b>13</b>
2.5.1 Pengertian Kolagen.....	13
2.5.2 Struktur dan Macam Kolagen .....	13
<b>2.6. Biji Kakao .....</b>	<b>15</b>

2.6.1	Morfologi Tanaman Kakao.....	16
2.6.2	Kandungan Kimia dan Khasiat Biji Kakao .....	18
<b>2.7.</b>	<b>Metode Ekstraksi.....</b>	<b>19</b>
<b>2.8.</b>	<b>Metode Sediaan .....</b>	<b>20</b>
<b>2.9.</b>	<b>Kerangka Konseptual .....</b>	<b>22</b>
2.9.1	Keterangan Kerangka Konseptual .....	23
<b>2.10.</b>	<b>Hipotesis .....</b>	<b>23</b>
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1.</b>	<b>Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian .....</b>	<b>24</b>
<b>3.2.</b>	<b>Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>24</b>
3.2.1.	Tempat Penelitian.....	24
3.2.2.	Waktu Penelitian .....	24
<b>3.3.</b>	<b>Variabel Penelitian .....</b>	<b>24</b>
3.3.1.	Variabel Bebas .....	24
3.3.2.	Variabel Terikat.....	24
3.3.3.	Variabel Terkendali .....	25
<b>3.4.</b>	<b>Definisi Operasional .....</b>	<b>25</b>
3.4.1.	Gel Ekstrak Biji Kakao.....	25
3.4.2.	Alvogyl® .....	25
3.4.3.	Pencabutan Gigi Tikus Wistar .....	26
3.4.4.	Kepadatan Serabut Kolagen .....	26
<b>3.5.</b>	<b>Sampel Penelitian.....</b>	<b>26</b>
3.5.1.	Besar Sampel .....	27
3.5.2.	Kriteria Sampel.....	27
<b>3.6.</b>	<b>Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>27</b>
3.6.1.	Alat Penelitian .....	27
3.6.2.	Bahan Penelitian.....	28
<b>3.7.</b>	<b>Perhitungan Dosis .....</b>	<b>29</b>
3.7.1.	Dosis Gel Ekstrak Biji Kakao .....	29
3.7.2.	Dosis Ketamin .....	29
3.7.3.	Dosis Alvogyl® .....	29

<b>3.8. Prosedur Penelitian.....</b>	<b>30</b>
3.8.1. Persiapan Hewan Coba.....	30
3.8.2. Pembuatan Ekstrak Biji Kakao.....	30
3.8.3. Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao 8% dan 16% .....	30
3.8.4. Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba.....	31
3.8.5. Tahap Pembuatan Sediaan.....	32
3.8.6. Tahap Pewarnaan <i>Trichrome Mallory</i> .....	34
3.8.7. Tahap Pengamatan dan Perhitungan Kepadatan Kolagen...	35
3.8.8. Tahap Penggunaan <i>Software Adobe Photoshop CS 6.0</i> .....	36
<b>3.9. Analisis Data.....</b>	<b>36</b>
<b>3.10. Alur Penelitian .....</b>	<b>37</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>38</b>
<b>4.1. Hasil Penelitian .....</b>	<b>38</b>
<b>4.2. Analisis Data.....</b>	<b>41</b>
<b>4.3. Pembahasan.....</b>	<b>43</b>
<b>BAB 5. PENUTUP.....</b>	<b>47</b>
<b>5.1. Kesimpulan.....</b>	<b>47</b>
<b>5.2. Saran .....</b>	<b>47</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>48</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>55</b>



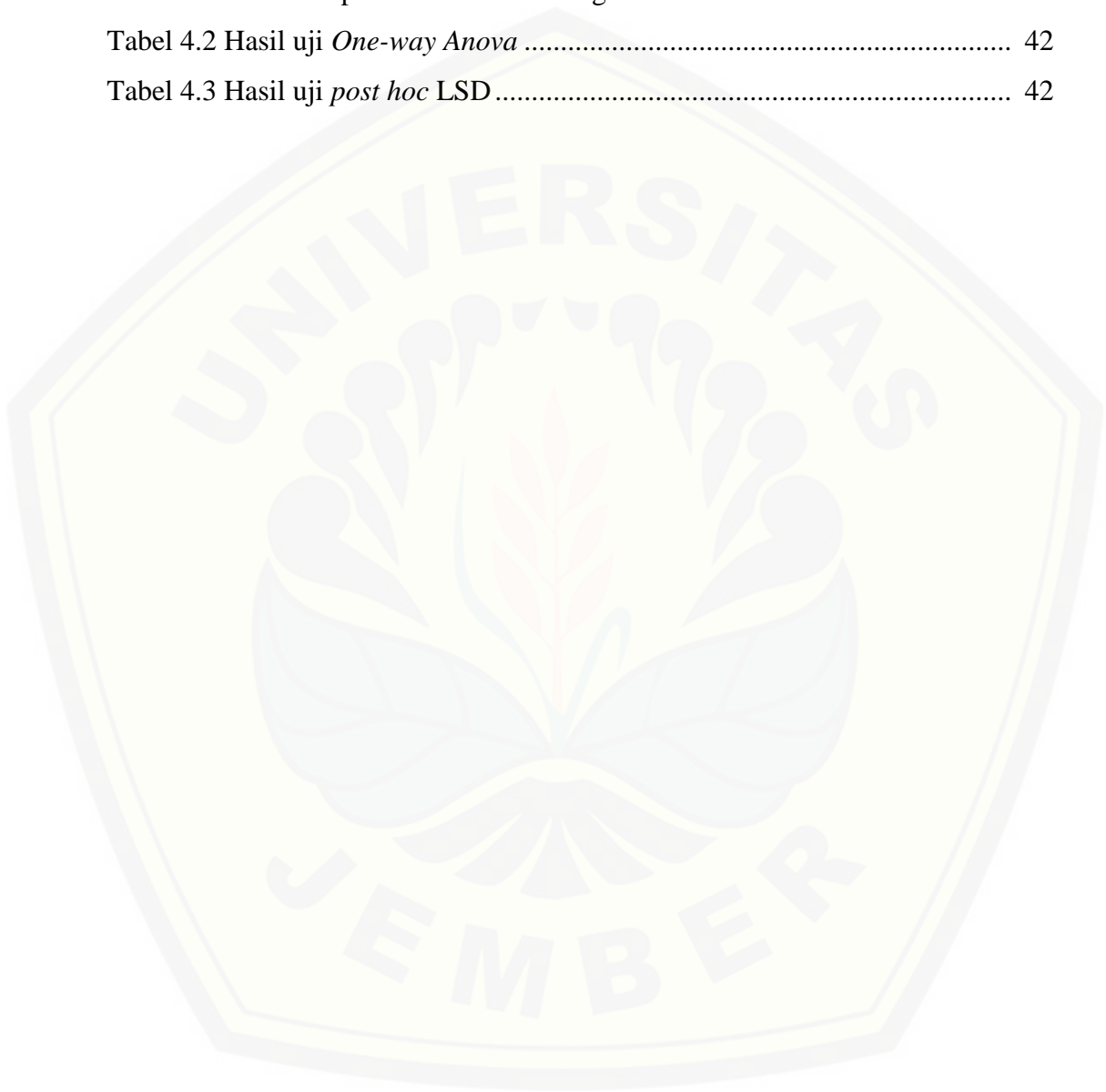
**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1 Fase Penyembuhan Luka.....	7
Gambar 2.2 Alvogyl® .....	12
Gambar 2.3 Serat Kolagen dengan warna biru dengan pewarnaam <i>Trichrome Mallory</i> perbesaran 400x.....	14
Gambar 2.4 Tanaman Kakao.....	16
Gambar 2.5 Biji Kakao .....	18
Gambar 2.6 Kerangka Konseptual .....	22
Gambar 3.1 Alur Penelitian.....	37
Gambar 4.1 Gambaran Histologis Serabut Kolagen Hari Ke-3.....	38
Gambar 4.2 Gambaran Histologis Serabut Kolagen Hari Ke-7.....	39
Gambar 4.3 Diagram Rata-Rata Ketebalan Serabut Kolagen.....	41



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 4.1 Rerata Kepadatan Serabut Kolagen .....	40
Tabel 4.2 Hasil uji <i>One-way Anova</i> .....	42
Tabel 4.3 Hasil uji <i>post hoc</i> LSD .....	42



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Surat Keterangan <i>Ethical Clearance</i> .....	55
B. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman.....	56
C. Surat Keterangan Ekstraksi Biji Kakao .....	57
D. Surat Keterangan Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao.....	58
E. Surat Keterangan Pelaksanaan Penelitian .....	59
F. Surat Izin Laboratorium Biomedik .....	60
G. Surat Izin Laboratorium Biomedik .....	61
H. Perhitungan Besar Sampel .....	62
I. Perhitungan Dosis Ekstrak Biji Kakao.....	63
J. Perhitungan Dosis Ketamin .....	64
K. Tabel Konversi.....	65
L. Pengukuran Intensitas Serabut Kolagen .....	66
M. Data Hasil Penelitian.....	67
N. Analisis Data .....	72
O. Alat dan Bahan Penelitian.....	75
P. Gambaran Histologis Serabut Kolagen.....	79

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Salah satu tindakan dalam bidang kedokteran gigi yang sering dijumpai pada tempat praktek dokter gigi, klinik swasta, poliklinik, puskesmas maupun rumah sakit adalah tindakan bedah (Pratidina, 2015). Prosedur pencabutan gigi dalam bidang kedokteran gigi merupakan salah satu tindakan bedah yang paling sering dilakukan serta dapat menyebabkan luka atau trauma (Arifah, 2012). Hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2007 yang dilakukan oleh Departemen Kesehatan menyebutkan prevalensi pencabutan gigi di Indonesia sebesar 79,6% (Hardadi *et al.*, 2014).

Pada beberapa kasus tindakan pencabutan gigi dijumpai komplikasi pada proses penyembuhan luka pencabutan gigi. Komplikasi tersebut antara lain perdarahan, pembengkakan, rasa sakit, *dry socket*, fraktur dan dislokasi mandibula (Lande *et al.*, 2015).

Pencabutan gigi dapat menyebabkan suatu kavitas berupa soket gigi dan luka bekas pencabutan gigi pada jaringan di sekitar soket diikuti oleh respon tubuh melalui penyembuhan luka. Luka adalah rusaknya kesatuan atau komponen jaringan, secara spesifik terdapat substansi jaringan yang rusak atau hilang yang disebabkan trauma benda tajam atau tumpul, perubahan suhu, zat kimia, ledakan, sengatan listrik, atau gigitan hewan (Ashari *et al.*, 2012; Sari, 2012). Apabila dibiarkan dan tidak diobati, luka menyebabkan bagian dalam tubuh menjadi terpapar dengan lingkungan luar dan penyembuhan luka menjadi terhambat (Christgau, 2004).

Penyembuhan luka merupakan proses dari organisme untuk mengembalikan struktur dan fungsi suatu jaringan akibat dari cedera atau inflamasi (Christgau, 2004). Sifat penyembuhan pada semua luka adalah sama dengan variasi bergantung pada lokasi, keparahan, dan luas cedera. Proses penyembuhan luka dibagi menjadi

tiga fase yaitu: 1) fase inflamasi, 2) fase proliferasi dan 3) fase maturasi/remodeling. Fase inflamasi merupakan reaksi tubuh terhadap luka berupa perdarahan, hemostasis, pembentukan bekuan, permukaan menjadi kering, dan membentuk keropeng yang dimulai setelah beberapa menit dan berlangsung sekitar 0-3 hari setelah cedera. Fase proliferasi ditandai dengan munculnya pembuluh darah baru sebagai hasil rekonstruksi (pembentukan pucuk kapiler dari angioblas, kolagen dari fibroblas, dan migrasi sel-sel epitel dari tepi luka di bawah keropeng menuju tengah luka) yang terjadi dalam waktu 3-21 hari. Fase remodeling merupakan tahap akhir proses penyembuhan luka berupa maturasi kolagen, kontaksi dan remodeling parut yang memerlukan waktu 21 hari-2 tahun bergantung pada kedalaman dan keluasan luka (Zuber *et al.*, 2013; Robbins *et al.*, 2007).

Dalam proses inflamasi dalam penyembuhan luka pada umumnya akan menimbulkan nyeri, demam, dan kerusakan jaringan. Sehingga masyarakat cenderung mengkonsumsi obat-obatan. Obat yang sering digunakan adalah golongan obat AINS (Anti-inflamasi Non steroid) antara lain aspirin, ibuprofen, asam mefenamat, naproksen, flubiprofen, ketoprofen dan sebagainya. AINS efektif untuk mengurangi inflamasi dan rasa sakit dengan enzim siklooksigenase sebagai target utamanya. Pada tindakan pasca pencabutan gigi, obat yang paling umum diaplikasikan pada soket adalah Alvogyl<sup>®</sup>. Alvogyl<sup>®</sup> digunakan sebagai *dressing agent* pasca ekstraksi yang terdiri dari eugenol (analgesik, antiinflamasi), idodoform (antimikroba), dan butamen (anestesi). Namun obat-obatan antiinflamasi memiliki efek samping yaitu perdarahan gastrointestinal, lamanya waktu perdarahan, serta dapat merusak fungsi ginjal, sehingga masih diperlukan suatu bahan yang memiliki efek samping seminimal mungkin, namun memiliki efektivitas tinggi (Hapsari, 2014; Kaya *et al.*, 2011). Seiring dengan hal tersebut, beberapa ahli telah melakukan berbagai penelitian pada obat-obatan herbal sebagai salah satu alternatif pengobatan dalam mempercepat penyembuhan luka (Soebiyanto *et al.*, 2014).

Indonesia merupakan salah satu negara produsen kakao di dunia yang berada di urutan ketiga terbesar setelah Pantai Gading dan Ghana, dengan produksi sebesar 13% kakao dunia (ICCO, 2012). Kabupaten Jember dengan luas wilayah ± 3.293,34

km persegi, mempunyai potensi besar di sektor perkebunan kakao Indonesia. Komoditi tanaman perkebunan kakao di Jember memiliki total luas area 4.641 hektar. Dalam setiap hektarnya produktivitas tanaman perkebunan kakao yang dikelola mencapai  $\pm 15,87$  ton. Perkebunan kakao Kabupaten Jember juga memiliki kemampuan produksi 2.246.870 ton/tahun yang dikirimkan pada wilayah pemasaran USA, Belanda, Singapura, Jerman, dan Belgia (Wahyudi, 2008).

Salah satu tanaman yang dikenal dan terbukti memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan adalah tanaman coklat (*Theobroma cacao* Linn.) yang kaya akan kandungan polifenol. Kandungan polifenol dan asam fenolik dalam biji kakao kering yang tidak difermentasi sekitar 12-18% (Tohawa, 2014). Polifenol merupakan senyawa fitokimia alami yang meliputi flavonoid, katekin, epikatekin, prosianidin, antosianidin, tannin kompleks, dan flavonol glikosida. Flavonoid dapat bersifat bakterisidal dan memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi (Sartini, 2013).

Flavonoid merupakan salah satu subkelas dari polifenol yang menstimulasi proses penyembuhan luka melalui perubahan metabolisme matriks ekstraseluler. Matriks ekstraselular merupakan suatu struktur yang kompleks dan tidak hanya menyediakan jaringan dengan struktur pendukung tetapi juga pertukaran informasi dengan sel yang demikian akan memodulasi proses di dalam tubuh termasuk perkembangan, migrasi sel, perlekatan dan proses perbaikan. Salah satu komponen matriks ekstraselular yaitu kolagen (Soebiyanto *et al.*, 2014; Raharyani *et al.*, 2015).

Kolagen merupakan protein struktural fibrosa yang memberikan kekuatan regang dan berfungsi mengisi matriks ekstraselular yang diperlukan saat penyembuhan luka. Pada proses penyembuhan luka, kolagen dibentuk sejak hari ke-3 dan akan tampak nyata jumlahnya di hari ke-7 setelah luka. Selama minggu kedua, penumpukan kolagen dan proliferasi fibroblas masih berlanjut (Robbins *et al.*, 2007; Sabirin *et al.*, 2013). Kolagen yang terdapat pada soket adalah kolagen tipe I, III, V dan XII. Protein kolagen total mengandung kurang lebih 80% kolagen tipe 1 dan 15% kolagen tipe III (Garant, 2003; Robbins *et al.*, 2007).

Salah satu bentuk sediaan topikal adalah gel. Gel adalah suatu sediaan setengah padat yang terdiri dari suatu disperse yang tersusun baik dari partikel



anorganik yang kecil dan molekul organik besar dan saling diresapi cairan (DepKes RI, 1995). Bentuk gel dipilih dengan alasan gel bersifat padat, lunak dan kenyal sehingga dalam pengaplikasian jaringan luka lebih mudah diletakkan dalam soket bekas pencabutan dan dapat bertahan lama dalam soket sampai pada saatnya masuk ke dalam proses penyembuhan luka (Zulfitri *et al.*, 2012). Pada penelitian sebelumnya oleh Fuadi menggunakan gel ekstrak etanol biji kakao 8% dan didapatkan hasil bahwa jumlah fibroblas kelompok perlakuan gel ekstrak etanol biji kakao 8% lebih tinggi dari kelompok *Normal saline* dan kelompok *Silver Sulfadiazine* pada penyembuhan luka bakar derajat II (Fuadi, 2015).

Penelitian ini menggunakan tikus Wistar sebagai hewan coba karena memiliki beberapa keuntungan yaitu, lebih ekonomis, ukuran kecil dan dasar fisiologisnya mendekati manusia yaitu sama-sama mamalia. Tikus Wistar yang digunakan adalah tikus Wistar jantan dengan alasan tikus Wistar jantan tidak mengalami siklus estrus sehingga sampel menjadi homogen, mudah dikendalikan dan hasilnya diharapkan akan lebih akurat (Anggraini, 2014).

Berdasarkan hasil telaah kandungan yang terdapat pada biji kakao, masih belum ada penelitian tentang efektivitas gel ekstrak biji kakao terhadap intensitas kolagen pada penyembuhan luka jaringan lunak soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar. Oleh karena itu, penulis ingin mengetahui efektivitas gel ekstrak biji kakao terhadap intensitas kolagen pada penyembuhan luka jaringan lunak soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah apakah pemberian gel ekstrak biji kakao efektif meningkatkan kepadatan serabut kolagen pada penyembuhan luka jaringan lunak soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar?

### 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas pemberian gel ekstrak biji kakao terhadap peningkatan kepadatan serabut kolagen pada penyembuhan luka jaringan lunak soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar.

### 1.4 Manfaat

Adapun manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Dapat memberikan informasi dan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat mengenai peran ekstrak biji kakao terhadap intensitas kolagen soket pasca pencabutan gigi pada tikus Wistar jantan,
2. Dapat memberikan informasi kepada masyarakat dan tenaga kesehatan khususnya dalam mendukung upaya kesehatan gigi dan mulut dengan cara memanfaatkan bahan herbal biji kakao yang mudah didapat,
3. Dapat digunakan sebagai acuan untuk melakukan penelitian lebih lanjut.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi merupakan tindakan yang dapat menimbulkan luka di soket gigi. Pencabutan gigi yang ideal adalah pencabutan tanpa rasa sakit (satu gigi utuh atau akar gigi), dengan trauma minimal pada jaringan pendukung gigi sehingga bekas pencabutan dapat sembuh sempurna dan tidak terdapat masalah prostetik pasca operasi (Dani, 2012). Pada dasarnya terdapat dua metode pencabutan gigi yaitu pencabutan menggunakan tang atau elevator (*bein*) atau keduanya (*forceps extraction*) dan pembedahan (*surgical method*). Metode pertama, yaitu dengan menekan instrumen masuk ke dalam membran periodontal antara akar dan soket. Metode ini cukup memadai dan sering digunakan pada sebagian besar kasus pencabutan gigi. Sedangkan metode kedua yaitu dengan pembelahan gigi atau akar gigi dari perlekatan tulangnya. Pemisahan ini dilakukan dengan cara membuang sebagian tulang yang melekat atau menutupi akar gigi, selanjutnya pengambilan gigi menggunakan tang atau elevator (Howe, 1995).

Tindakan pencabutan ini akan menimbulkan luka pada soket gigi dan akan secara otomatis diikuti oleh respon tubuh melalui proses penyembuhan luka (Coulthard *et al.*, 2003). Proses penyembuhan luka tersebut ditandai dengan terjadinya respon inflamasi yang diikuti oleh fase epitelisasi, fibroblasik serta remodeling (Imaniyah, 2013).

### 2.2 Penyembuhan Luka

#### 2.2.1 Pengertian Luka

Luka merupakan suatu keadaan yang ditandai dengan rusaknya berbagai jaringan tubuh. Terkoyaknya berbagai jaringan ikat, otot, serta kulit akibat suatu penyebab yang diikuti dengan rusaknya jaringan syaraf dan robeknya pembuluh darah yang mengakibatkan perdarahan. Untuk menghindari kerusakan yang lebih lanjut biasanya diawali dengan peradangan yang merupakan proteksi pertama yang

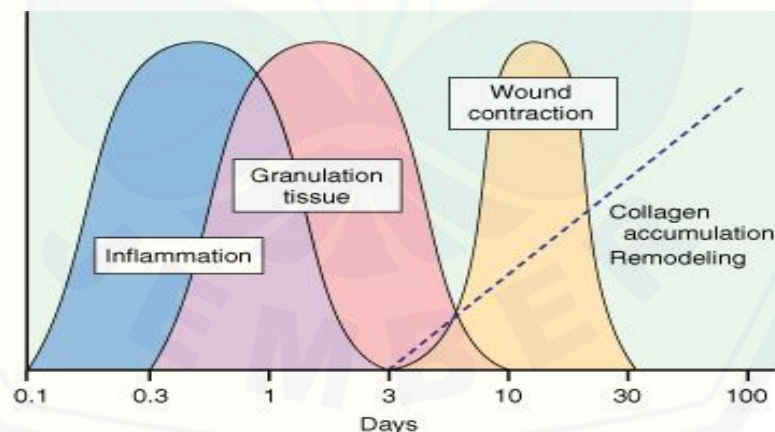
secara otomatis tersedia di dalam tubuh. Proses penyembuhan luka membutuhkan senyawa kimiawi guna menjaga daerah luka dari serangan mikroorganisme serta membangun struktur penutup luka itu sendiri (Abdurrahmat, 2014).

### 2.2.2 Proses Penyembuhan Luka

Penyembuhan merupakan suatu proses yang kompleks, tetapi umumnya terjadi secara teratur. Penyembuhan pada insisi luka secara pembedahan dengan tepi yang didekatkan dikatakan merupakan penyembuhan primer; pembentukan parut minimal. Sebaliknya luka yang kasar dan bercelah dengan banyak kerusakan jaringan (misal, ulkus pada kulit) mengakibatkan proses penyembuhan lebih lambat dengan pembentukan parut yang jauh lebih banyak dan disebut sebagai penyembuhan sekunder atau penyembuhan disertai granulasi (Robbins *et al.*, 2007).

#### a. Penyembuhan Luka Primer

Penyembuhan luka primer adalah penyembuhan yang terjadi setelah diusahakan bertautnya tepi luka, biasanya dengan jahitan, plester, *skin graft*, atau flap. Luka-luka yang bersih sembuh dengan cara ini, misalnya luka karena operasi, dan luka kecil yang bersih.



Gambar 2.1 Gambaran fase penyembuhan luka. Dari gambar didapatkan bahwa Serabut kolagen mulai terbentuk pada hari ke-3 dan meningkat drastis setelah minggu ke-2 (Robbins *et al.*, 2007)

Penyembuhan luka primer berlangsung dalam tiga fase, yaitu:

#### 1) Fase Inflamasi

Fase ini berlangsung sejak terjadinya luka sampai kira-kira hari ketiga. Dalam fase ini terjadi akumulasi sel-sel radang pada daerah yang terluka yang disebabkan oleh respon vaskuler dan seluler. Pada fase vaskuler, pembuluh darah yang robek akan menyebabkan perdarahan dan tubuh akan mencoba menghentikannya melalui vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh darah yang putus, dan reaksi homeostasis. Pada fase ini terjadi aktivitas seluler yaitu dengan pergerakan leukosit menembus dinding pembuluh darah (diapedesis) menuju luka karena daya kemotaksis. Leukosit mengeluarkan enzim hidrolitik yang membantu bakteri dan debris pada luka (Sugiama, 2011).

Beberapa jam setelah luka, terjadi invasi sel inflamasi pada jaringan luka. Sel *polimorfonuklear* (PMN) bermigrasi menuju daerah luka dan setelah 24-48 jam terjadi transisi sel PMN menjadi sel *mononuklear* atau makrofag yang merupakan sel paling dominan pada fase ini selama lima hari dengan jumlah paling tinggi pada hari kedua sampai hari ketiga. Makrofag akan mengeluarkan mediator inflamasi *Transforming Growth Factor beta 1* (TGF  $\beta_1$ ). Adanya TGF  $\beta_1$  akan mengaktifasi fibroblas untuk mensintesis kolagen (Perdanakusuma, 2007).

Pada fase ini, luka hanya dibentuk oleh jalinan fibrin yang sangat lemah. Setelah proses inflamasi selesai, maka akan dimulai fase proliferasi pada proses penyembuhan luka (Sugiama, 2011).

#### 2) Fase Proliferasi

Fase ini terjadi pada hari ke 3 – 21. Untaian benang fibrin yang berasal dari koagulasi darah yang bersilang pada luka membentuk anyaman di mana fibroblas akan menyusun substansi dasar dan tropokolagen. Fibroblas berubah lokalis membentuk matriks ekstraseluler dan mulai memproduksi tropokolagen pada hari ke-3 atau ke- 4 setelah perlukaan (Peterson, 2003). Fibroblas menyimpan tropokolagen yang nantinya digunakan untuk memproduksi kolagen. Keberadaan serabut kolagen yang cukup diperlukan dalam penyembuhan luka, banyak faktor pertumbuhan yang mengatur proliferasi fibroblas yang juga berperan serta dalam sintesis kolagen. Pembentukan kolagen diinduksi oleh sejumlah molekul meliputi

faktor pertumbuhan seperti *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) maupun TGF  $\beta$ 1. TGF  $\beta$ 1 adalah sitokin yang mempunyai multifungsi, yaitu antara lain menstimulasi pembentukan pembuluh darah, sintesis matriks ekstraseluler, pertumbuhan sel, dan juga migrasi sel (Robbins *et al.*, 2007).

Proses produksi kolagen dimulai setelah aktivasi sel-sel fibroblas yaitu mulai minggu perama dan meningkat drastis pada minggu ke-2 sampai ke-3 (Gambar 2.1). Proses ini banyak bergantung pada vaskularisasi di daerah luka. Terbentuknya serabut kolagen yang matang akan menyebabkan peningkatan kekuatan luka terhadap regangan (Lawler *et al.*, 1992). Secara klinis luka pada akhir tahap fibroplastik akan kaku karena jumlah kolagen yang berlebih, dan kemerahan atau *erythematous* karena tingkat vaskularisasi yang tinggi dan mampu menahan tekanan 70-80% kekuatan jaringan tanpa perlakuan atau jaringan normal.

### 3) Fase maturasi / remodelling

Fase maturasi dimulai hari ke-21 dan berakhir 1-2 tahun setelah pembedahan. Fibroblas terus mensintesis kolagen. Kolagen menjalin dirinya, menyatukan dalam struktur yang lebih kuat. Bekas luka akan terlihat masih besar sampai benang-benang kolagen membentuk posisi yang lebih ketat yang akan mereduksi bekas luka tetapi memperkuat luka itu sendiri.

Kekuatan maksimum yang dibentuk kolagen akan terjadi setelah 10 sampai 12 minggu tetapi tidak pernah mencapai kekuatan jaringan semua sebelum terjadinya luka. Selain itu akibat hadirnya serat-serat kolagen pengganti jaringan yang rusak di daerah luka, maka penampilan daerah tersebut juga tidak akan bisa seperti semula sebab arah dan susunan serat kolagen tidak sama dengan jaringan semula. Hal tersebut akan meninggalkan bekas luka yang dikenal dengan jaringan parut.

### b. Penyembuhan Luka Sekunder

Penyembuhan sekunder berbeda dengan penyembuhan primer dalam beberapa hal:

- 1) Secara intrinsik, kerusakan jaringan yang luas mempunyai jumlah debris nekrotik, eksudat dan fibrin yang lebih besar yang harus disingkirkan. Akibatnya, reaksi radang menjadi lebih hebat dan berpotensi lebih besar mengalami cedera sekunder yang diperantarai radang.



- 2) Jaringan granulasi akan terbentuk dalam jumlah yang jauh lebih besar untuk mengisi kekosongan dalam stroma dan menyediakan kerangka pertumbuhan kembali epitel jaringan yang mendasari. Pada umumnya, jaringan granulasi yang lebih besar akan menghasilkan massa jaringan parut yang lebih besar.
- 3) Penyembuhan sekunder menunjukkan fenomena kontraksi luka. Fenomena tersebut dianggap berasal dari adanya miofibroblas, yaitu fibroblas yang diubah menunjukkan berbagai gambaran ultra-struktural dan fungsional sel otot polos kontraktil (Robbins *et al.*, 2007).

### 2.2.3 Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi

Proses penyembuhan luka pencabutan gigi pada dasarnya tidak berbeda dengan penyembuhan luka pada bagian tubuh lainnya. Adapun tahapan penyembuhan luka pasca pencabutan gigi menurut Wray *et al.* (2003) sebagai berikut:

- a. Segera setelah pencabutan gigi terjadi perdarahan pada soket gigi dan diikuti oleh terbentuknya bekuan darah. Dalam sehari pinggiran bekuan darah nampak terjadi oedema dan infiltrasi neutrofil PMN.
- b. Pada hari ke-2 sampai hari ke-4, aktivitas dimulai dari tepi bekuan darah, fibroblas, dan endotel masuk ke tengah dari tepi soket gigi. Proses ini diikuti oleh kegiatan sel-sel neutrofil, makrofag dan osteoklas untuk memusnahkan sel-sel nekrotik dan fragmen tulang.
- c. Pada hari ke-7, epitel akan tumbuh menutup permukaan soket gigi, diikuti penurunan jumlah sel radang dan disertai peningkatan jumlah jaringan ikat. Jaringan ikat yang baru terdiri dari sel-sel, kolagen dan serat-serat fiber.
- d. Pada hari ke-10 sampai ke-15, tepian soket gigi mulai terbentuk osteoid dan *immature bone*. Pada saat tersebut dimulai pembentukan osteoid dan jaringan tulang primer dari dasar soket menuju ke permukaan koronal luka, dan dari tepian soket menuju tengah soket.
- e. Pada minggu ke-3 hingga ke-6, trabekula tulang pada soket gigi telah terbentuk kemudian diisi dengan jaringan tulang sekunder dan diikuti pembentukan

jaringan tulang primer pada keseluruhan soket gigi sebagai parameter tercapainya kesembuhan luka pasca pencabutan gigi.

### 2.3 Antiinflamasi

Antiinflamasi adalah sebutan untuk agen atau obat yang bekerja menekan proses inflamasi dengan cara mengantagonis efek kimia yang dilepaskan oleh sel-sel imun, mengurangi proses inflamasi dengan melibatkan penghambatan fungsi imun atau menghambat enzim siklooksigenase (Dorland, 2012).

#### 2.3.1 Mekanisme Kerja Antiinflamasi

Mekanisme kerja obat antiinflamasi dibedakan menjadi dua golongan yaitu:

##### a. Antiinflamasi Golongan Steroid

Obat antiinflamasi golongan steroid bekerja dengan menghambat kerja enzim fosfolipase sehingga mencegah pelepasan mediator proses inflamasi seperti asam arakhidonat yang mengakibatkan terhambatnya sintesis prostaglandin dan leukotrien. Selain menghambat pelepasan asam arakhidonat obat golongan steroid juga menghambat *tumor nekrosis factor* (TNF) dan *interleukin-1* (IL-1). Pada proses inflamasi IL-1 mempunyai peran penting dalam menstimulasi limfosit T, proliferasi fibroblas dan kemotraktan leukosit.

Dalam bidang medis obat ini digunakan untuk menekan gejala klinis pada proses inflamasi yang disebabkan aktivitas fagositosis, edema, dilatasi kapiler dan migrasi leukosit selain itu obat ini juga menyebabkan terjadinya perubahan-perubahan lanjutan akibat inflamasi seperti proliferasi fibroblas dan kolagen serta proliferasi kapiler (Mansjoer, 2003).

##### b. Antiinflamasi Golongan Non-steroid

Mekanisme kerja obat antiinflamasi golongan non-steroid dapat dijelaskan dengan mengikuti alur biosintesis prostaglandin oleh asam arakhidonat. Prostaglandin adalah kelompok senyawa turunan asam lemak prostanoat sedangkan asam arakhidonat adalah prazat terpenting untuk mensintesis prostaglandin. Pada proses inflamasi terdapat dua jalur utama reaksi-reaksi yang dijalani oleh asam arakhidonat pada metabolismenya, yaitu jalur siklooksigenase yang bermuara pada

prostaglandin, prostasiklin, dan tromboksan serta jalur liposgenase yang menghasilkan leukotrien (Emran, 2002).

Obat antiinflamasi golongan nonstreoid bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase (COX) sehingga pembentukan asam arakhidonat menjadi prostaglandin terganggu. Karena prostaglandin berperan penting pada timbulnya nyeri, demam, dan reaksi peradangan maka obat antiinflamasi nonsteroid melalui penghambatan aktivitas enzim siklooksigenase, mampu menekan gejala-gejala tersebut (Emran, 2002).

#### 2.4 Alvogyl®

Alvogyl® digunakan sebagai *dressing agent* pasca ekstraksi yang terdiri dari eugenol (analgesik, antiinflamasi), idodoform (antimikroba), dan butamen (anestesi) (Kaya *et al.*, 2011). Aktivitas eugenol sebagai antiinflamasi memiliki efek dengan memblokir pelepasan sitokin proinflamatori *Nitric Oxide* (NO), interleukin 1-  $\beta$  (IL 1-  $\beta$ ), dan *tumor necrosis factor* yang diproduksi oleh LPS makrofag dan menghambat COX, enzim yang bertanggung jawab terhadap sintesis prostaglandin (Pavithra, 2014). Konsistensi dari Alvogyl® adalah pasta sehingga memudahkan pengisian pada soket dan perlekatannya bagus selama proses penyembuhan luka (Gambar 2.2).



Gambar 2.2 Alvogyl® sebagai *dressing agent* pasca ekstraksi (punjab-pk.all.biz)



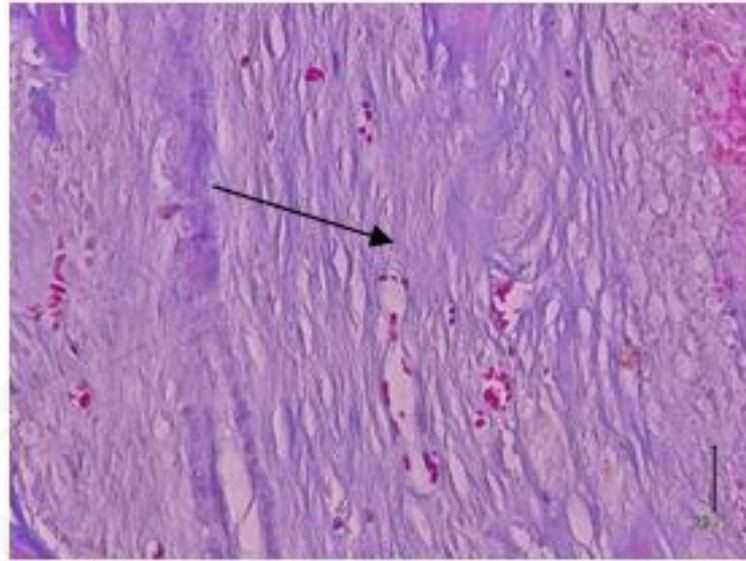
## 2.5 Kolagen

### 2.5.1 Pengertian Kolagen

Serat kolagen (*Fibra collageni*) adalah protein fibrosa tebal kuat yang tidak bercabang dan merupakan protein terbesar dalam tubuh manusia, yaitu sebanyak 30% yang berasal dari berat keringnya (Eroschenko, 2010). Kolagen berfungsi untuk memperkuat dan mendukung jaringan ekstraseluler, tersusun dari asam amino dan hidrosiprolin yang berperan sebagai unsur biokimia jaringan kolagen (Robbins *et al.*, 2007). Dalam tubuh manusia, kolagen merupakan sekelompok protein struktural yang dimodifikasi secara bervariasi dalam hal derajat kekakuan, kekenyalan, dan kekuatannya, bergantung pada pengaruh lingkungan dan kebutuhan fungsional organ yang bersangkutan. Kolagen juga merupakan salah satu komponen matriks jaringan penyambung yang juga berperan dalam pertahanan organisme sebagai barrier fisik, yaitu mencegah penyebaran mikroorganisme yang berhasil menembus epitel (Junqueira dan Carneiro, 2007).

### 2.5.2 Struktur dan Macam Kolagen

Serabut kolagen memiliki struktur tipis panjang dengan berbagai diameter yang berkisar antara 20-90 nm dan panjangnya dapat mencapai beberapa mikrometer. Serabut ini bergurat melintang dengan periodisitas khas selebar 64 nm. Guratan melintang dari serabut kolagen disebabkan oleh susunan tumpeng tindih dari molekul tropokolagen. Kolagen terbentuk dari beberapa asam amino seperti glisin (33,5%), prolin (12%), dan hidrosiprolin (10%) (Junqueira dan Carneiro, 2007). Pada sediaan histologi, kolagen terpulask merah muda dengan eosin, biru dengan *Trichrome Mallory*, dan hijau dengan pulask *Trichrome Masson* (Fawcett, 2002).



Gambar 2.3 Serat kolagen dengan warna biru dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* perbesaran 400x (Prihandana, 2014)

Terdapat 12 macam tipe kolagen yang telah ditetapkan menurut Fawcett (2002), yaitu:

- a. Tipe I, merupakan kolagen yang banyak terdapat di mana-mana, misalnya di dermis, tulang, tendo, fascia dan sampai organ. Diameter serabut ini antara 50-90 nm, beragregasi membentuk serat dan berkas dengan berbagai ukuran. Seratnya fleksibel namun tahan terhadap regangan.
- b. Tipe II, terdapat dalam tulang rawan hialin dan elastis. Kolagen ini berupa serabut sangat halus terbenam dalam banyak substansi dasar.
- c. Tipe III, banyak terdapat pada jaringan ikat longgar, dinding pembuluh darah, stroma bagian kelenjar, limpa, ginjal dan uterus. Kolagen tipe I, II, dan III akan membentuk serat yang tampak pada mikroskop dan disebut dengan kolagen interstisial.
- d. Tipe IV, terdapat pada lamin basal epitel dengan bentukan khusus. Bersama laminin dan proteoglikan heparin sulfat membentuk rapat filamen halus yang menyokong fisik dari epitel dan sawar filtrasi selektif bagi makromolekul.
- e. Tipe V, tersebar luas tetapi hanya dalam jumlah kecil. Berhubungan dengan lamin sel otot dan pembuluh darah.

- f. Tipe VI, merupakan molekul rantai pendek yang terdiri dari segmen tripel heliks sepanjang 100 nm dengan *endomain globular* pada kedua ujungnya. Terdapat dalam jumlah kecil pada ginjal, hati, dan uterus.
- g. Tipe VII, terdapat banyak pada batas dermis dan epidermis dengan molekul terbesar dari *family* kolagen yaitu mencapai panjang  $\pm 800$  nm.
- h. Tipe VIII, ditemukan pada produk sekresi sel endotel dan kadang-kadang disebut kolagen endotial. Berhubungan erat dengan permukaan sel namun manfaatnya masih belum jelas.
- i. Tipe IX, terdapat dalam tulang rawan. Kolagen ini mendampingi serat kolagen tipe II dalam matriks yang berfungsi sebagai pengikat pada tempat pertemuan.
- j. Tipe X, juga terdapat pada tulang rawan dan ditemukan dalam matriks mengelilingi kondrosit hipertrofi yang terlibat dalam pembentukan tulang endokondral serta diduga mengawali klasifikasi matriks.
- k. Tipe XI, berhubungan dengan kolagen tipe II dalam tulang rawan, namun belum diketahui secara jelas mengenai fungsinya.
- l. Tipe XII, tipe ini baru saja ditemukan menyerupai kolagen tipe IX, namun masih sedikit diketahui baik lokasi dalam jaringan maupun fungsinya.

## 2.6 Biji kakao

Tanaman kakao (*Theobroma cacao* Linn.) merupakan keturunan dari *genus Theobroma*, salah satu kelompok kecil tanaman yang berasal dari hulu sungai Amazon dan daerah-daerah tropikal lain di Amerika Tengah serta Amerika Selatan (Gambar 2.4). Terdapat lebih dari 20 *species* dalam *genus* ini, tetapi hanya *Theobroma Cacao* yang dibudidayakan dan memberikan nilai ekonomis (Wood, 1975).



Gambar 2.4 Tanaman Kakao (<http://eol.org/pages/484592/overview>)

Taksonomi tanaman kakao adalah sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Division</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Class</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Sub-class</i>	: <i>Dilleniidae</i>
<i>Order</i>	: <i>Malvales</i>
<i>Family</i>	: <i>Sterculiaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Theobroma</i>
<i>Species</i>	: <i>Theobroma cacao</i> L.

### 2.6.1 Morfologi Tanaman Kakao

Menurut Sunanto (1992), secara umum tanaman kakao terdiri dari beberapa bagian, yaitu batang, daun, bunga, akar, buah, dan biji. Masing-masing bagian memiliki karakteristik (morfologi) dan fungsi (fisiologi) tertentu, yaitu:

#### a. Batang dan cabang

Tanaman kakao memiliki sifat dimorfisme, yaitu memiliki dua bentuk tunas vegetatif. Tunas yang arah pertumbuhannya ke atas disebut tunas ortotrop, sedangkan yang arah pertumbuhannya ke samping disebut plagiotrop, cabang kipas atau *fan*. Pada pertumbuhannya yang berasal dari biji, akan terbentuk perempatan (jorket) pada pertumbuhan vertikalnya. Jorket merupakan tempat perubahan pola percabangan, yakni dari tipe ortotrop ke plagiotrop.



#### b. Daun

Bentuk helai daun pohon kakao bulat memanjang, ujung daun meruncing, dan pangkal daun runcing. Susunan tulang daun menyirip dan tulang daun menonjol ke permukaan bawah helai daun. Tepi daun rata, daging daun tipis tetapi kuat. Warna daun dewasa hijau tua. Panjang daun dewasa 30 cm dan lebarnya 10 cm. Permukaan daun licin dan mengkilap

#### c. Akar

Kakao adalah tanaman dengan *surface root feeder*, artinya sebagian besar akar leteralnya mendatar berkembang dekat permukaan tanah, yaitu pada kedalaman 0-30 cm. Pertumbuhan akar sangat peka pada hambatan baik berupa batu, lapisan keras, maupun air tanah. Apabila selama pertumbuhan akar berbenturan dengan batu, akar akan membelah diri menjadi dua dan masing-masing tumbuh geosentris (mengarah ke dalam tanah). Apabila batu yang berbenturan terlalu besar, sebagian akar leteral mengambil alih fungsi akar tunggang dengan tumbuh ke bawah.

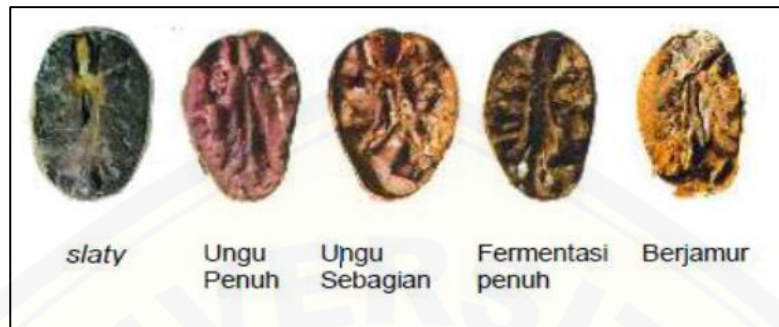
#### d. Bunga

Tanaman kakao bersifat kauliflori. Artinya, bunga tumbuh dan berkembang dari bekas ketiak daun pada batang dan cabang. Tempat tumbuh bunga tersebut semakin lama semakin membesar dan menebal atau biasa disebut dengan bantalan bunga. Pembungaan tanaman kakao sangat dipengaruhi oleh faktor dalam (internal) dan faktor lingkungan (iklim). Pada lokasi tertentu, pembungaan sangat terhambat oleh musim kemarau atau musim dingin. Namun, di lokasi yang curah hujannya merata sepanjang tahun serta fluktuasi suhunya kecil, tanaman akan berbunga sepanjang tahun.

#### e. Buah

Warna buah kakao sangat beragam, tetapi pada dasarnya hanya ada dua macam warna. Buah yang ketika muda berwarna hijau atau hijau agak putih, apabila sudah masak berwarna kuning. Buah yang ketika muda berwarna merah, setelah masak berwarna jingga. Di dalam kulit ari mengandung zat penghambat perkecambahan. Namun terkadang biji berkecambah di dalam buah karena terlambat dipanen sehingga kulit arinya menjadi terlalu kering. Pada tipe Criollo

dan Trinitario alur kelihatan jelas. Kulit buahnya tipis dengan permukaannya kasar dan lunak. Sebaliknya, pada tipe Forasero sering juga disebut sebagai kakao lindak, permukaan kulit buah pada umumnya halus (rata), kulitnya tebal.



Gambar 2.5 Biji Kakao (Hutasoit *et al.*, 2017)

#### f. Biji

Biji tersusun dalam lima baris mengelilingi poros buah (plasenta), dengan jumlah 20-50 biji. Jika dibelah melintang, biji terlihat tersusun dari dua kotiledon. Biji dibungkus oleh kulit ari yang berwarna putih dan rasanya pahit. Jenis kakao lindak merupakan jenis kakao yang banyak diusahakan di Kabupaten Jember. Adapun ciri dari biji kakao lindak adalah biji buahnya tipis/gepeng dan kotiledon berwarna ungu pada waktu basah (Gambar 2.5).

#### 2.6.2 Kandungan Kimia dan Khasiat Biji Kakao

Komponen dari biji kakao kebanyakan berupa polifenol mampu bertindak sebagai antioksidan. Senyawa-senyawa polifenol digunakan sebagai anti-diabetes, anti-arthritis, anti-viral, anti-fungal, anti-oksidan, antiinflamasi dan penyakit kardiovaskular. Polifenol melindungi sel-sel tubuh melawan kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas, dan mengaktifkan kembali atom-atom yang berkontribusi pada kerusakan jaringan tubuh.

Kelompok polifenol yang paling penting adalah asam fenol, termasuk struktur polimeriknya seperti tannin, lignan, silbene, dan flavonoid. Kandungan polifenol dan asam fenolik dalam biji kakao kering yang tidak difermentasi sekitar 12-18%. Senyawa polifenol lebih banyak didominasi oleh gugus flavonoid yang

terdiri dari kelompok *pronthocyanidin* sebanyak  $\pm 58\%$ , flavanol  $\pm 37\%$ , *anthocyanidin*  $\pm 4\%$  dan flavonol glikosida  $\pm 1\%$  (Tohawa, 2014).

Flavonoid merupakan salah satu subkelas dari polifenol dan termasuk dalam 7 kelompok utama. Flavonoid berperan sebagai anti-inflamasi. Flavonoid diketahui dapat meningkatkan viabilitas kolagen dengan cara meningkatkan kekuatan kolagen, meningkatkan sirkulasi, mencegah kerusakan sel, serta meningkatkan sintesis *Deoxyribonucleic acid* (DNA) (Novriansyah, 2008).

Selain itu tanaman kakao juga mengandung komponen seperti alanin, alkaloid, *alpha*-sitosterol, *alpha*-theosterol, amilase, arginin, asam askorbat, asam askorbat oksidase, asparaginase, *beta* karoten, kalsium, dopamin, fruktosa, glukosa, asam glutamat, leusin, asam linoleat, lipase, lisin, niasin, peroksidase, asam fenil asetat, fenilalanin fosforus, riboflavin, rutin, tanin, teobromin, tiamin, dan masih banyak lagi (Ide, 2008).

## 2.7 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu cara untuk menarik satu atau lebih zat dari bahan asal dengan menggunakan pelarut. Tujuan utama ekstraksi ini adalah untuk mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan (Syamsuni, 2006).

### 2.7.1 Cara dingin

#### a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

#### b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyairan sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat).



### 2.7.2 Cara panas

#### a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

#### b. Digesti

Digesti adalah maserasi dengan pengadukan kontinu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar yaitu 40-50 derajat Celsius.

#### c. Infus

Infus adalah ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperatur penangas air (benjana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 90 derajat Celsius) selama 15 menit.

#### d. Dekok

Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperature 90 derajat Celsius selama 30 menit.

#### e. Sokletasi

Sokletasi adalah metode ekstraksi untuk bahan yang tahan pemanasan dengan cara meletakkan bahan yang akan diekstraksi dalam sebuah kantung ekstraksi (kertas saring di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinu).

## 2.8 Metode Sediaan

Sediaan semisolida adalah bentuk sediaan farmasi yang bersifat semipadat termasuk di dalamnya adalah gel, krim, salep dan pasta.

### 2.8.1 Gel

Gel adalah suatu sediaan setengah padat yang terdiri dari suatu dispersi yang tersusun baik dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar dan saling diresapi cairan (DepKes RI, 1995). Gel dapat diberikan secara oral, topical, vaginal, dan rektal. Komponen utama gel terdiri dari basis gel dan pelembut, surfaktan, zat pengawet, zat aktif, pewarna, dan parfum (Mitsuii, 1997).

Bentuk gel mempunyai beberapa keuntungan diantaranya tidak lengket, gel mempunyai aliran tiksotropik dan presudoplastik yaitu gel berbentuk padat apabila

disimpan dan akan segera mencair bila dikocok, konsentrasi bahan pembentuk gel yang dibutuhkan hanya sedikit untuk membentuk massa gel yang baik, viskositas gel tidak mengalami perubahan yang berarti pada suhu penyimpanan (Lieberman, 1989). Selain itu, gel efektif terhadap penyembuhan luka soket bekas pencabutan gigi karena gel bersifat padat, lunak dan kenyal sehingga dalam pengaplikasiannya lebih mudah diletakkan dalam soket bekas pencabutan dan dapat bertahan lama dalam soket sampai pada saatnya masuk ke dalam proses penyembuhan luka (Zulfitri *et al.*, 2012).

#### 2.8.2 Krim

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Sediaan ini terdiri dari emulsi minyak dalam air atau disperse mikrokristal asam-asam lemak atau alkohol berantai panjang dalam air, yang dapat dicuci dengan air dan lebih ditujukan untuk penggunaan kosmetika dan estetika (Ditjen POM, 1995).

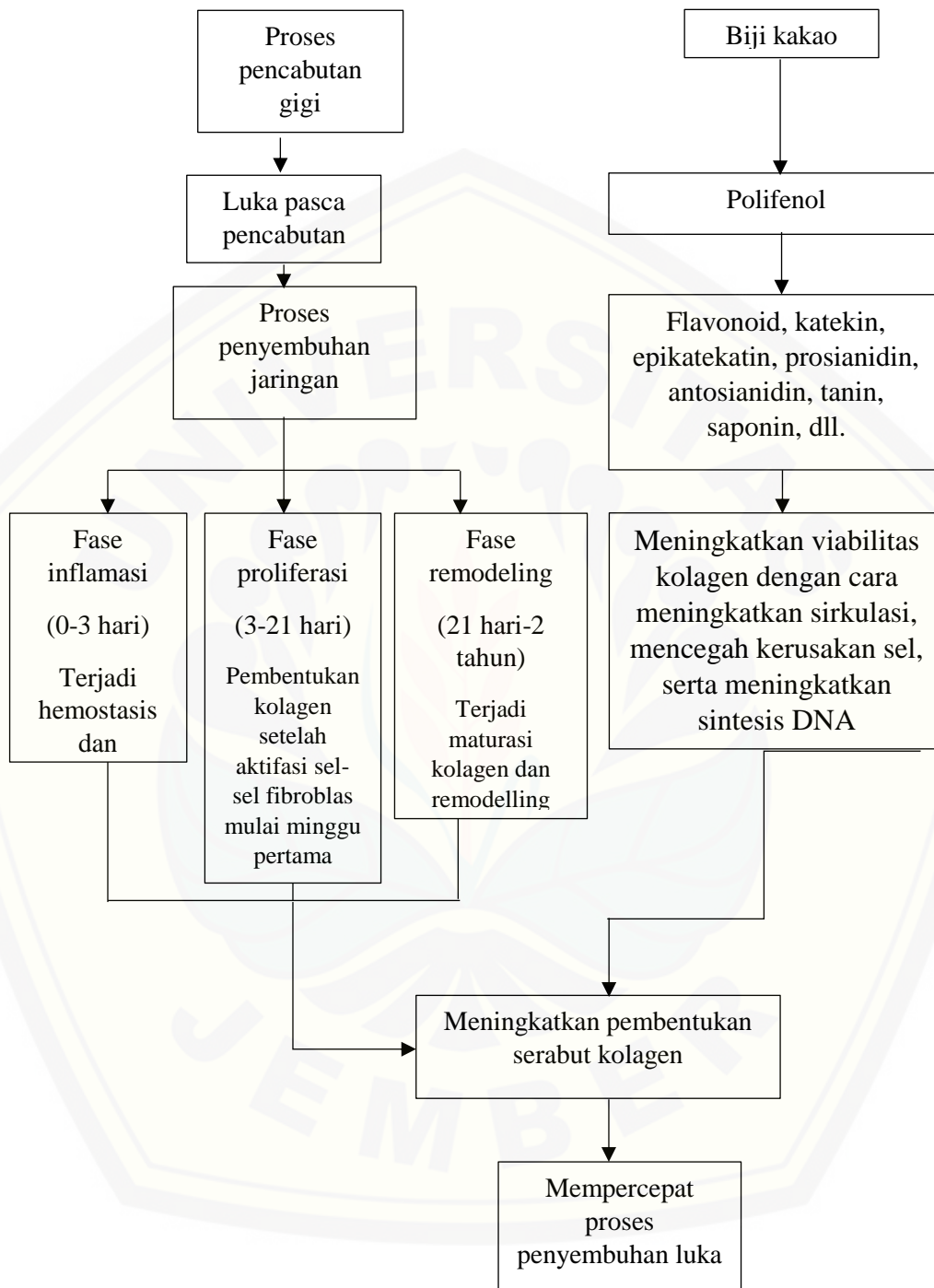
#### 2.8.3 Salep

Salep adalah sediaan setengah padat ditujukan untuk pemakaian setengah padat pada kulit atau selaput lendir. Salep pada prinsipnya digunakan untuk terapi lokal (Ditjen POM, 1995).

#### 2.8.4 Pasta

Pasta merupakan sediaan semipadat yang mengantung satu atau lebih bahan obat yang ditujukan untuk pemakaian topikal (DepKes RI, 1995).

## 2.9 Kerangka Konseptual



Gambar 2.6 Kerangka Konseptual

### 2.9.1 Keterangan Kerangka Konseptual

Pencabutan gigi merupakan salah satu tindakan dalam bidang kedokteran gigi yang bertujuan untuk melakukan pengambilan jaringan gigi dari rongga mulut dan merupakan tindakan yang dapat menimbulkan luka pada soket gigi (Rosanto *et al.*, 2012). Respon dasar terhadap adanya perlukaan atau kehilangan jaringan berupa penggantian bagian yang hilang tersebut melalui proses penyembuhan luka. Proses penyembuhan luka diawali dengan fase inflamasi, proliferasi dan remodeling.

Fase inflamasi merupakan reaksi tubuh terhadap luka berupa perdarahan, hemostasis, pembentukan bekuan, permukaan menjadi kering, dan membentuk keropeng yang dimulai setelah beberapa menit dan berlangsung sekitar 0-3 hari setelah cedera. Fase proliferasi ditandai dengan munculnya pembuluh darah baru sebagai hasil rekonstruksi (pembentukan pucuk kapiler dari angioblas, kolagen dari fibroblas, dan migrasi sel-sel epitel dari tepi luka di bawah keropeng menuju tengah luka) yang terjadi dalam waktu 3-21 hari. Fase remodeling merupakan tahap akhir proses penyembuhan luka berupa maturasi kolagen, kontaksi dan remodeling jaringan parut yang memerlukan waktu 21 hari-2 tahun bergantung pada kedalaman dan keluasan luka (Zuber *et al.*, 2013; Robbins *et al.*, 2007).

Gel ekstrak biji kakao diberikan sesaat setelah pencabutan luka. Telah diketahui bahwa kandungan yang terdapat dalam biji kakao meningkatkan viabilitas kolagen dengan cara meningkatkan kekuatan kolagen, meningkatkan sirkulasi, mencegah kerusakan sel, serta meningkatkan sintesis DNA (Novriansyah, 2008). Sehingga diharapkan gel ekstrak biji kakao dapat meningkatkan kepadatan serabut kolagen dalam penyembuhan luka jaringan lunak soket pasca pencabutan gigi.

### 2.10 Hipotesis

Pemberian gel ekstrak biji kakao pada penyembuhan luka jaringan lunak soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar efektif dalam peningkatan kepadatan serabut kolagen.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *experimental laboratories*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Post Test Only Control Group Designs* yaitu melakukan pengukuran setelah perlakuan diberikan, kemudian hasilnya dibandingkan dengan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2002).

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa tempat, yaitu:

- a. Kebun Raya Purwodadi LIPI Pasuruan untuk identifikasi spesimen pada tanaman Kakao.
- b. Laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak biji kakao.
- c. Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk pembuatan gel ekstrak biji kakao.
- d. Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk perlakuan terhadap hewan coba.
- e. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pembuatan preparat dan pengamatan jaringan.

#### 3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2017-Februari 2018.

### 3.3 Variabel Penelitian

#### 3.3.1 Variabel Bebas

Ekstrak gel biji kakao.

#### 3.3.2 Variabel Terikat

Kepadatan serabut kolagen pada proses penyembuhan luka pada hari ke-3 dan hari ke-7.



### 3.3.3 Variabel Terkendali

#### a. Hewan Coba

- 1) Tikus putih dengan jenis kelamin jantan strain *Wistar*
- 2) Tikus Wistar dengan berat 150-200 gram
- 3) Berusia 2-3 bulan
- 4) Tikus Wistar dengan keadaan umum baik

#### b. Tempat dan cara pemeliharaan

#### c. Cara pembuatan gel ekstrak biji kakao

#### d. Cara pemberian, waktu, dan dosis gel ekstrak biji kakao yang diberikan

#### e. Cara pengambilan jaringan luka

#### f. Cara pembuatan sediaan jaringan

#### g. Pengecatan sediaan

#### h. Cara pengamatan kepadatan serabut kolagen

## 3.4 Definisi Operasional Penelitian

### 3.4.1 Gel Ekstrak Biji Kakao

Gel ekstrak biji kakao adalah ekstrak yang terbuat dari biji kakao kering jenis lindak dengan karakteristik biji buahnya gepeng/tipis dan berwarna ungu penuh yang dipanen dari perkebunan desa Sidodadi, kecamatan Tempurejo Kabupaten Jember. Biji kakao kering dibuat serbuk, kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% hingga diperoleh hasil ekstrak. Selanjutnya ekstrak biji kakao tersebut dibuat sediaan gel dengan konsentrasi yang berbeda yaitu konsentrasi 8% dan 16% yang diberikan secara topikal pada sampel kelompok perlakuan.

### 3.4.2 Alvogyl®

Alvogyl® adalah *dressing agent* pasca ekstraksi dengan konsistensi pasta yang terdiri dari eugenol (analgesik, antiinflamasi), iodoform (antimikroba), dan butamen (anestesi) yang diaplikasikan dengan cara pasta dimasukkan ke dalam soket pasca pencabutan gigi dengan pinset steril.



### 3.4.3 Pencabutan Gigi Tikus Wistar

Pencabutan gigi adalah suatu proses pengeluaran gigi dari alveolus, di mana melibatkan jaringan keras dan jaringan lunak pada rongga mulut. Pencabutan gigi dilakukan pada gigi molar rahang bawah dengan menggunakan metode pencabutan sederhana. Tikus dianastesi menggunakan ketamin dengan dosis 0,04-0,08 ml kemudian selanjutnya difiksasi pada alat khusus untuk memudahkan pencabutan. Setelah tikus tidak sadar, pencabutan dapat dilaksanakan. Pertama menggunakan eskavator untuk membantu membuka perlekatan gingiva, kemudian eskavator kecil digunakan untuk mengungkit gigi dari soketnya dibantu dengan sonde setengah lingkaran yang digerakkan secara hati-hati untuk mencegah trauma berlebih dan pinset untuk mengetahui apakah gigi sudah mulai goyang atau belum. Kemudian setelah dirasa gigi sudah bebas dari perlekatan gingiva dan kegoyangan sudah maksimal, selanjutnya digunakan *arteri clamp* untuk mengeluarkan gigi dari soket.

### 3.4.4 Kepadatan Serabut Kolagen

Kepadatan serabut kolagen adalah gambaran mikroskopik serabut kolagen dengan warna biru yang terlihat pada sediaan yang dibuat dari soket atau jaringan granulasi pasca pencabutan dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* perbesaran 400x. Hasil pengamatan kemudian difoto menggunakan kamera *Optilab* dan dianalisis menggunakan *software Adobe Photoshop CS 6.0* untuk melihat jumlah *pixel* kolagen. Adanya titik-titik kecil pada elemen gambar disebut *pixel*. Jumlah kepadatan serabut kolagen didapat dari rata-rata jumlah *pixel* kolagen dalam 3 lapang pandang. Kemudian hasil dianalisis menggunakan program SPSS.

## 3.5 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar dengan jenis kelamin jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gram.

### 3.5.1 Besar Sampel

Besar sampel pada penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus sebagai berikut (Daniel, 2008).

$$n = \frac{Z^2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan:

n = besar sampel tiap kelompok

Z = nilai pada tingkat kesalahan tertentu, jika  $\alpha = 0.05$  maka nilai Z= 19,6

$\sigma$  = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang dapat ditoleransi

Berdasarkan perhitungan rumus di atas, maka jumlah sampel minimal yang didapatkan sebanyak 4 (Lampiran H). Sehingga besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4 sampel untuk setiap kelompok. Jadi, jumlah keseluruhan sampel adalah 32 ekor.

### 3.5.2 Kriteria Sampel

Kriteria sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Tikus putih dengan jenis kelamin jantan strain *Wistar*.
- b. Tikus *Wistar* dengan berat 150-200 gram.
- c. Berusia 2-3 bulan.
- d. Tikus *Wistar* dengan keadaan umum baik.

## 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

### 3.6.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini:

- a. Kandang tikus
- b. Timbangan/neraca (Ohaus)
- c. Tempat makan dan minum
- d. Sarung tangan/*handscone*
- e. Masker
- f. Sonde lambung
- g. Pinset berkerat kedokteran gigi (Dentica)
- h. Ekskavator (Dentica)

- i. Sonde setengah bulat (Dentica)
- j. *Arteri Clamp* (Yamaco)
- k. *Disposibble syringe* (One Med)
- l. Gelas Ukur (Pyrex)
- m. *Rotary evaporator* (Heppendorf)
- n. Lumpang dan alu
- o. Maserator
- p. Alat cetak *paraffin*
- q. Mikrotom (Leica)
- r. *Slide warmer* (Sakura)
- s. Oven
- t. *Waterbath*
- u. *Beaker glass* (Pyrex)
- v. Kaca objek/*object glass* (Slides)
- w. *Deck glass* (Maenzel-Glaser)
- x. Mikroskop Binokuler (Olympus photo slide BX51 with Cam DP71 12 mpx)
- y. Kamera Optilab<sup>®</sup>

### 3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah:

- a. Biji kakao
- b. Alvogyl<sup>®</sup>
- c. Gel Placebo
- d. Makanan standar untuk tikus Wistar
- e. *Aquadest* steril
- f. *Trichrome Mallory*
- g. Parafin
- h. Formalin
- i. Alkohol 80%, 95% , dan 100%
- j. Xylol
- k. Asam Formiat 10%

- l. Air
- m. Minyak emersi
- n. Larutan buffer
- o. Etanol 96 %
- p. *Meyer egg albumin*
- q. CMC-Na

### 3.7 Penghitungan Dosis

#### 3.7.1 Dosis Gel Ekstrak Biji Kakao

Penelitian Fuadi *et al.* (2015) menyatakan dosis gel ekstrak biji kakao dengan konsentrasi 8% dan 16% yang dapat diberikan kepada tikus dalam sehari adalah 0,5 gram dan 1 gram. Sebanyak 0,5 gram ekstrak gel biji kakao setara dengan 2,5 mg/200grBB dan 1 gram ekstrak gel biji kakao setara dengan 5 mg/200grBB (Lampiran I). Jadi dosis ekstrak gel biji kakao yang diberikan kepada tikus Wistar jantan adalah 2,5 mg/200grBB dan 5 mg/200grBB sehari sekali.

#### 3.7.2 Dosis Ketamin

Dosis anestesi ketamin yang digunakan pada tikus yaitu 20-40 mg/kg berat badan (Kusumawati, 2004). Berdasarkan perhitungan dosis ketamin yang digunakan adalah 0,04 – 0,08 ml (Lampiran I).

#### 3.7.3 Dosis Alvogyl<sup>®</sup>

Penentuan dosis Alvogyl<sup>®</sup> berdasarkan perusahaan dagang Septodont pada manusia adalah 0,20 gram.

Perhitungan:

Konversi dosis manusia (berat badan 70kg) ke tikus (berat badan 200 gram) = 0,018 (Lampiran K)

Dosis Alvogyl<sup>®</sup> pada manusia = 0,20 gram

Dosis Alvogyl<sup>®</sup> pada tikus = dosis Alvogyl<sup>®</sup> pada manusia x 0,018

= 0,20 gr x 0,018

= 0,0036 gr/ekor = 3,6 mg/ekor

Jadi dosis Alvogyl<sup>®</sup> yang diberikan kepada tikus Wistar jantan adalah 3,6 mg/ekor.

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba diadaptasikan selama 7 hari dalam kandang tertutup kawat kassa dan diberi makanan standar serta diberi minum. Hal ini bertujuan untuk memperoleh keseragaman sebelum dilakukan penelitian untuk mengontrol hewan coba.

#### 3.8.2 Pembuatan Ekstrak Biji Kakao

Sampel biji dibersihkan dari pulpa biji, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama  $\pm 24$  jam. Tahap selanjutnya, sampel yang telah kering ditumbuk kasar dan diangin-anginkan lagi sampai kering selama  $\pm 48$  jam, kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk biji kakao tersebut direndam dalam etanol 96% selama 24 jam. Proses ekstraksi biji kakao ini menggunakan pelarut etanol karena polifenol dari biji kakao bersifat polar dan relatif stabil pada kondisi larutan asam sehingga polifenol dalam biji kakao lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol. Larutan diaduk secara konstan dengan mesin maserasi kinetik selama 1 jam terlindung dari cahaya, kemudian disaring menggunakan kertas saring hingga diperoleh cairan berwarna coklat kemerahan yang ebbas dari partikel kasar. Filtrat kemudian dipekatkan dengan mesin *rotary evaporator* selama 2 jam untuk memisahkan solven dengan ekstrak biji kakao hingga diperoleh ekstrak yang pekat (Hafidhah *et al.*, 2017).

#### 3.8.3 Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao 8% dan 16%

Aquades 96 ml diukur dengan labu ukur dan dituangkan ke dalam lumpang. Kemudian 4 gram CMC-Na diukur dengan timbangan analitik ditaburkan ke dalam lumpang yang berisi aquades. Diamkan sekitar 10-15 menit, aduk hingga mengembang dan digerus hingga membentuk gel berwarna bening. Masukkan ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) ke dalam lumpang dan digerus homogen.



#### 3.8.4 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba tikus Wistar jantan sebanyak 32 ekor dibagi menjadi 4 kelompok I (kelompok kontrol negatif), kelompok II (kelompok kontrol positif), kelompok III (kelompok perlakuan 1) dan kelompok IV (kelompok perlakuan 2). Masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor tikus Wistar jantan. Pada seluruh kelompok dilakukan pencabutan gigi molar rahang bawah yang sebelumnya telah dilakukan anestesi.

- a. Kelompok I kontrol negatif, setelah dilakukan pencabutan gigi pada hewan coba diberi gel Placebo yang berisi bahan dasar gel yaitu CMC-Na tanpa diberi ekstrak sehari sekali sampai tikus Wistar dikorbankan:
  - 1) Pada hari ke-3, 4 ekor hewan coba didekaputasi, kemudian diambil bagian soket bekas pencabutan gigi molar rahang bawah, selanjutnya diproses untuk pembuatan sediaan jaringan.
  - 2) Pada hari ke-7, 4 ekor hewan coba didekaputasi, kemudian diambil bagian soket bekas pencabutan gigi molar, selanjutnya diproses untuk pembuatan sediaan jaringan.
- b. Kelompok II kontrol positif, setelah dilakukan pencabutan gigi pada hewan coba diberi Alvogyl<sup>®</sup> tanpa diberi ekstrak sehari sekali tikus Wistar dikorbankan:
  - 1) Pada hari ke-3, 4 ekor hewan coba didekaputasi, kemudian diambil bagian soket bekas pencabutan gigi molar rahang bawah, selanjutnya diproses untuk pembuatan sediaan jaringan.
  - 2) Pada hari ke-7, 4 ekor hewan coba didekaputasi, kemudian diambil bagian soket bekas pencabutan gigi molar rahang bawah, selanjutnya diproses untuk pembuatan sediaan jaringan.
- c. Kelompok III (P1), setelah dilakukan pencabutan gigi pada hewan coba diberi gel ekstrak biji kakao 8% sehari sekali tikus Wistar dikorbankan:
  - 1) Pada hari ke-3, 4 ekor hewan coba didekaputasi, kemudian diambil bagian soket bekas pencabutan gigi molar rahang bawah, selanjutnya diproses untuk pembuatan sediaan jaringan.
  - 2) Pada hari ke-7, 4 ekor hewan coba didekaputasi, kemudian diambil bagian soket bekas pencabutan gigi molar rahang bawah, selanjutnya diproses untuk pembuatan sediaan jaringan.



- d. Kelompok IV (P1), setelah dilakukan pencabutan gigi pada hewan coba diberi gel ekstrak biji kakao 16% sehari sekali tikus Wistar dikorbankan:
- 1) Pada hari ke-3, 4 ekor hewan coba didekaputasi, kemudian diambil bagian soket bekas pencabutan gigi molar anterior rahang bawah, selanjutnya diproses untuk pembuatan sediaan jaringan.
  - 2) Pada hari ke-7, 4 ekor hewan coba didekaputasi, kemudian diambil bagian soket bekas pencabutan gigi molar rahang bawah, selanjutnya diproses untuk pembuatan sediaan jaringan.

#### 3.8.5 Tahap Pembuatan Sediaan

Tahap pembuatan sediaan sebagai berikut:

- a. Pengambilan sampel sediaan.
- b. Pemotongan rahang bawah kiri tikus pada region posterior dengan melebihi jaringan yang diambil sepanjang 5 mm pada bagian mesial distal dari soket gigi. Untuk pembuatan preparat jaringan diambil dengan arah sagital agar bentuk soket dapat terlihat dengan jelas. Jaringan difiksasi dengan menggunakan larutan formalin 10% selama 12-18 jam untuk mencegah terjadinya autolisis, mempertahankan morfologi, dan mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri. Setelah difiksasi jaringan dicuci dengan air mengalir.
- c. Dekalsifikasi  
Dekalsifikasi dengan tujuan untuk melepaskan bahan anorganik dalam tulang tanpa merusak protein yang ada. Dekalsifikasi dilakukan dengan memakai larutan asam formiat 10% selama 7 hari.

#### d. Pemrosesan jaringan

Tahapan pemrosesan jaringan adalah sebagai berikut:

##### 1) Dehidrasi

Dehidrasi merupakan penarikan air dari dalam jaringan yang telah dimasukkan pada *embedding cassette* dengan menggunakan konsentrasi rendah ke tinggi. Tujuan dari dehidrasi untuk mengubah fase air menjadi minyak. Dehidrasi dimulai dengan alkohol 70% selama 15 menit, 80% selama 1 jam, 95% selama 2 jam, dan 100% selama 3 jam. Tujuan dari dehidrasi untuk pengubah fase air menjadi minyak.

##### 2) *Clearing*

*Clearing* merupakan proses penjernihan jaringan dari alkohol atau dehidran lain dalam jaringan agar dapat digantikan oleh molekul *paraffin*. Proses *clearing* menggunakan bahan *xylol* sebanyak 3 kali pada 3 tabung yang berbeda dengan ketentuan waktu 1 jam pada tabung pertama dan 2 jam pada tabung kedua dan ketiga.

##### 3) Impregnasi

Impregnasi merupakan proses infiltrasi bahan *embedding* ke dalam jaringan pada suhu 56-60 derajat Celsius. Caranya jaringan dibungkus dengan *embedding cassette* dimasukkan ke dalam bahan *embedding* yaitu *paraffin* TD 56-60 derajat Celsius selama 2x3 jam.

##### 4) *Embedding*

*Embedding* merupakan proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding* yaitu *paraffin*. Tahapan *embedding* ini antara lain:

- a) Mempersiapkan alat cetak blok *paraffin* (*base mould*), letakkan alat di atas permukaan yang rata. Alat dan alas dioleskan gliserin untuk mempermudah pemisahan alat cetak dan kaca dengan blok *paraffin* yang sudah beku.
- b) Menuangkan *paraffin* cair ke dalam alat cetak blok, kemudian masukkan jaringan yang telah diimpregnasi ditunggu beberapa menit sampai *paraffin* beku.
- c) *Paraffin* blok siap dipotong setelah dilepas dari alat cetakan.

### 5) Penyayatan

Penyayatan blok *paraffin* dengan menggunakan mikrotom. Sebelum penyayatan jaringan, alat yang perlu dipersiapkan antara lain *object glass* yang diolesi dengan *meyer egg albumin*. Tahapan penyayatan jaringan antara lain:

- a) Penyayatan menggunakan mikrotom, sebelumnya dibersihkan pisau mikrotom dengan kasa atau kertas saring yang dibasahi dengan *xylol* arah tegak lurus.
- b) Mengatur ketebalan sayatan mikrotom setebal 5  $\mu\text{m}$ .
- c) Mengambil sayatan yang telah diperoleh dengan kuas lalu letakkan di atas permukaan air *waterbath* dengan temperature tetap 56-58 derajat Celsius hingga sayatan mekar. Sayatan yang diambil oleh peneliti adalah sayatan yang terbaik dari potongan ke-5, ke-6 dan ke-7 setelah potongan yang sudah terlihat socket, gigi molar dua dan molar tiga untuk mendapatkan keseragaman.
- d) Mengambil sayatan yang sudah mekar dengan *object glass* yang diolesi dengan *meyer egg albumin*, dikeringkan dengan suhu 30-35 derajat Celsius minimal selama 12 jam (Syafriadi *et al.*, 2007).

### 3.8.6 Tahap Pewarnaan *Trichrome Mallory*

Tahapan pewarnaan dengan *Mallory* adalah sebagai berikut:

- a. Sediaan dilakukan deparafinasi dengan menggunakan larutan *clearing* yaitu sediaan dimasukkan ke dalam *xylol* dalam 3 wadah masing-masing selama 3 menit.
- b. Kemudian dilakukan rehidrasi yaitu sediaan dimasukkan ke dalam alkohol bertingkat (100%, 90%, 70%) masing-masing selama 3 menit dan kemudian dicuci dengan air mengalir.
- c. *Object glass* direndam ke dalam larutan *Mallory 1* yang berisi *acid fuchsine* 0,5 gram dan *aquades* 100 cc selama 3 menit kemudian dicuci dengan air mengalir.
- d. *Object glass* kemudian direndam ke dalam larutan *Mallory 2* yang berisi *Phosphomolibdic acid* 1 gram dan *aquades* 100 cc selama 5 menit kemudian dicuci dengan air mengalir.

- e. *Object glass* kemudian direndam ke dalam larutan *Mallory 3* yang berisi *aniline blue* 0,5 gram, *orange G* 2,0 gram, *oxalic acid* 1,0 gram dan *aquades* 100 cc selama 2 menit kemudian dicuci dengan air mengalir.
- f. Irisan jaringan dilakukan dehidrasi dengan alkohol bertingkat 70%, 95%, dan 100%, selanjutnya dikeringkan.
- g. Proses *clearing* pada jaringan dengan cara direndam dalam *xylol*, tiga kali dalam wadah yang berbeda masing-masing selama 3 menit.
- h. Proses *mounting* menggunakan *Canada balsam* dan ditutup dengan gelas penutup (Ardhiyanto, 2007).

### 3.8.7 Tahap Pengamatan dan Perhitungan Kepadatan Kolagen

Pengamatan preparat histologis dilakukan dengan mikroskop binokuler oleh tiga pengamat. Pertama-tama menentukan daerah soket menggunakan perbesaran 40x, selanjutnya menentukan daerah yang diamati yang dilihat pada daerah 1/3 apikal soket dari 3 lapang pandang dengan pola huruf V yaitu pada bagian kiri, tengah dan kanan menggunakan perbesaran 400x (Kurnia, 2015).

Hasil pengamatan kemudian difoto menggunakan kamera *Optilab*. Untuk menghitung serabut kolagen pada sediaan foto preparat, diamati dengan *Adobe Photoshop CS 6.0*. Aplikasi ini dapat mengukur luas serabut kolagen yang terbentuk, dengan cara membedakan serapan warna RGB (Red, Green, Blue). Warna serapan untuk serabut kolagen adalah *Blue* atau warna biru. Ketebalan serabut kolagen yang diteliti dapat dilihat dari jumlah *pixels* pada warna biru. Setelah setiap 3 lapang pandang dari setiap foto dihitung ketebalan serabut kolagennya, kemudian dihitung nilai rata-rata dari setiap kelompok perlakuan (Aulia, 2014). Perhitungan dilakukan dengan tujuan membandingkan gambaran histologis serabut kolagen antara kelompok kontrol dan perlakuan. Gambaran pada kelompok kontrol digunakan sebagai indikator menentukan ada tidaknya peningkatan pembentukan serabut kolagen.

### 3.8.8 Tahap Penggunaan *Software Adobe Photoshop CS 6.0*

Tahap pengukuran kepadatan kolagen menggunakan *software Adobe Photoshop CS 6.0* adalah sebagai berikut (Lampiran K):

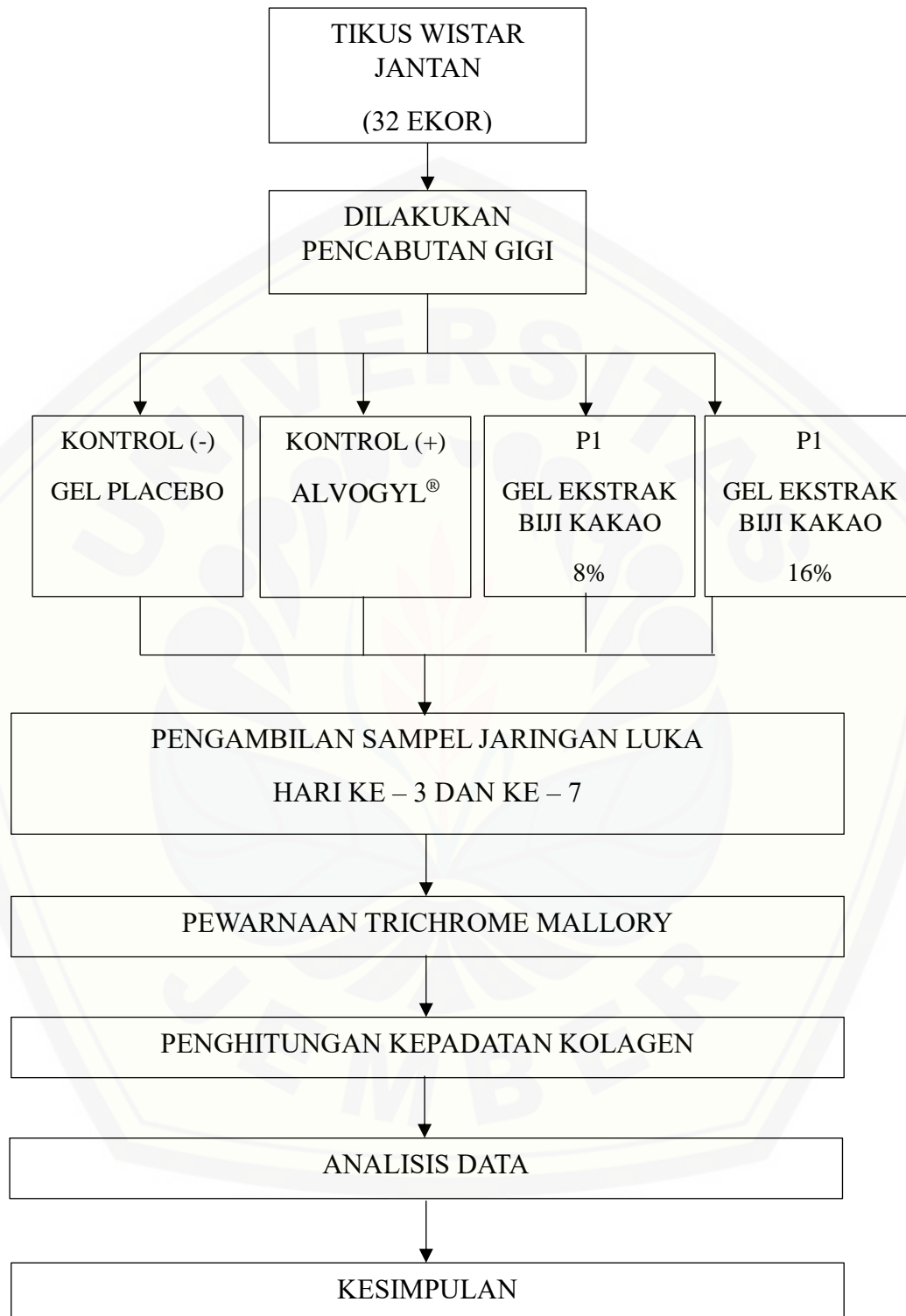
- a. Preparat difoto dengan kamera *Optilab* dengan perbesaran 400x. Foto-foto tersebut kemudian disimpan.
- b. Membuka program *Adobe Photoshop CS 6.0*.
- c. Buka file foto yang sudah disimpan.
- d. Klik menu *image*, pilih submenu histogram.
- e. Klik *channel Blue*, maka nilai *mean* akan tampak. Nilai *mean* ini merupakan jumlah titik atau *pixel* yang menandakan ketebalan serabut kolagen (warna biru) (Aini, 2014).

### 3.9 Analisis Data

Untuk menguji data yang diperoleh dari penelitian di atas peneliti menggunakan *software SPSS*. Data dianalisis dengan menggunakan metode statistik parametrik, yaitu uji *One-way Anova*. Kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc Least Significant Difference* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.



### 3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian gel ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan konsentrasi 8% dan 16% secara topikal efektif dalam meningkatkan intensitas serabut kolagen pada proses penyembuhan luka jaringan lunak soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar.

### 5.2 Saran

- 5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang hari pengamatan dari pemberian gel ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) selain hari pengamatan yang digunakan dalam penelitian.
- 5.2.2 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan gel ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) dalam membantu penyembuhan luka soket gigi melalui faktor penyembuhan lainnya seperti angiogenesis dan osteogenesis.
- 5.2.3 Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai pemberian aplikasi topikal yang lain dari pemberian gel ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) selain dengan menggunakan gel seperti yang digunakan dalam penelitian.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abdurrahmat, Asep S. 2014. Luka, peradangan dan pemulihan. *Jurnal Entropi*. 9(1): 72-73.
- Aini, S.Q. 2014. Pengaruh Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap Pembentukan Jaringan Granulasi pada Luka Bakar Tikus *Sprague dawley*. *Skripsi*. Jakarta: FKIK UIN Syarif Hidayatullah.
- Anggraini, N.D. 2014. Uji Toksisitas Subkronis Senyawa Asam 2-3-(Klorometil)Benzoiloksi)Benzoa pada Profil Darah dan Urin Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi*. Surabaya: Universitas Katolik Widya Mandala.
- Ardhiyanto, H.B. 2007. Proses penyembuhan luka post ekstraksi gigi. *Stomatognati*. 4(2): 60-65.
- Arifah, M. 2012. Potensi Asupan Susu Kambing Peranakan Ettawa dan Susu Sapi terhadap Jumlah Osteoblas Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar. *Skripsi*. Jember: FKG Universitas Jember.
- Ashari, Y., Istiati, dan E. Arijani. 2012. Pemberian salep ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap peningkatan kepadatan sabut kolagen pada mukosa oral marmut. *Oral Biology Dental Journal*. 4(2): 33-39.
- Aulia, A.F. 2014. Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap Pembentukan Jaringan Granulasi pada Luka Bakar Tikus *Sprague dawley*. *Skripsi*. Jakarta: FKIK UIN Syarif Hidayatullah.
- Bak, M.-J. V.L. Truong, H.S. Kang, M. Jun. dan W.S. Jeong. 2013. Anti-inflammatory effect of procyanidins from wild grape (*Vitis amurensis*) seeds in LPS-induced RAW 246.7 cells. *Hindawi*. 2013: 1-11.
- Christgau, M. 2004. Wound management and postoperative care. *Perio*. 1(4): 293-310.
- Coulthard, P., H. Keithm, S. Philip, dan D.T. Elizabeth. 2003. *Master Dentistry on Oral and Maxillofacial Surgery, Radiology, and Oral Medicine*. 1<sup>st</sup> ed. Manchester: Elsevier.

- Dani, FR. 2012. Potensi Ekstrak Umbi Teki (*Cyperus rotundus* L.) dalam Menurunkan Jumlah Limfosit Jaringan Granulasi Setelah Pencabutan Gigi Tikus Wistar Jantan. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Daniel, W. W. 2008. *Biostatic: A Foundation for Analysis in The Health Sciences*. 8<sup>th</sup> ed. Georgia Wiley.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid 1. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Ditjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi Keempat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dorland. 2002. *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*. Disadur Tim Penerjemah EGC. Edisi 29. Jakarta: EGC.
- Emran, R.K. 2002. *Perkembangan Obat Antiradang Bukan Steroid*. Bandung: Institut Teknik Bandung.
- Eroschenko, Victor P. 2010. *Atlas Histologi DiFiore*. Ed. 11. Jakarta: EGC.
- Fawcett, D.W. 2002. *Buku Ajar Histologi*. Ed. 12. Jakarta: EGC.
- Fuadi, M.I., U. Elfiah, dan Misnawi. 2015. Jumlah fibroblas pada luka bakar derajat II pada tikus dengan pemberian gel ekstrak etanol biji kakao dan silver sulfadiazine. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 3(2): 244-248.
- Garant, P.R. 2003. *Oral Cells and Tissues*. Chigago: Quintessence Publishing Co, Inc.
- Gottrup F., S.S. Jensen, dan J.O. Andreason. 2007. *Wound Healing Subsequent to Injury, Textbook and Color Atlas of Traumatic Injuries to the Teeth*. 4<sup>th</sup> ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltd.
- Hafidhah, N., R.F. Hakim, dan Fakhurrazi. 2017. Pengaruh ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis* pada berbagai konsentrasi. *Journal Caninus Dentistry*. 2(2): 92-96.
- Hapsari, Kunti. 2014. Efektivitas Salep Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria accuminata* Ait) terhadap Penyembuhan Luka Gingiva Melalui Pengamatan

Sel PMN (Polimorfonuklear). *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Hardadi, M., J. Maryono, dan N.W. Mariati. 2014. Gambaran tindakan pencabutan gigi tetap di puskesmas tinumbala kecamatan Aertembaga Kota Bitung tahun 2013. *Jurnal e-GiGi (eG)*. 2(1): 1-7.

Hidayat, T.S.N. 2013. Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera pada Penyembuhan Luka Bakar derajat Dua Dalam. *Skripsi*. Surabaya: Universitas Airlangga.

Howe, G.L. 1995. *Pencabutan Gigi Geligi*. Edisi II. Jakarta: EGC.

Hutasoit, N., P.T. Ina, dan I.D.G.M. Permana. 2017. *Optimasi pH dan Suhu pada Aktivitas Enzim Lipase dari Biji Kakao (Theobroma cacao L.) Berkapang*. Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Unviersitas Udayana.

International Cocoa Organization (ICCO). 2012. *International Cocoa Organization Quarterly Bulletin of Coca Statistics*. 38 (5): 331-346.

Ide, P. 2008. *Dark Choholate Healing Mengungkap Kasiat Coklat terhadap Sirkulasi Darah dan Imunotas Tubuh*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.

Imaniyah, F. 2013. Efek Pemberian Kurkumin terhadap Jumlah Sel Fibroblas pada Soket Gigi Tikus Pasca Pencabutan. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Junqueira, L.C. dan J, Carneiro. 2007. "*Basic Histology*". Disadur Jan Tambayong. *Histologi Dasar*. Edisi 10. Jakarta: EGC.

Kanzaki, T., N. Monsaki, R. Shina, dan Y. Saito. 1998. Role of transforming growth factor- $\beta$  pathway in the mechanism of wound healing by saponin from ginseng radix rubra. *British Journal of Pharmacology*. 125(2): 255-262.

Kaya, G.S., G. Yapict, Z. Savas, dan M. Güngörmüş. 2011. Comparison of *Alvogyl*<sup>®</sup>, *SaliCept* patch, and low-level laser therapy in the management of alveolar osteitis. *J Oral Maxillofac Surg*. 69(6): 1571-1577.

Kurnia, P.A. 2015. Potensi Ekstrak The Hijau (*Camellia sinensis*) Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Fibroblas Soket Pasca Pencabutan Gigi pada Tikus Wistar. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember



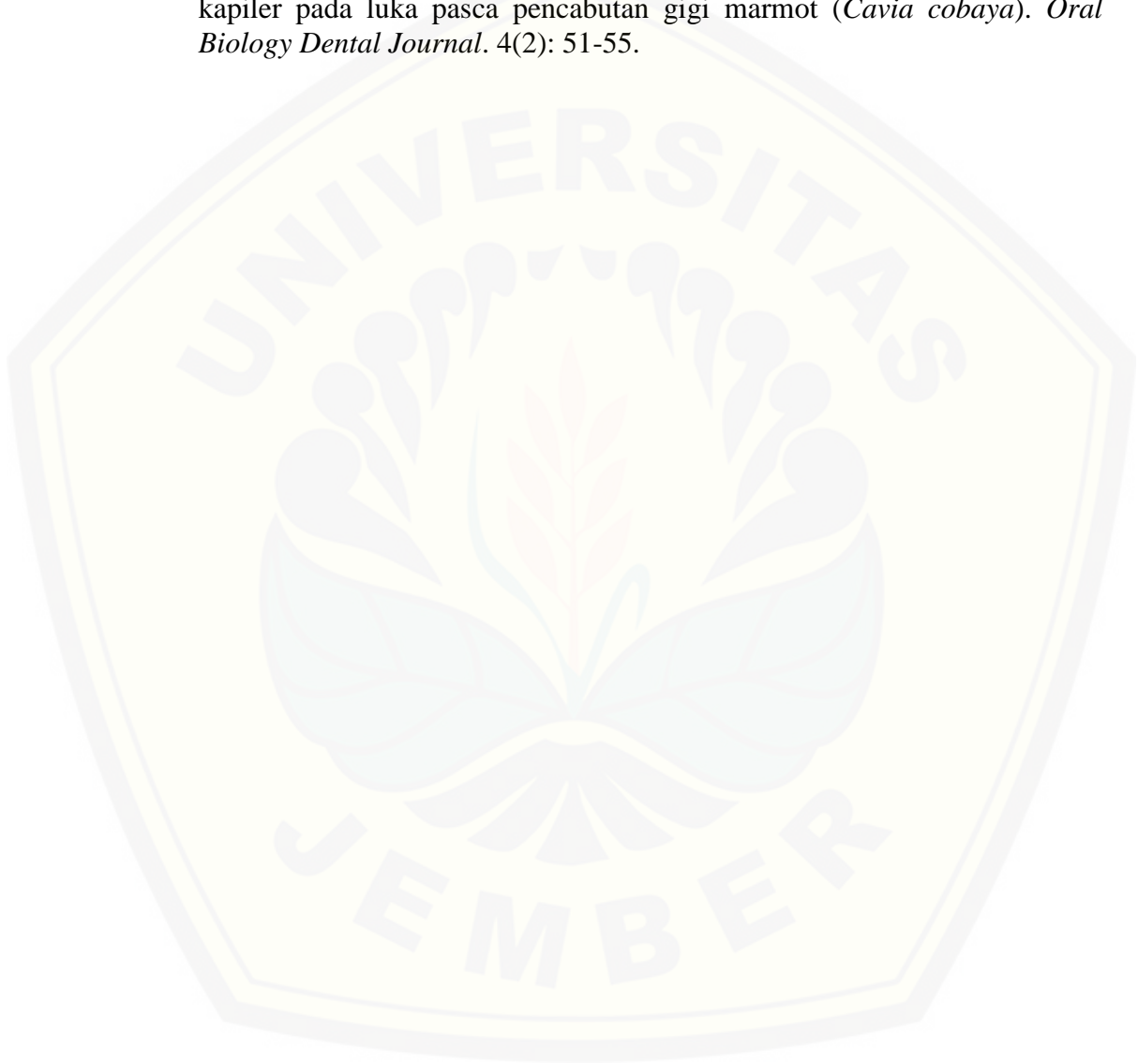
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Lande, R., B.J. Kepel, dan K.V. Siagian. 2015. Gambaran faktor risiko dan komplikasi pencabutan di RSGM PSPDG-FK UNSRAT. *Jurnal e-GiGi (eG)*. 3(2): 476-481.
- Laurence dan Bachrach. 1964. *Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics*. London: Academic Press.
- Lawler, W., A. Ahmed, dan J.W. Hume. 1987. *Essensial Pathology For Dental Student*. Terjemahan oleh Lilian Yuwono. 1992. *Buku Pintar Patologi Untuk Kedokteran Gigi*. Jakarta: EGC
- Lieberman, H.A. M.M. Rieger, dan G.S. Banker. 1989. *Pharmaceutical Dosage From: Disperse System*. 2<sup>nd</sup> Ed. New York: Marcel Dekker Inc.
- Mansjoer, S. 2003. *Mekanisme Kerja Obat Antiradang*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Mills S.E. 2007. *Histology for Pathologists*. 3<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Mitsui, T. 1997. *New Cosmetics Science*. Amsterdam: Elsevier.
- Naba'atin, I. M.A. Wahyukundari, dan H. Harmono. 2015. Penambahan ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) pada periodontal dressing terhadap kepadatan kolagen luka gingiva kelinci. *BIMKGI*. 3(2): 28-38.
- Notoatmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Novriansyah, Robin. 2008. Perbedaan Kepadatan Kolagen di sekitar Luka Insisi Tikus Wistar yang Dibalut Kasa Konvensional dan Penutup Oksklusif Hidrokolid selama 2 dan 14 Hari. *Tesis*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Pavithra, B. 2014. Eugenol-a review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 6(3): 153-154.
- Perdanakusuma, D.S. 2007. *Anatomi Fisiologi Kulit dan Penyembuhan Luka*. Surabaya: Airlangga University School of Medicine.

- Permatasari, N., Diah, dan M.P. Handayani. 2013. Efek jus belimbing (*Aveorrhoea carambola Linn.*) dalam meningkatkan pembentukan kolagen pada soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar. *Journal Prodentia*. 1(1): 7-14.
- Peterson, L.J. 2003. *Oral and Maxillofacial Surgery*. The C.V. Mosby Company. St. Louis.
- Pratidina, A.H. 2015. Tingkat Pengetahuan tentang Penjahitan Luka pada Mahasiswa Kepaniteraan Klinik di Departemen Bedah Mulut FKG USU Periode 8-31 Oktober 2014. *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Prihandana, I.G.M. 2014. Efek Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*) terhadap Pembentukan Serabut Kolagen pada Soket Gigi Tikus Wistar Pasca Pencabutan. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Raharyani, H.D., Istiati, dan R.P. Rahayu. 2015. Peran ekstrak gel daun melati (*Jasminum sambac*) dalam peningkatan sabut kolagen pada penyembuhan luka sayat pada mencit (*Mus musculus*). *Oral and Maxillofacial Pathology Journal*. 2(2): 13-18.
- Ranneh, Y., F. Ali, M. Al-Qubaisi, N. Mohd Esa, dan A. Ismail. 2016. The inhibitory activity of cocoa phenolic extract against pro-inflammatory mediators secretion induced by lipopolysaccharide in RAW 264.7 cells. *SpringerPlus*. 5(547): 1-10.
- Robbins, S.L., R.S. Cotran, dan V. Kumar. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Edisi ke-7. Jakarta: EGC.
- Rosanto, Y.B., J. Handajani, dan H. Susilowati. 2012. Efek pemberian gek getah batang tanaman pisang secara topikal terhadap kepadatan serabut kolagen pada proses penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi marmut. *Dentika Dental Journal*. 17(1): 34-39.
- Sabirin, I.P.R., A.M. Maskoen, dan B.S. Hernowo. 2013. Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar. *MKB*. 45(4): 226-233.
- Sari, S.A. 2012. Efektivitas Pemberian Vitamin C terhadap Aktivitas Osteoblas Pasca Pencabutan pada Tikus Wistar Jantan. *Skripsi*. Jember: FKG Universitas Jember.

- Sartini. 2013. Pemanfaatan Kakao Sebagai Sumber Bahan Aktif Pembantu Sediaan Farmasi (Obat dan Kosmetika) dan Suplemen Makanan. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Industri Kakao dan Hasil Perkebunan Lainnya*. Balai Besar Industri Hasil Perkebunan Kementerian Perindustrian.
- Selmi, C., T.K. Mao, C.L. Keen, H.H. Schmitz, dan M.E. Gershwin. 2006. The anti-inflammatory properties of cocoa flavanols. *Journal of Cardiovascular Pharmacol.* 47(2): 163-171.
- Soebiyanto, A. Endah, dan M. Djamri. 2014. Efektivitas infusa biji avokad (*Persea americana Mill.*) terhadap pertumbuhan polibakteri ulser recurrent aphthous stomatitis. *Oral Medicine Dental Journal.* 6(1): 79-84.
- Sugiaman, V.K. 2011. Peningkatan penyembuhan luka di mukosa oral melalui pemberian *Aloe Vera* (Linn.) secara topikal. *JMK.* 11(1): 70-79.
- Sunanto, H. 1992. *Coklat, Budidaya dan Pengolahan Hasil*. Yogyakarta: Kanisus.
- Syafriadi, M., B. Kusumawardani, D. Setyorini, dan R. Joelianto. 2007. *Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi: Degenerasi dan Radang*. Tidak Diterbitkan. *Buku Petunjuk Praktikum*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Syamsuni. 2006. *Ilmu Resep*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Wahyudi, S.T. 2008. Penguatan sektor-subsektor ekonomi dalam upaya peningkatan pembangunan ekonomi daerah. *Journal of Indonesian Applied Economics.* 2(1): 22-42.
- Toda, M., S. Okuba, Y. Hara, dan T. Shimamura. 1991. Antibacterial and bactericidal activities of tea extracts and catechins against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Jpn J Bacteriol.* 46(5): 839-845.
- Tohawa, Juniaty. 2014. Kandungan senyawa polifenol pada biji kakao dan kontribusinya terhadap kesehatan. *SIRINOV.* 2(1): 1-16.
- Wood, G.A.R. 1975. *Cocoa Tropical Agriculture*. 3<sup>rd</sup> Ed. London.
- Wray D., D. Stenhouse, D. Lee, dan A.J.E. Clark. 2003. *Textbook of General and Oral Surgery*. China: Churchill Livingstone.

Zuber, M., V. Rajesh, K. Anusha, C.R. Reddy, dan A. Tirupathi. 2013. Wound healing activity of ethanolic extract of allium sativum on alloxan induced diabetic rats family. *International Journal of Science Inventions Today*. 41(5): 218-220.

Zulfitri, A.M.I., Khoswanto, C., Istiati. 2012. Efek gel ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap jumlah sel fibroblas dan pembuluh darah kapiler pada luka pasca pencabutan gigi marmot (*Cavia cobaya*). *Oral Biology Dental Journal*. 4(2): 51-55.





LAMPIRAN

Lampiran A. Surat Keterangan *Ethical Clearance*



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER  
(THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH  
FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)

ETHIC COMMITTEE APPROVAL

No. 024/UN25.8/KEPK/DL/2018

Title of research protocol : "Respons Antiinflamasi Gel Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Terhadap Intensitas Kolagen Jaringan Lunak pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar"

Document approved : Research Protocol

Principal investigator : Nadia Farhatika

Member of research : -

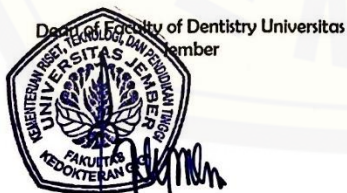
Responsible Physician : Nadia Farhatika

Date of approval : February 5<sup>th</sup>, 2018

Place of research : 1. Purwodadi Botanical Garden LIPI Pasuruan  
2. Bioscience Laboratory RSGM Universitas Jember  
3. Pharmaceutics Laboratory Pharmacy Faculty Universitas Jember  
4. Physiology Laboratory Faculty of Dentistry Universitas Jember  
5. Histology Laboratory Faculty of Dentistry Universitas Jember

The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember states that the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.

Jember, February 10<sup>th</sup>, 2018



(drg. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros)



(Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M. Si)



## Lampiran B. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN  
KEBUN RAYA PURWODADI**  
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046  
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**

No: 1780 /IPH.06/HM/XII/2017

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

No.	Nama	NIM :
1.	Zulfah Al-Faizah	141610101017
2.	Stefani Silvia Diany Asmara	141610101021
3.	Maqdisi Firdaus Ali	141610101071
4.	Nadia Farhatika	141610101014
5.	Nufsi Egi Pratama	141610101073

Intansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tanggal material

diterima : 4 Desember 20017

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Division : Magnoliophyta  
Class : Magnoliopsida  
Subclass : Dilleniidae  
Ordo : Malvales  
Family : Sterculiaceae  
Genus : Theobroma  
Species : *Theobroma cacao* L.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1963. Flora of Java Vol.I. NVP No ordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 408
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XIV
3. H.A.M. van der Vossen dan M. Wessel, tahun 2000, PROSEA ( Plants Resources of South-East Asia ) No 16; Stimulants, Hal.113

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 12 Desember 2017

An. Kepala

Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi tumbuhan



Budiarta, M.Sc, P.hD

## Lampiran C. Surat Keterangan Ekstraksi Biji Kakao



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 4165 /UN25.8.TL/2017  
Perihal : Ijin Penelitian


31 OCT 2017

Kepada Yth  
Direktur RSGM Universitas Jember  
Di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi program kreatifitas mahasiswa maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- |    |                       |   |  |
|----|-----------------------|---|--|
| 1  | Nama                  | : 1. Maqdisi Firdaus Ali<br>2. Nadia Farhatika<br>3. Nufsi Egi P<br>4. Zulfah Al Faizah<br>5. Stefany S.D             | 141610101071<br>141610101014<br>141610101073<br>141610101017<br>141610101021 |
| 2  | Semester/Tahun        | : 2017/2018   |  |
| 3  | Fakultas              | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |  |
| 4  | Alamat                | : Jl. Mastrip I No. 61 Jember   |  |
| 5  | Judul Penelitian      | : Uji Efek Analgesik Ekstrak Biji Kakao (Theobroma Cacao L.) Pada Mencit Jantan (Musculus) Yang Diinduksi Asam Asetal |  |
| 6  | Lokasi Penelitian     | : Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember   |  |
| 7  | Bahan yang dibutuhkan | : -   |  |
| 8  | Waktu                 | : November 2017 s/d Selesai   |  |
| 9  | Tujuan Penelitian     | : Pembuatan Ekstrak Biji Kakao  |  |
| 10 | Dosen Pembimbing      | : 1. drg. Pudji Astuti, M.Kes<br>2. drg. Yani Corvianindya R, M.KG  |  |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan  
Wakil Dekan I,  
  
Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes  
NIP.196109031986022001

## Lampiran D. Surat Keterangan Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 3747UN25.8.TL/2017  
Perihal : Pembuatan Gel

12 OCT 2017.

Kepada Yth  
Kepala Laboratorium Farmasetika  
Fakultas Farmasi Universitas Jember  
Di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin guna membuat gel bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- |    |                         |  |
|----|-------------------------|--|
| 1  | Nama                    | : Nadia Farhatika  |
| 2  | NIM                     | : 141610101014   |
| 3  | Semester/Tahun          | : 2017/2018  |
| 4  | Fakultas                | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 5  | Alamat                  | : Jln. Danau Toba VII No.222A , Jember   |
| 6  | Judul Penelitian        | : Respon Anti Inflamasi Gel Ekstrak Biji Kakao (Theobroma Cacao L) Terhadap Intensitas Kolagen Soket Pasca Pencabutan Gigi Pada Tikus Wistar |
| 7  | Lokasi Penelitian       | : Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember   |
| 8  | Data/alat yang dipinjam | : -  |
| 9  | Waktu                   | : Oktober 2017 s/d Selesai   |
| 10 | Tujuan Penelitian       | : Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao   |
| 11 | Dosen Pembimbing        | : 1. drg. Yani Corvianindya R, M.KG<br>2. drg. Budi Yuwono, M.Kes  |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan  
Wakil Dekan I,  
  
Dr. drg. IDA Susitawati, M.Kes  
NIP.196109031986022001



## Lampiran E. Surat Ijin Laboratorium Biomedik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 3932/UN25.8.TL/2017  
Perihal : Ijin Penelitian

19 OCT 2017

Kepada Yth  
Kepala Bagian Laboratorium Biomedik  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
Di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- |    |                         |  |
|----|-------------------------|--|
| 1  | Nama                    | : Nadia Farhatika  |
| 2  | NIM                     | : 141610101014   |
| 3  | Semester/Tahun          | : 2017/2018  |
| 4  | Fakultas                | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 5  | Alamat                  | : Jln. Danau Toba VII No.222A , Jember   |
| 6  | Judul Penelitian        | : Respon Anti Inflamasi Gel Ekstrak Biji Kakao (Theobroma Cacao L) Terhadap Intensitas Kolagen Soket Pasca Pencabutan Gigi Pada Tikus Wistar |
| 7  | Lokasi Penelitian       | : Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 8  | Data/alat yang dipinjam | : -  |
| 9  | Waktu                   | : Oktober 2017 s/d Selesai   |
| 10 | Tujuan Penelitian       | : Perlakuan Terhadap Hewan Coba  |
| 11 | Dosen Pembimbing        | : 1. drg. Yani Corvianindya R, M.KG<br>2. drg. Budi Yuwono, M.Kes  |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan  
Wakil Dekan I,  
  
Dr. drg. IDA Suslawati, M.Kes  
NIP. 196109031986022001

## Lampiran F. Surat Ijin Laboratorium Biomedik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 4647/UN25.8/TL/2017  
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth  
Kepala Bagian Laboratorium Biomedik  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
Di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan Ijin Penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- |    |                         |   |
|----|-------------------------|---|
| 1  | Nama                    | : Nadia Farhatika   |
| 2  | NIM                     | : 141610101014  |
| 3  | Semester/Tahun          | : 2017/2018   |
| 4  | Fakultas                | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember   |
| 5  | Alamat                  | : Jl. Danau Toba VII No. 222 A Jember   |
| 6  | Judul Penelitian        | : Respon Anti Inflamasi Gel Ekstrak Biji Kakao (Theobroma Cacao L.) Terhadap Intensitas Kolagen Pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar                     |
| 7  | Lokasi Penelitian       | : Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 8  | Data/alat yang dipinjam | : Mikrotom, mikroskop cahaya, object glass, dll   |
| 9  | Waktu                   | : November – 2017 Sd Selesai  |
| 10 | Tujuan Penelitian       | : Untuk Mengetahui Efektifitas Penggunaan Gel Ekstrak Biji Kakao Sebagai Anti Inflamasi Terhadap Intensitas Kolagen Pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar |
| 11 | Dosen Pembimbing        | : 1. drg. Yani Corvianindya R, M.KG.<br>2. drg. Budi Yuwono, M.Kes  |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan  
Wakil Dekan I,



Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes  
NIP.1961109031986022001



## Lampiran G. Surat Keterangan Pelaksanaan Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No.37 – Kampus Bumi Tegal Boto Jember 68121

**SURAT KETERANGAN**  
No: *014/Biomedik/IV/2018*

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed  
NIP : 198006032006042002  
Jabatan : Ketua Bagian Biomedik  
Institusi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dengan ini menerangkan bahwa :

Nama : Nadia Farhatika  
NIM : 141610101014  
Fakultas/Prodi : Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas : Universitas Jember

Yang bersangkutan telah melaksanakan penelitian di Laboratorium Histologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, terhitung bulan Nopember-Januari 2018 guna penulisan tugas akhir dengan judul: **“RESPON ANTI INFLAMASI GEL EKSTRAK BIJI KAKAO (*THEOBROMA CACAO L*) TERHADAP INTENSITAS KOLAGEN SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI PADA TIKUS WISTAR”**.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 11 April 2018  
Ketua Bagian Biomedik

  
(drg. Amandia Dewi P.S., M.Biomed)  
NIP. 198006032006042002

### Lampiran H. Perhitungan Besar Sampel

Besar sampel pada penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus sebagai berikut (Daniel, 2008).

$$n = \frac{Z^2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

n = besar sampel tiap kelompok

Z = nilai pada tingkat kesalahan tertentu, jika  $\alpha = 0.05$  maka nilai Z= 1,96

$\sigma$  = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang dapat ditoleransi

Pada penelitian ini nilai  $\sigma$  diasumsikan sama dengan nilai d ( $\sigma = d$ ), hal ini dikarenakan bahwa nilai  $\sigma^2$  jarang sekali diketahui. Maka hasil perhitungan besar sampel adalah sebagai berikut:

$$n = \frac{(1,96)^2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

$$n = (1,96)^2$$

$$n = 3,84 = 4$$

**Lampiran I. Perhitungan Dosis Gel Ekstrak Biji Kakao**

Penelitian Fuadi *et al.* (2015) menyatakan dosis gel ekstrak biji kakao dengan konsentrasi 8% dan 16% yang dapat diberikan kepada tikus dalam sehari adalah 0,5 gram dan 1 gram. Perhitungan dosis ekstrak gel biji kakao dalam satuan mg/grBB adalah sebagai berikut.

## a. Dosis dengan konsentrasi 8%

$$\begin{aligned}\text{Dosis yang digunakan} &= 0,5 \text{ gram} \times 1000 / \text{berat badan tikus} \\ &= 0,5 \text{ gram} \times 1000 / 200 \text{ gram} \\ &= 500 / 200 \\ &= 2,5 \text{ mg/ekor}\end{aligned}$$

## b. Dosis dengan konsentrasi 16%

$$\begin{aligned}\text{Dosis yang digunakan} &= 1 \text{ gram} \times 1000 / \text{berat badan tikus} \\ &= 1 \text{ gram} \times 1000 / 200 \text{ gram} \\ &= 1000 / 200 \\ &= 5 \text{ mg/ekor}\end{aligned}$$

**Lampiran J. Perhitungan Dosis Ketamin**

Dosis anestesi ketamin yang digunakan pada tikus yaitu 20-40 mg/kg berat badan (Kusumawati, 2004).

$$\begin{aligned}\text{Dosis yang digunakan} &= 20 - 40 \text{ mg/kg BB} \\ &= 20 - 40 \text{ mg} \times 200\text{g}/1000 \\ &= 20 - 40 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg} \\ &= 4-8 \text{ mg}\end{aligned}$$

Ketamin yang digunakan memiliki konsentrasi 100 mg/1 ml. Dosis ketamin yang dibutuhkan adalah:

$$\begin{aligned}\frac{1000 \text{ mg}}{\text{ml}} &= \frac{4 - 8 \text{ mg}}{X \text{ ml}} \\ X &= \frac{4 - 8}{100} \\ &= 0,04 - 0,08 \text{ ml.}\end{aligned}$$

Dosis ketamin yang digunakan berdasarkan perhitungan adalah 0,04 – 0,08 ml.

**Lampiran K. Tabel Konversi**

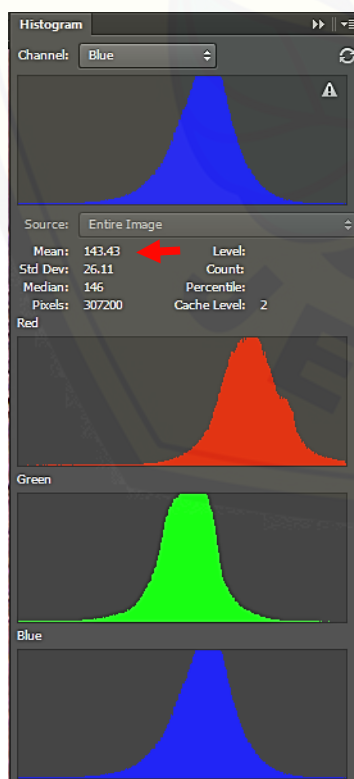
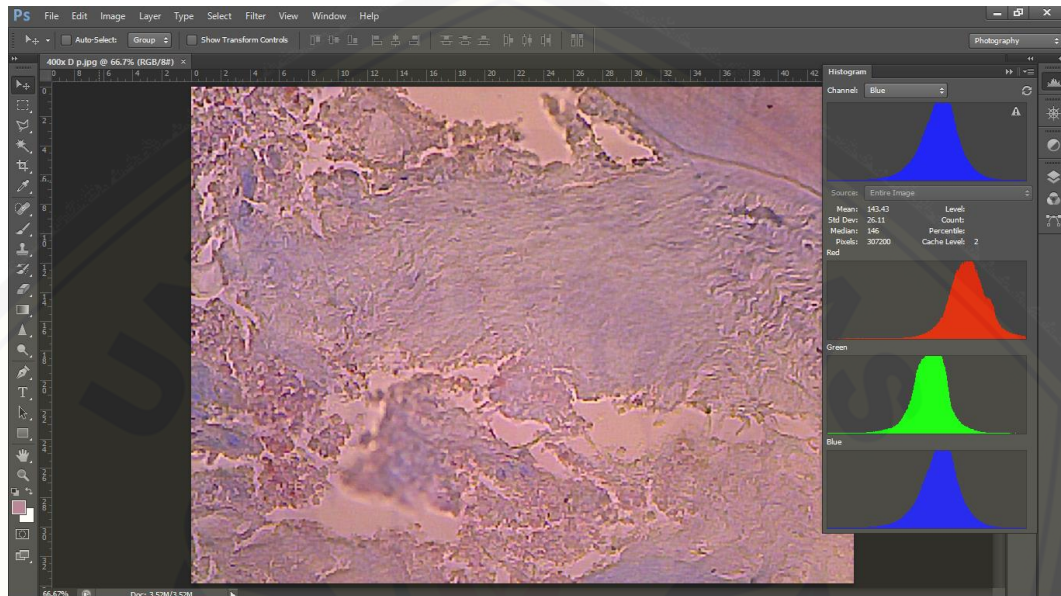
Tabel perbandingan luas permukaan hewan coba untuk konversi dosis (Laurence and Bacharach, 1964).

Dicari	Mencit (20 g)	Tikus (200 g)	Marmut (400 g)	Kelinci (1,5 kg)	Kera (4,0 kg)	Anjing (12,0 kg)	Manusia (70,0 kg)
Mencit (20 g)	<b>1,0</b>	<b>7,0</b>	<b>12,29</b>	<b>27,7</b>	<b>64,1</b>	<b>124,2</b>	<b>387,9</b>
Tikus (200 g)	<b>0,14</b>	<b>1,0</b>	<b>1,74</b>	<b>3,3</b>	<b>9,2</b>	<b>17,8</b>	<b>56,0</b>
Marmut (400 g)	<b>0,08</b>	<b>0,57</b>	<b>1,0</b>	<b>2,25</b>	<b>5,2</b>	<b>10,2</b>	<b>31,5</b>
Kelinci (1,5 kg)	<b>0,04</b>	<b>0,25</b>	<b>0,44</b>	<b>1,0</b>	<b>2,4</b>	<b>4,5</b>	<b>14,2</b>
Kera (4,0 kg)	<b>0,016</b>	<b>0,11</b>	<b>0,19</b>	<b>0,42</b>	<b>1,0</b>	<b>1,9</b>	<b>6,1</b>
Anjing (12,0 kg)	<b>0,008</b>	<b>0,06</b>	<b>0,10</b>	<b>0,22</b>	<b>0,52</b>	<b>1,0</b>	<b>3,1</b>
Manusia (70,0 kg)	<b>0,0026</b>	<b>0,018</b>	<b>0,031</b>	<b>0,07</b>	<b>0,16</b>	<b>0,32</b>	<b>1,0</b>



### Lampiran L. Pengukuran Intensitas Serabut Kolagen

Tahap pertama adalah membuka gambar histologi hasil dari aplikasi *Adobe Photoshop CS 6.0*. Kemudian dalam panel *Histogram* memilih *channel Blue* (warna biru) untuk melihat data histogram berupa *mean* dari jumlah piksel yang berwarna biru dengan skala nilai dari 0 sampai 255.



**Lampiran M. Data Hasil Penelitian**

Kelompok KN3 (Kontrol Negatif Placebo Hari Ke-3)

Tikus	Tempat	Pengamat			Rerata Pengamat	Rerata Tempat
		P1	P2	P3		
KN3-1	1/3 Apikal	146.03	146.03	146.03	146.03	147.57
	Mesial	145.07	145.07	145.07	145.07	
	Distal	151.61	151.61	151.61	151.61	
KN3-2	1/3 Apikal	144.12	144.12	144.12	144.12	147.36
	Mesial	151.37	151.37	151.37	151.37	
	Distal	146.86	146.86	146.86	146.86	
KN3-3	1/3 Apikal	150.30	150.30	150.30	150.30	145.55
	Mesial	141.71	141.71	141.71	141.71	
	Distal	144.65	144.65	144.65	144.65	
KN3-4	1/3 Apikal	145.28	145.28	145.28	145.28	146.78
	Mesial	151.14	151.14	151.14	151.14	
	Distal	143.94	143.94	143.94	143.94	
Rerata:						143.37

Kelompok KP3 (Kontrol Positif Alvogyl Hari Ke-3)

Tikus	Tempat	Pengamat			Rerata Pengamat	Rerata Tempat
		P1	P2	P3		
KP3-1	1/3 Apikal	140.61	140.61	140.61	140.61	142.75
	Mesial	140.94	140.94	140.94	140.94	
	Distal	149.32	149.32	149.32	149.32	
KP3-2	1/3 Apikal	148.84	148.84	148.84	148.84	147.28
	Mesial	144.65	144.65	144.65	144.65	
	Distal	149.32	149.32	149.32	149.32	
KP3-3	1/3 Apikal	150.34	150.34	150.34	150.34	146.47
	Mesial	142.08	142.08	142.08	142.08	

	Distal	147.00	147.00	147.00	147.00	
KP3-4	1/3 Apikal	146.51	146.51	146.51	146.51	148.30
	Mesial	149.56	149.56	149.56	149.56	
	Distal	148.82	148.82	148.82	148.82	
Rerata:						146.81

Kelompok GK8%3 (Kelompok Perlakuan Gel Ekstrak Biji Kakao 8% Hari Ke-3)

Tikus	Tempat	Pengamat			Rerata	Rerata Tempat
		P1	P2	P3	Pengamat	
GK8%3-1	1/3 Apikal	152.92	152.92	152.92	152.92	147.26
	Mesial	142.24	142.24	142.24	142.24	
	Distal	145.90	145.90	145.90	145.90	
GK8%3-2	1/3 Apikal	149.32	149.32	149.32	149.32	147.81
	Mesial	148.65	148.65	148.65	148.65	
	Distal	145.46	145.46	145.46	145.46	
GK8%3-3	1/3 Apikal	148.69	148.69	148.69	148.69	147.98
	Mesial	151.81	151.81	151.81	151.81	
	Distal	143.43	143.43	143.43	143.43	
GK8%3-4	1/3 Apikal	147.24	147.24	147.24	147.24	148.42
	Mesial	158.42	158.42	158.42	158.42	
	Distal	139.61	139.61	139.61	139.61	
Rerata:						147.86

Kelompok GK16%3 (Kelompok Perlakuan Gel Ekstrak Biji Kakao 8% Hari Ke-3)

Tikus	Tempat	Pengamat			Rerata	Rerata Tempat
		P1	P2	P3	Pengamat	
GK16%3-1	1/3 Apikal	151.39	151.39	151.39	151.39	148.48
	Mesial	151.61	151.61	151.61	151.61	

	Distal	142.43	142.43	142.43	142.43	
GK16%3-2	1/3 Apikal	141.97	141.97	141.97	141.97	147.47
	Mesial	151.11	151.11	151.11	151.11	
	Distal	149.32	149.32	149.32	149.32	
GK16%3-3	1/3 Apikal	151.11	151.11	151.11	151.11	148.08
	Mesial	138.06	138.06	138.06	138.06	
	Distal	155.06	155.06	155.06	155.06	
GK16%3-4	1/3 Apikal	148.51	148.51	148.51	148.51	149.05
	Mesial	151.61	151.61	151.61	151.61	
	Distal	147.03	147.03	147.03	147.03	
Rerata:						148.27

Kelompok KN7 (Kontrol Negatif Placebo Hari Ke-7)

Tikus	Tempat	Pengamat			Rerata Pengamat	Rerata Tempat
		P1	P2	P3		
KN7-1	1/3 Apikal	143.63	143.63	143.63	143.63	146.43
	Mesial	149.30	149.30	149.30	149.30	
	Distal	135.12	135.12	135.12	135.12	
KN7-2	1/3 Apikal	153.13	153.13	153.13	153.13	147.42
	Mesial	148.37	148.37	148.37	148.37	
	Distal	140.75	140.75	140.75	140.75	
KN7-3	1/3 Apikal	144.74	144.74	144.74	144.74	145.83
	Mesial	147.99	147.99	147.99	147.99	
	Distal	144.75	144.75	144.75	144.75	
KN7-4	1/3 Apikal	146.82	146.82	146.82	146.82	147.60
	Mesial	148.37	148.37	148.37	148.37	
	Distal	147.62	147.62	147.62	147.62	
Rerata:						146.82

## Kelompok KP7 (Kontrol Positif Alvogyl Hari Ke-7)

Tikus	Tempat	Pengamat			Rerata Pengamat	Rerata Tempat
		P1	P1	P2		
KP7-1	1/3 Apikal	148.18	148.18	148.18	148.18	147.81
	Mesial	148.28	148.28	148.28	148.28	
	Distal	146.96	146.96	146.96	146.96	
KP7-2	1/3 Apikal	143.71	143.71	143.71	143.71	148.21
	Mesial	144.97	144.97	144.97	144.97	
	Distal	155.96	155.96	155.96	155.96	
KP7-3	1/3 Apikal	142.36	142.36	142.36	142.36	146.83
	Mesial	147.90	147.90	147.90	147.90	
	Distal	150.21	150.21	150.21	150.21	
KP7-4	1/3 Apikal	144.20	144.20	144.20	144.20	147.73
	Mesial	141.81	141.81	141.81	141.81	
	Distal	152.18	152.18	152.18	152.18	
Rerata:						147.65

## Kelompok GK8%7 (Kelompok Perlakuan Gel Ekstrak Biji Kakao 8% Hari Ke-7)

Tikus	Tempat	Pengamat			Rerata Pengamat	Rerata Tempat
		P1	P2	P3		
GK8%7-1	1/3 Apikal	143.31	143.31	143.31	143.31	149.09
	Mesial	156.60	156.60	156.60	156.60	
	Distal	147.35	147.35	147.35	147.35	
GK8%7-2	1/3 Apikal	145.61	145.61	145.61	145.61	147.58
	Mesial	148.03	148.03	148.03	148.03	
	Distal	149.09	149.09	149.09	149.09	
GK8%7-3	1/3 Apikal	143.31	143.31	143.31	143.31	147.57
	Mesial	156.60	156.60	156.60	156.60	
	Distal	142.80	142.80	142.80	142.80	



GK8%7-4	1/3 Apikal	152.30	152.30	152.30	152.30	149.71
	Mesial	147.15	147.15	147.15	147.15	
	Distal	149.68	149.68	149.68	149.68	
Rerata:						148.23

Kelompok GK16%7 (Kelompok Perlakuan Gel Ekstrak Biji Kakao 16% Hari Ke-7)

Tikus	Tempat	Pengamat			Rerata	Rerata Tempat
		P1	P2	P3	Pengamat	
GK16%7-1	1/3 Apikal	141.15	141.15	141.15	145.86	148.04
	Mesial	143.55	143.55	143.55	147.84	
	Distal	150.43	150.43	150.43	150.43	
GK16%7-2	1/3 Apikal	146.31	146.31	146.31	146.31	149.76
	Mesial	150.20	150.20	150.20	150.20	
	Distal	136.15	136.15	136.15	152.78	
GK16%7-3	1/3 Apikal	142.29	142.29	142.29	142.29	147.02
	Mesial	148.99	148.99	148.99	148.99	
	Distal	143.19	143.19	143.19	149.77	
GK16%7-4	1/3 Apikal	147.99	147.99	147.99	150.71	148.89
	Mesial	149.29	149.29	149.29	149.29	
	Distal	146.67	146.67	146.67	142.74	
Rerata:						148.43

Keterangan: Ketebalan serabut kolagen dalam satuan pixel dihitung menggunakan aplikasi *Adobe Photoshop C.S. 6.0*.

## Lampiran N. Analisis Data

### N.1 Uji Normalitas

Tests of Normality				
	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
KepadatanKolagen	Placebo Hari Ke-3	.893	4	.397
	Alvogyl Hari Ke-3	.905	4	.456
	Kakao 8% Hari Ke-3	.916	4	.517
	Kakao 16% Hari Ke-3	1.000	4	.999
	Placebo Hari Ke-7	.908	4	.472
	Alvogyl Hari Ke-7	.909	4	.475
	Kakao 8% Hari Ke-7	.842	4	.200
	Kakao 16% Hari Ke-7	.995	4	.980
a. Lilliefors Significance Correction				

### N.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Kepadatan Kolagen			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.718	7	24	.152

### N.3 Uji *One way Anova*

ANOVA					
Kepadatan Kolagen					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.258	7	1.894	2.659	.035
Within Groups	17.096	24	.712		
Total	30.353	31			

N.4 Uji LSD (*Least Significant Difference*)**Multiple Comparisons**Dependent Variable: Kepadatan Kolagen  
LSD

Sampel berdasar kelompok	Sampel berdasar kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
					Placebo Hari Ke-3	Alvogyl Hari Ke-3
Placebo Hari Ke-3	Kakao 8% Hari Ke-3	-1.16000	.59680	.064	-2.3917	.0717
	Kakao 16% Hari Ke-3	-1.45500*	.59680	.023	-2.6867	-.2233
	Placebo Hari Ke-7	-.00500	.59680	.993	-1.2367	1.2267
	Alvogyl Hari Ke-7	-.83000	.59680	.177	-2.0617	.4017
	Kakao 8% Hari Ke-7	-1.67250*	.59680	.010	-2.9042	-.4408
	Kakao 16% Hari Ke-7	-1.61250*	.59680	.012	-2.8442	-.3808
	Alvogyl Hari Ke-3	Placebo Hari Ke-3	.43250	.59680	.476	-.7992
Kakao 8% Hari Ke-3		-.72750	.59680	.235	-1.9592	.5042
Kakao 16% Hari Ke-3		-1.02250	.59680	.100	-2.2542	.2092
Placebo Hari Ke-7		.42750	.59680	.481	-.8042	1.6592
Alvogyl Hari Ke-7		-.39750	.59680	.512	-1.6292	.8342
Kakao 8% Hari Ke-7		-1.24000*	.59680	.049	-2.4717	-.0083
Kakao 16% Hari Ke-7		-1.18000	.59680	.060	-2.4117	.0517
Kakao 8% Hari Ke-3	Placebo Hari Ke-3	1.16000	.59680	.064	-.0717	2.3917
	Alvogyl Hari Ke-3	.72750	.59680	.235	-.5042	1.9592
	Kakao 16% Hari Ke-3	-.29500	.59680	.626	-1.5267	.9367
	Placebo Hari Ke-7	1.15500	.59680	.065	-.0767	2.3867
	Alvogyl Hari Ke-7	.33000	.59680	.585	-.9017	1.5617
	Kakao 8% Hari Ke-7	-.51250	.59680	.399	-1.7442	.7192
	Kakao 16% Hari Ke-7	-.45250	.59680	.456	-1.6842	.7792
Kakao 16% Hari Ke-3	Placebo Hari Ke-3	1.45500*	.59680	.023	.2233	2.6867
	Alvogyl Hari Ke-3	1.02250	.59680	.100	-.2092	2.2542
	Kakao 8% Hari Ke-3	.29500	.59680	.626	-.9367	1.5267
	Placebo Hari Ke-7	1.45000*	.59680	.023	.2183	2.6817
	Alvogyl Hari Ke-7	.62500	.59680	.305	-.6067	1.8567
	Kakao 8% Hari Ke-7	-.21750	.59680	.719	-1.4492	1.0142
	Kakao 16% Hari Ke-7	-.15750	.59680	.794	-1.3892	1.0742
Placebo Hari Ke-7	Placebo Hari Ke-3	.00500	.59680	.993	-1.2267	1.2367
	Alvogyl Hari Ke-3	-.42750	.59680	.481	-1.6592	.8042

	Kakao 8% Hari Ke-3	-1.15500	.59680	.065	-2.3867	.0767
	Kakao 16% Hari Ke-3	-1.45000*	.59680	.023	-2.6817	-.2183
	Alvogyl Hari Ke-7	-.82500	.59680	.180	-2.0567	.4067
	Kakao 8% Hari Ke-7	-1.66750*	.59680	.010	-2.8992	-.4358
	Kakao 16% Hari Ke-7	-1.60750*	.59680	.013	-2.8392	-.3758
Alvogyl Hari Ke-7	Placebo Hari Ke-3	.83000	.59680	.177	-.4017	2.0617
	Alvogyl Hari Ke-3	.39750	.59680	.512	-.8342	1.6292
	Kakao 8% Hari Ke-3	-.33000	.59680	.585	-1.5617	.9017
	Kakao 16% Hari Ke-3	-.62500	.59680	.305	-1.8567	.6067
	Placebo Hari Ke-7	.82500	.59680	.180	-.4067	2.0567
	Kakao 8% Hari Ke-7	-.84250	.59680	.171	-2.0742	.3892
	Kakao 16% Hari Ke-7	-.78250	.59680	.202	-2.0142	.4492
Kakao 8% Hari Ke-7	Placebo Hari Ke-3	1.67250*	.59680	.010	.4408	2.9042
	Alvogyl Hari Ke-3	1.24000*	.59680	.049	.0083	2.4717
	Kakao 8% Hari Ke-3	.51250	.59680	.399	-.7192	1.7442
	Kakao 16% Hari Ke-3	.21750	.59680	.719	-1.0142	1.4492
	Placebo Hari Ke-7	1.66750*	.59680	.010	.4358	2.8992
	Alvogyl Hari Ke-7	.84250	.59680	.171	-.3892	2.0742
	Kakao 16% Hari Ke-7	.06000	.59680	.921	-1.1717	1.2917
Kakao 16% Hari Ke-7	Placebo Hari Ke-3	1.61250*	.59680	.012	.3808	2.8442
	Alvogyl Hari Ke-3	1.18000	.59680	.060	-.0517	2.4117
	Kakao 8% Hari Ke-3	.45250	.59680	.456	-.7792	1.6842
	Kakao 16% Hari Ke-3	.15750	.59680	.794	-1.0742	1.3892
	Placebo Hari Ke-7	1.60750*	.59680	.013	.3758	2.8392
	Alvogyl Hari Ke-7	.78250	.59680	.202	-.4492	2.0142
	Kakao 8% Hari Ke-7	-.06000	.59680	.921	-1.2917	1.1717

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Lampiran O. Alat dan Bahan Penelitian

### O.1 Alat Penelitian



Keterangan :

- |                                   |                             |
|-----------------------------------|-----------------------------|
| A. Neraca digital                 | M. Pisau malam              |
| B. Dental rat chair               | N. Pinset                   |
| C. Tabung plastic                 | O. Arteri clam              |
| D. Timbangan digital              | P. Gunting bedah            |
| E. Papan bedah                    | Q. Sonde setengah lingkaran |
| F. <i>Handsoon</i>                | R. Eskavator kecil          |
| G. Masker                         | S. Eskavator besar          |
| H. Kain lap                       | T. Blade dan scalpel        |
| I. <i>Cotton roll</i>             | U. Spidol                   |
| J. Baki                           |                             |
| K. <i>Disossible syringe</i> 1 ml |                             |
| L. <i>Disossible syringe</i> 5 ml |                             |





Keterangan :

- A. *Filling Cabinet*
- B. *Oven Memert*
- C. *Mikrotom*
- D. *Slide Warmer*
- E. *Waterbath*

- F. *Mikroskop Binokuler*
- G. *Histological basket*
- H. *Kamera Optilab®*

## O.2. Bahan Penelitian



Keterangan:

1. *Parafin Pastilles*
2. *Formic Acid*
3. Alkohol 80%
4. Entellan
5. Alkohol 95%
6. Alkohol 70%
7. *Mallory 1*
8. *Mallory 2*
9. *Mallory 3*
10. Alkohol 100%
11. Xylol
12. *Object glass dan cover*



O.3 Proses Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao



1. Biji kakao yang telah mesin dibuat serbuk.



2. Pengekstrakan dengan etanol 96%.



3. Diletakkan pada Shaker agar menyatu.



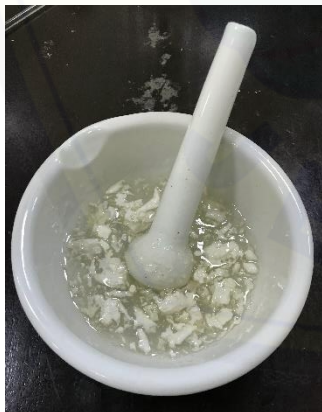
4. Proses penyaringan .



5. Proses evaporasi dengan rotatory evaporator.



6. Ekstrak biji kakao.



g. CMC-Na sebagai basis



8. Pencampuran CMC-Na

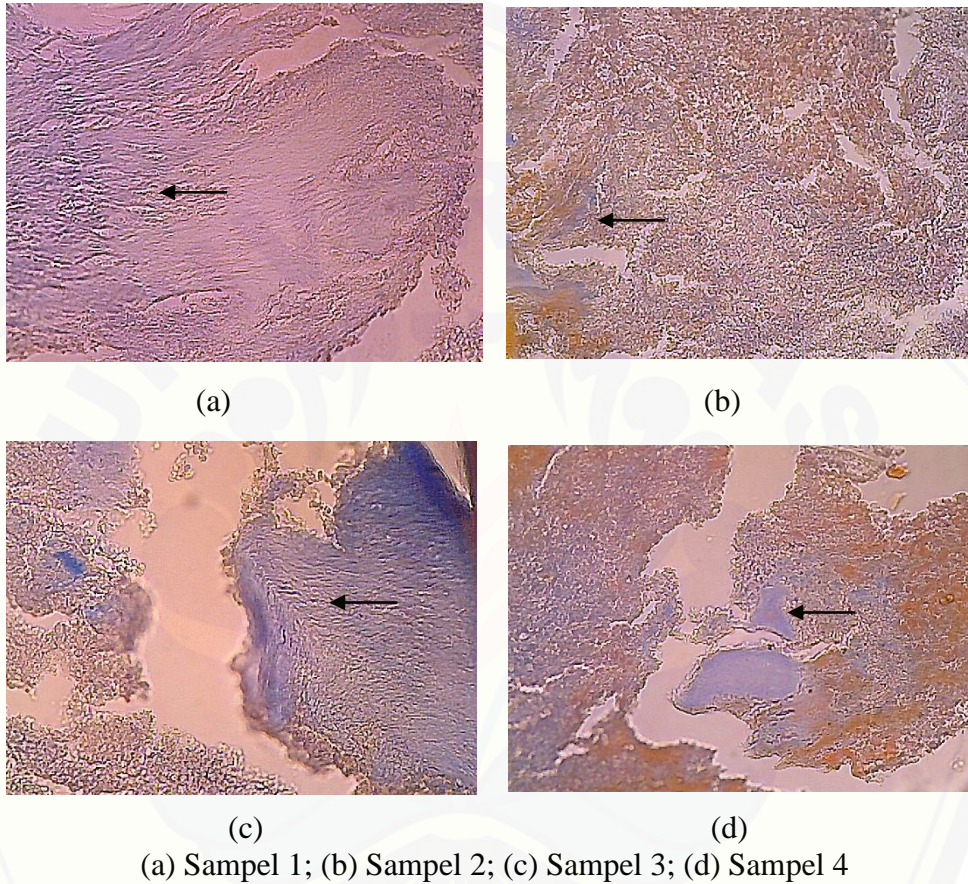


9. Gel ekstrak biji kakao.

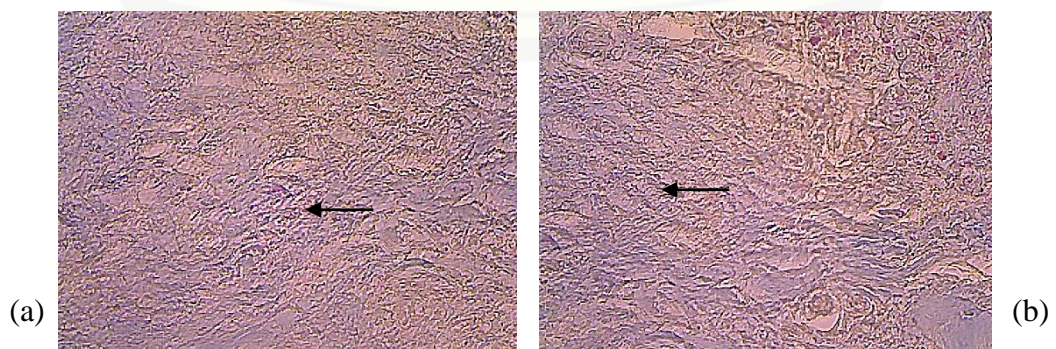


### Lampiran P. Gambaran Histologis Serabut Kolagen

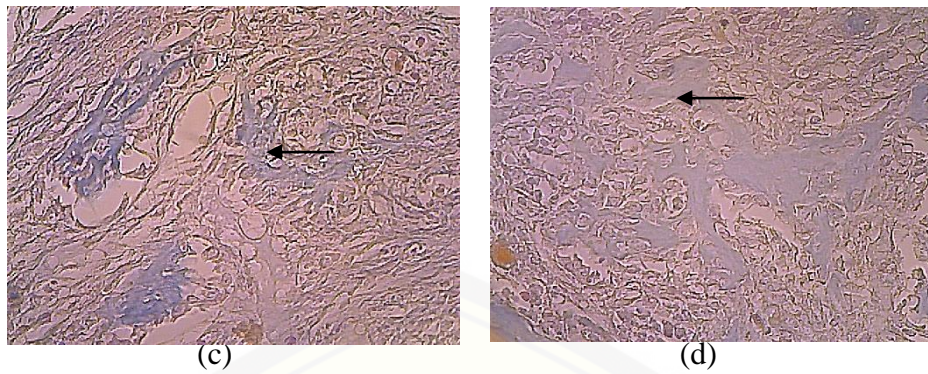
P.1 Gambaran histologi kolagen (panah hitam) kelompok kontrol negatif hari ke-3 dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* dan perbesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.



P.2 Gambaran histologi kolagen (panah hitam) kelompok kontrol negatif hari ke-7 dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* dan perbesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.

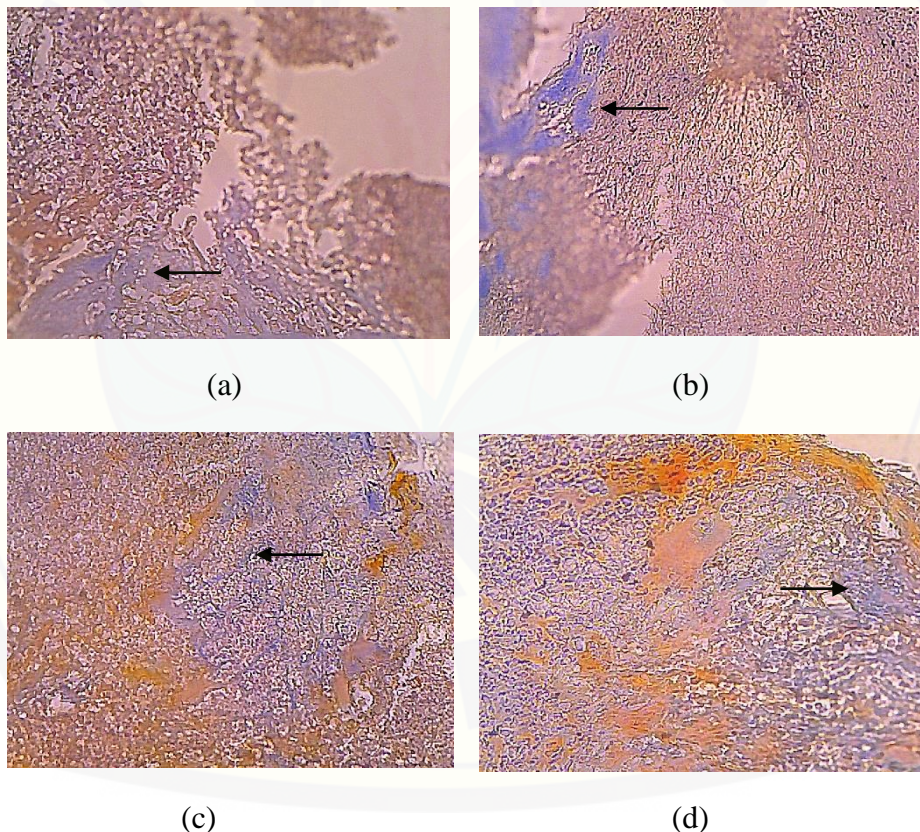






(a) Sampel 1; (b) Sampel 2; (c) Sampel 3; (d) Sampel 4

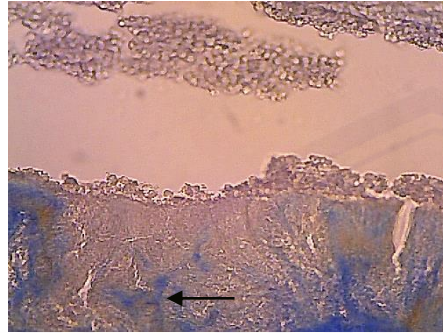
P.3 Gambaran histologi kolagen (panah hitam) kelompok kontrol positif hari ke-3 dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* dan perbesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.



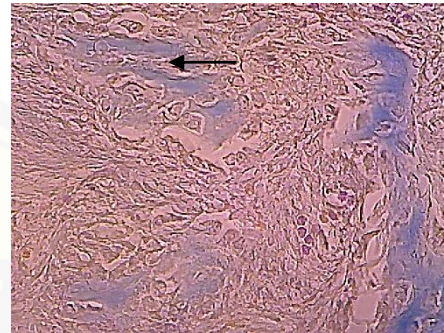
(a) Sampel 1; (b) Sampel 2; (c) Sampel 3; (d) Sampel 4



P.4 Gambaran histologi kolagen (panah hitam) kelompok kontrol positif hari ke-7 dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* dan perbesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.



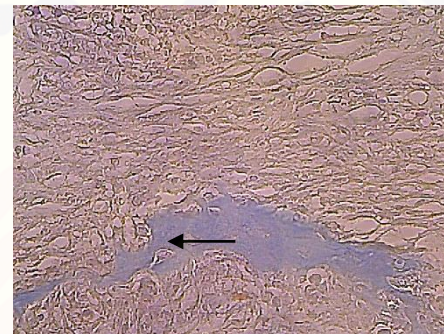
(a)



(b)



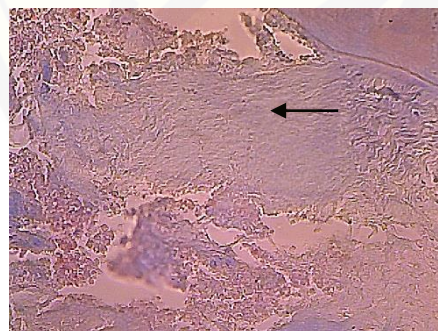
(c)



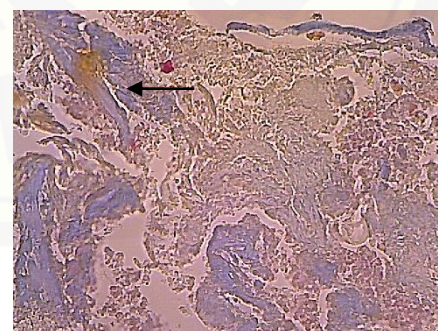
(d)

(a) Sampel 1; (b) Sampel 2; (c) Sampel 3; (d) Sampel 4

P.5 Gambaran histologi kolagen (panah hitam) kelompok perlakuan I hari ke-3 dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* dan perbesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.

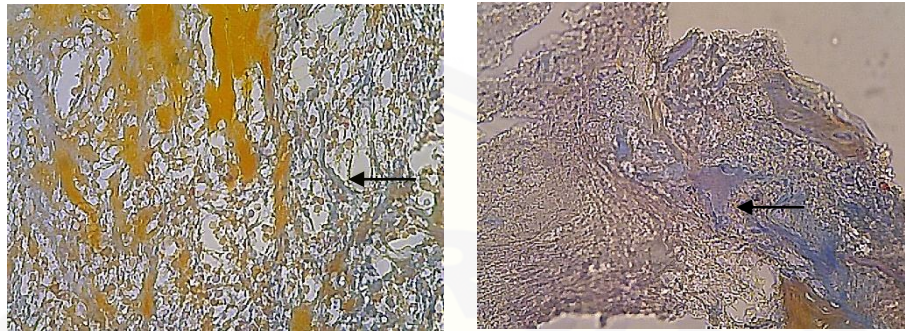


(a)



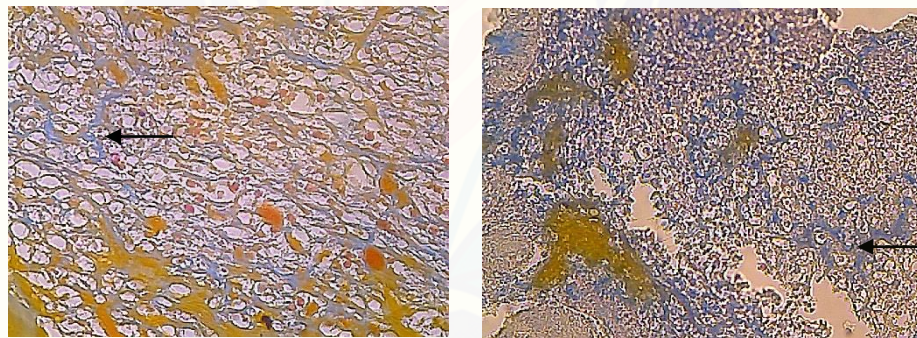
(b)



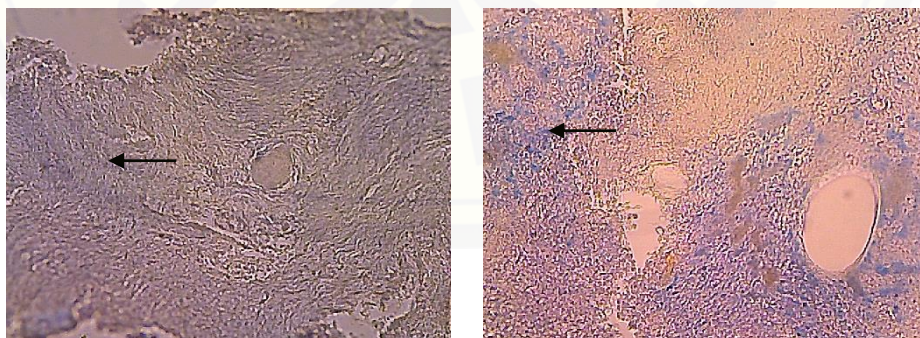


(c) (d)  
 (a) Sampel 1; (b) Sampel 2; (c) Sampel 3; (d) Sampel 4

P.6 Gambaran histologi kolagen (panah hitam) kelompok perlakuan I hari ke-7 dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* dan perbesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.



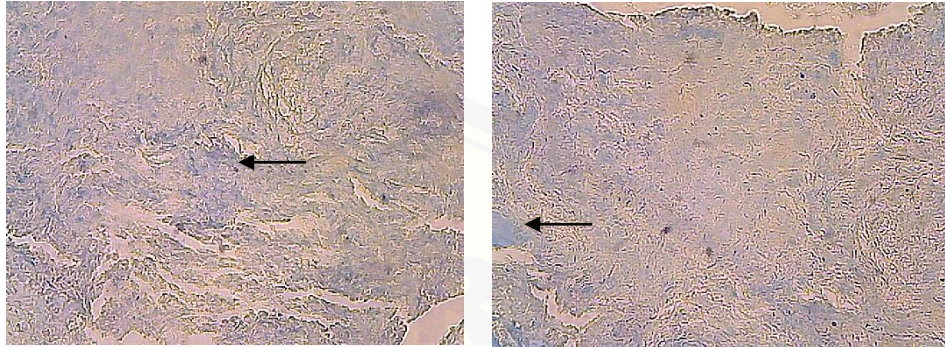
(a) (b)



(c) (d)  
 (a) Sampel 1; (b) Sampel 2; (c) Sampel 3; (d) Sampel 4

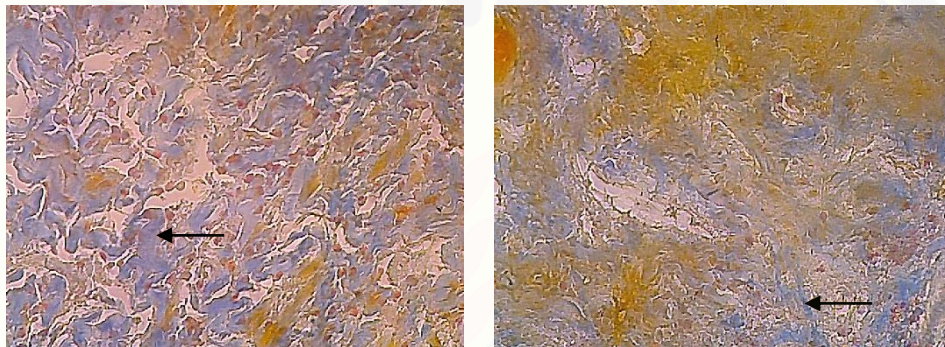


P.7 Gambaran histologi kolagen (panah hitam) kelompok perlakuan II hari ke-3 dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* dan perbesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.



(a)

(b)

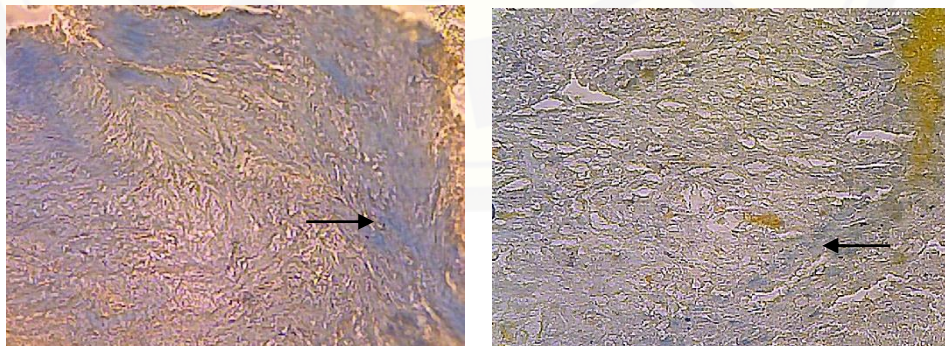


(c)

(d)

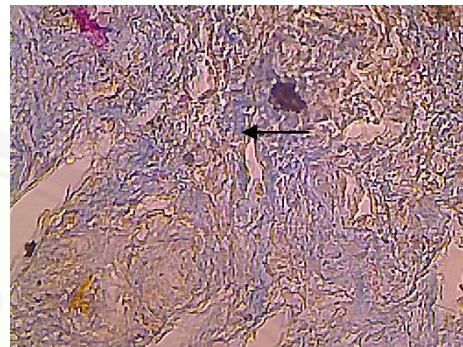
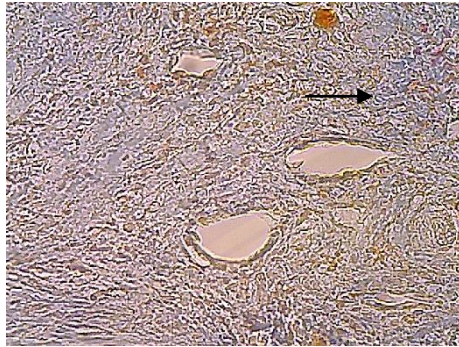
(a) Sampel 1; (b) Sampel 2; (c) Sampel 3; (d) Sampel 4

P.8 Gambaran histologi kolagen (panah hitam) kelompok perlakuan II hari ke-3 dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* dan perbesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.



(a)

(b)



(c)

(d)

(a) Sampel 1; (b) Sampel 2; (c) Sampel 3; (d) Sampel 4

