



**EFEK EKSTRAK BIJI KAKAO (*Theobroma cacao L.*)
TERHADAP RE-EPITELIALISASI SOKET
PASCA PENCABUTAN GIGI
TIKUS WISTAR**

SKRIPSI

Oleh

**Maqdisi Firdaus Ali
NIM 141610101071**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018



**EFEK EKSTRAK BIJI KAKAO (*Theobroma cacao L.*)
TERHADAP RE-EPITELIALISASI 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

**Maqdisi Firdaus Ali
NIM 141610101071**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Dengan setulus hati skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Dr. Ali Maksum, M. Ag, M. Si dan Ibunda Dr. Esa Nur Wahyuni, M. Pd tercinta atas segala kasih sayang, kesabaran, motivasi, nasehat, serta do'a yang tiada henti diberikan sampai saat ini;
2. Adik-adik tersayang, Agni Shalha Ali dan Iqdam Shidqi Ali, yang senantiasa memberikan semangat, do'a dan motivasi;
3. Seluruh guru dan dosen yang telah membimbing dan mendidik saya sejak taman kanak-kanak sampai 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”

(Al-Baqarah (2) : 216)*

Bermimpilah, maka Tuhan akan memeluk mimpi-mimpi itu.

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

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Maqdisi Firdaus Ali

NIM : 141610101071

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efek Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Re-Epitelialisasi Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar” adalah benar-benar hasil karya saya 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 dijunjung tinggi.

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

Jember, 6 Juni 2018

Yang menyatakan

Maqdisi Firdaus Ali

NIM 141610101071

SKRIPSI

EFEK EKSTRAK BIJI KAKAO (*Theobroma cacao L.*) TERHADAP RE-EPITELIALISASI SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS WISTAR

Oleh

Maqdisi Firdaus Ali
NIM 141610101071

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Amandia Dewi P. S., M.Biomed
Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Nuzulul Hikmah M.Biomed

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Re-Epitelialisasi Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi pada :

Hari, tanggal : Rabu, 6 Juni 2018

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

drg. Happy Harmono, M.Kes

NIP. 196709011997021001

drg. Zainul Cholid, Sp.BM

NIP. 197105141998022001

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

drg. Amandia Dewi P. S., M.Biomed

NIP. 198006032006042002

drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed

NIP. 198107172008012017

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember

drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros

NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Efek Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap Re-epitelialisasi Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar; Maqdisi Firdaus Ali; 141610101071; 2018: 71 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Pencabutan gigi merupakan salah satu tindakan yang sering dilakukan oleh dokter gigi. Akibat dari pencabutan gigi ini adalah rusaknya jaringan periodontal dan pembuluh darah di sekitar gigi yang memicu respon tubuh sehingga menyebabkan terjadinya proses penyembuhan luka. Namun, penyembuhan luka dapat terhambat karena beberapa faktor, selain itu dapat timbul juga komplikasi pasca pencabutan gigi. Oleh karena itu, diperlukan penatalaksanaan pasca pencabutan gigi dengan pemberian obat, terutama yang tidak mengandung bahan kimia dan memiliki efek samping yang kecil. Salah satu tanaman yang dapat dikembangkan sebagai obat herbal pasca pencabutan gigi adalah biji kakao. Beberapa penelitian menunjukkan biji kakao memiliki manfaat dalam proses penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak biji kakao dalam meningkatkan re-epitelialisasi soket pasca pencabutan gigi.

Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental laboratories* dengan rancangan penelitian *the post test control group design*. Variabel yang diamati adalah re-epitelialisasi yang dilihat ketebalan epitelnya. Sampel yang digunakan adalah 32 ekor tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang dikelompokkan menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K1), kelompok kontrol positif (K2), kelompok perlakuan I (P1) dan kelompok perlakuan II (P2). Semua sampel dilakukan pencabutan gigi molar satu kiri bawah. Pada kelompok kontrol negatif diberi placebo, kelompok kontrol positif diberi Alvogyl, kelompok perlakuan I diberi gel ekstrak biji kakao 8% sedangkan kelompok perlakuan II diberi gel ekstrak biji kakao 16% secara topikal. Pada hari ke-3 dan hari ke-7 pasca pencabutan dilakukan euthanasia, dilanjutkan prosesing jaringan, pewarnaan *haematoksilin eosin* dan dilakukan pengukuran ketebalan epitel. Pengukuran dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x dengan bantuan optilab dan *software image raster*.

Ketebalan epitel diperoleh dari pengukuran di daerah mesial tepi soket pada tiga lapang pandang yang diamati dan diukur oleh tiga pengamat.

Data dianalisis menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*, uji homogenitas menggunakan *Levene-Test*. Data yang diperoleh karena berdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji parametrik *One-Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Significant Difference)*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan ketebalan epitel antar semua kelompok. Kelompok perlakuan memiliki nilai rata-rata ketebalan epitel yang lebih tinggi daripada kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif pada hari ke-3 maupun hari ke-7. Terutama pada kelompok perlakuan P2 yang diberi gel ekstrak biji kakao dengan konsentrasi 16% memiliki nilai rata-rata ketebalan epitel tertinggi jika dibandingkan dengan kelompok yang lain. Hal ini didukung dengan uji *LSD* yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan P2 dengan kelompok kontrol K1 dan kelompok kontrol K2 pada hari ke-7. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak biji kakao dapat meningkatkan re-epitelialisasi soket pasca pencabutan gigi tikus wistar dengan konsentrasi 16% lebih efektif dibandingkan 8%.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap Re-epitelialisasi Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Kedua orangtua tercinta; Ayahanda Dr. Ali Maksum, M.Ag., M.Si dan Ibunda Dr. Esa Nur Wahyuni, M.Pd atas do’a yang senantiasa dipanjatkan, motivasi dan semangat yang tak pernah henti diberikan, serta kasih sayang yang selalu dicurahkan;
2. drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan ilmu dalam membimbing sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
4. drg. Happy Harmono, M.Kes selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Zainul Cholid, Sp.BM selaku Dosen Penguji Anggota atas ilmu, bimbingan serta saran untuk perbaikan skripsi ini;
5. drg. Hafiedz Maulana, M.Biomed., selaku Dosen Pembimbing Akademik atas arahan, ilmu dan motivasi yang telah diberikan;
6. Agni Shalha Ali dan Iqdam Shidqi Ali; adik-adik tersayang, penyemangat dan penghibur, yang tidak ada hentinya mendo’akan dan memberi semangat;
7. Keluarga Aminuddin dan Keluarga Abdul Ghofur yang selalu mendo’akan, memotivasi dan memberikan perhatian;

8. Mas Erwan, Mbak Azizah, Bu Sollihatus, Mas Agus dan Bu Wahyu; teknisi dan analis yang turut membantu dan membimbing dengan sabar selama penelitian;
9. Teman-teman tim kakao; Nadia Farhatika, Zulfah Al-Fa'izah, Nufsi Egi, dan Stefani Silvia yang sudah bersama-sama berjuang. Terima kasih atas dukungan dan kerjasama yang luar biasa;
10. Teman-teman 67-77; Iga Putri, Yuniko Dimas, Arimbi Gupitasari, Firdiana Retno, Nadiya Amalia, Nufsi Egi, Aulia Rahma, Arofah Noor, Puti Ganisari, dan Calvin Juniawan atas kebersamaan, do'a, semangat, dan motivasi yang diberikan selama ini;
11. Iffa Nadhiya, Anindhita Virliana, Aisha Rahma, Najla Irhamni, dan Heni Jayanti, atas do'a, bantuan serta dukungan yang diberikan;
12. Teman-teman seperjuangan LECI FKG 2014. Terimakasih atas kebersamaan dan dukungan selama ini;
13. Semua pihak yang turut membantu dalam terselesaikannya skripsi ini yang tidak mungkin disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pendidikan khususnya di bidang kesehatan serta menjadi upaya meningkatkan mutu kesehatan masyarakat.

Jember, 6 Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pencabutan Gigi	5
2.2 Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi	6
2.2.1 Proses Penyembuhan Luka	6
2.2.2 Proses Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi	9
2.2.3 Faktor yang Menghambat Proses Penyembuhan Luka.....	9
2.3 Jaringan Epitel	10
2.3.1 Epitel Gingiva	11
2.3.2 Mekanisme Re-epitelialisasi	12
2.4 Kakao (<i>Theobroma cacao L.</i>)	15
2.4.1 Asal-usul Tanaman Kakao.....	15
2.4.2 Taksonomi Kakao	16

2.4.3	Morfologi	16
2.4.4	Kandungan Biji Kakao.....	17
2.5	Alvogyl.....	19
2.6	Pengaruh Biji Kakao terhadap Proses Penyembuhan Luka.....	20
2.7	Kerangka Konseptual	22
2.8	Penjelasan Kerangka Konseptual	23
2.9	Hipotesis	24
BAB 3.	METODE PENELITIAN.....	25
3.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	25
3.2	Tempat Penelitian.....	25
3.2.1	Identifikasi tanaman kakao	25
3.2.2	Pembuatan ekstrak biji kakao	25
3.2.3	Pembuatan gel ekstrak biji kakao.	25
3.2.4	Perlakuan hewan coba	25
3.2.5	Pembuatan preparat dan pengamatan jaringan	25
3.3	Waktu Penelitian	25
3.4	Variabel Penelitian	25
3.4.1	Variabel Bebas	25
3.4.2	Variabel Terikat	26
3.4.3	Variabel Terkendali	26
3.5	Definisi Operasional	26
3.5.1	Ekstrak Biji Kakao.....	26
3.5.2	Re-epitelialisasi.....	26
3.5.3	Pencabutan Gigi.....	27
3.6	Sampel Penelitian	27
3.6.1	Kriteria Sampel Penelitian	27
3.6.2	Besar Sampel	27
3.6.3	Pengelompokan Sampel.....	28
3.7	Alat dan Bahan Penelitian	29
3.7.1	Alat Penelitian.....	29
3.7.2	Bahan Penelitian	29
3.8	Penghitungan Dosis	30

3.8.1	Dosis Ekstrak Biji Kakao.....	30
3.8.2	Dosis Ketamin.....	30
3.8.3	Dosis Alvogyl	30
3.9	Prosedur Penelitian	31
3.9.1	<i>Ethical Clearance</i>	31
3.9.2	Persiapan Hewan Coba	31
3.9.3	Pembuatan Ekstrak Biji Kakao	31
3.9.4	Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao	32
3.9.5	Perlakuan Hewan Coba.....	32
3.9.6	Eutanasia Hewan Coba	33
3.9.7	Pembuatan Sediaan Histologis.....	34
3.9.8	Pengecatan Preparat Jaringan	36
3.9.9	Tahap Pengamatan dan Pengukuran Re-epitelialisasi	36
3.10	Analisa data.....	37
3.11	Alur Penelitian.....	38
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	39
4.1	Hasil Penelitian	39
4.2	Analisa Data	42
4.3	Pembahasan	43
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN	47
5.1	Kesimpulan	47
5.2	Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	53

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Jenis polifenol yang terkandung pada biji kakao	19
Tabel 2.2 Komposisi Alvogyl	20
Tabel 3.1 Pengelompokan sampel penelitian.....	28
Tabel 4.1 Rata-rata ketebalan epitel pasca pencabutan gigi	39
Tabel 4.2 Hasil uji <i>LSD</i> ketebalan epitel pasca pencabutan gigi pada hari ke-3	42
Tabel 4.3 Hasil uji <i>LSD</i> ketebalan epitel pasca pencabutan gigi pada hari ke-7	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Variasi epitel gingiva.....	11
Gambar 2.2 Morfologi tanaman kakao.....	17
Gambar 2.3 Skema biosintesis polifenol tanaman kakao.....	18
Gambar 2.4 Alvogyl dalam kemasan	20
Gambar 2.5 Kerangka konseptual	22
Gambar 3.1 Alur penelitian	38
Gambar 4.1 Histogram rata-rata ketebalan epitel pasca pencabutan gigi	40
Gambar 4.2 Gambaran histologis ketebalan epitel tepi soket hari ke-3.....	40
Gambar 4.3 Gambaran histologis ketebalan epitel tepi soket hari ke-7.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Surat Keterangan Ethical Clearence	53
Lampiran B. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman.....	54
Lampiran C. Surat Keterangan Ekstraksi Biji Kakao	55
Lampiran D. Surat Keterangan Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao	56
Lampiran E. Surat Ijin Laboratorium Fisiologi.....	57
Lampiran F. Surat Ijin Laboratorium Histologi	58
Lampiran G. Proses Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao.....	59
Lampiran H. Alat dan Bahan Penelitian	60
Lampiran I. Gambaran Histologis Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus	63
Lampiran J. Hasil Pengukuran Ketebalan Epitel	65
Lampiran K. Hasil Analisis Data	69

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencabutan gigi merupakan salah satu tindakan yang sering dilakukan oleh dokter gigi (Adeyemo *et al.*, 2006). Berdasarkan data hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2007, presentase rata-rata penduduk Indonesia yang menerima pengobatan gigi sebesar 87,6%, dimana 38,5% di antaranya adalah pencabutan gigi. Di Provinsi Jawa Timur sendiri, prevalensi pencabutan gigi sebesar 42,1% (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2008).

Pencabutan gigi adalah proses pengeluaran gigi dari soket tulang alveolar (Pedlar dan Frame, 2007). Pada dasarnya pencabutan gigi dapat menimbulkan trauma pada jaringan di sekitarnya (Ardhiyanto, 2007). Akibat dari pencabutan gigi ini adalah rusaknya jaringan periodontal dan pembuluh darah di sekitar gigi yang memicu respon tubuh sehingga menyebabkan terjadinya proses penyembuhan luka.

Proses penyembuhan luka dapat dikelompokkan menjadi tiga fase yang berbeda, yaitu inflamasi, proliferasi dan remodeling. Pada fase proliferasi, terjadi epitelialisasi atau proses pembentukan epitel. Epitelialisasi merupakan salah satu parameter keberhasilan penyembuhan luka yang dilihat dari peningkatan ketebalan epitel. Li *et al.* (2007) menyebutkan bahwa re-epitelialisasi dimulai pada hari ke-3 atau ke-4 setelah perlukaan. Pada hari ke-7 sampai ke-9 epitelialisasi dan *basement membrane zone* (BMZ) sudah terbentuk. Epitelisasi sangat penting terkait dengan fungsi epitel yang membentuk *barrier* pertama antara tubuh dan lingkungan serta melindungi host dari kerusakan fisik, kimia dan mikroba. Epitel juga mengatur fungsi dan integritas dari jaringan ikat yang mendasarinya. Oleh karena itu, re-epitelisasi setelah trauma atau luka menjadi proses yang penting untuk mengembalikan fungsi *barrier* (Larjava *et al.*, 2012). Ketika proses re-epitelialisasi tidak terjadi, luka tidak dapat dianggap sembuh (Pastar *et al.*, 2014).

Secara normal, proses penyembuhan luka sampai fase proliferasi berlangsung hingga tiga minggu. Namun penyembuhan luka dapat terhambat karena beberapa faktor, seperti infeksi, penyakit sistemik, iskemia, dan merokok (Larjava, 2012; Broughton *et al.*, 2006; Lorenz dan Longaker, 2003). Selain itu dapat timbul juga

komplikasi pasca pencabutan gigi seperti perdarahan, infeksi dan *dry socket*. Oleh karena itu, diperlukan penatalaksanaan pasca pencabutan gigi dengan pemberian obat yang memiliki aktivitas antiinflamasi, antibiotik dan analgesik sehingga dapat mengurangi rasa sakit serta mencegah komplikasi yang dapat menghambat penyembuhan. Obat pasca pencabutan gigi dapat diberikan secara sistemik maupun topikal.

Penggunaan obat dari tanaman herbal sebagai alternatif pengobatan pasca pencabutan gigi mulai banyak dikembangkan. Alasan terapi herbal dikembangkan adalah kecilnya efek samping yang ditimbulkan, dengan cara mengisolasi senyawa kimia dari tanaman. Salah satu tanaman yang mempunyai potensi sebagai alternatif obat penyembuhan luka adalah kakao (*Theobroma cacao L.*).

Kakao (*Theobroma cacao L.*) adalah salah satu tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia, yang berada di urutan ketiga terbesar di dunia setelah Pantai Gading dan Ghana dengan pertumbuhan produksi sebesar $\pm 3,5$ % tiap tahunnya (ICCO, 2012). Berdasarkan data hasil luas area dan produksi kakao pada tahun 2016 oleh Ditektorat Jendral Perkebunan (2016) menunjukkan produksi kakao di Indonesia adalah sebesar 656.817 ton dengan luas 1.701.351 ha. Provinsi Jawa Timur menghasilkan produksi kakao sebesar 29.142 ton dengan luas lahan 56.642 ha, dimana 190 ton di antaranya diproduksi oleh Kabupaten Jember.

Senyawa dalam biji kakao meliputi flavonoid, katekin, epikatekin, proisianidin, antosianidin, tannin kompleks, dan flavonol glikosida. Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa kakao memiliki efek antioksidan, antibakteri dan antiinflamasi (Hafidhah *et al.*, 2017; Emelda *et al.*, 2016; Fuadi *et al.*, 2015; Towaha, 2014; Selmi *et al.*, 2006; Ramiro *et al.*, 2005). Hal ini disebabkan karena adanya kandungan senyawa fenolik yang cukup tinggi, kira-kira 15-20% dari berat kering keseluruhan biji (Wollgast *et al.*, 2000). Flavonoid dapat bersifat bakterisidal dan sebagai antioksidan, serta memiliki aktivitas antiinflamasi (Sartini, 2013). Kandungan biji kakao dengan aktivitas anti inflamasinya dapat merangsang sel-sel seperti makrofag untuk menghasilkan sitokin dan *growth factor* seperti *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β) dan *Interleukin-*

4 (IL-4) yang menginduksi marginasi dan maturasi keratinosit yang akan mempercepat pembentukan epitel (Fuadi *et al.*, 2015; Selmi *et al.*, 2006).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji efektivitas ekstrak biji kakao dengan konsentrasi 8% terhadap luka bakar derajat II pada tikus, yang terbukti bahwa ekstrak biji kakao 8% efektif dalam mempercepat proses penyembuhan (Fuadi *et al.*, 2015). Sehingga pada penelitian ini akan digunakan ekstrak biji kakao dengan konsentrasi 8% dan 16% (yang memiliki konsentrasi dua kali lipat dari konsentrasi yang terbukti efektif) jika diaplikasikan untuk proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.

Berdasarkan paparan latar belakang, maka peneliti ingin menguji efek ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) dengan konsentrasi 8% dan 16% terhadap re-epitelialisasi pada soket pasca pencabutan gigi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka didapatkan rumusan masalah yaitu:

1. Bagaimana efek ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap re-epitelialisasi pada penyembuhan luka soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar?
2. Berapa konsentrasi ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) (antara konsentrasi 8% dan 16%) yang efektif terhadap re-epitelialisasi pada penyembuhan luka soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui:

1. Efek ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap re-epitelialisasi pada penyembuhan luka soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar.
2. Konsentrasi biji kakao (*Theobroma cacao L.*) yang efektif terhadap re-epitelialisasi pada penyembuhan luka soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. **Bagi Peneliti**
Mengkaji efek ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap re-epitelialisasi soket pasca pencabutan gigi pada tikus Wistar.
2. **Bagi Masyarakat**
Memberikan informasi ilmiah tentang terapi alternatif biji kakao (*Theobroma cacao L.*) untuk penyembuhan soket pasca pencabutan gigi.
3. **Bagi Institusi**
 - a. Memberikan informasi ilmiah mengenai efek ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap re-epitelialisasi soket pasca pencabutan gigi.
 - b. Menjadi bahan referensi ilmiah untuk pengembangan riset tentang penyembuhan soket pasca pencabutan gigi.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi adalah proses pengeluaran gigi dari soket tulang alveolar. Pencabutan gigi yang ideal adalah pencabutan gigi yang utuh tanpa menimbulkan rasa sakit dengan trauma sekecil mungkin pada jaringan penyangga. Pencabutan yang ideal adalah pencabutan tanpa menimbulkan rasa sakit dengan trauma sekecil mungkin pada jaringan penyangga, sehingga luka bekas pencabutan akan sembuh secara normal dan tidak menimbulkan problema prostetik pasca pencabutan (Pedlar dan Frame., 2007).

Metode pencabutan ada dua macam, yaitu pencabutan sederhana dan pencabutan dengan pembedahan. Metode pencabutan sederhana sering dilakukan pada sebagian besar kasus, disebut juga dengan *forceps extraction* atau pencabutan dengan tang. Metode ini terdiri dari pencabutan gigi atau akar dengan menggunakan tang atau elevator (*bein*) atau kedua-duanya. *Blade instrument* ditekan masuk ke dalam ligamentum periodontal diantara akar-akar gigi dan dinding soket tulang. Bila akar telah berpegang kuat oleh tang, dilakukan gerakan kearah buko-lingual atau buko-palatal dengan maksud menggerakkan gigi dari soketnya. Gerakan rotasi kemudian dilakukan setelah dirasakan gigi agak goyang. Metode ini digambarkan sebagai pencabutan *intra-alveolar*. Metode pencabutan yang kedua adalah memisahkan gigi atau akar dari perlekatannya dengan tulang, yang dikenal dengan metode pencabutan dengan pembedahan atau pencabutan *trans-alveolar*. Pemisahan dilakukan dengan membuang sebagian tulang yang menutupi akar gigi kemudian pencabutan dilakukan dengan menggunakan *bein* atau tang. Prinsip pada metode ini adalah pembuatan flap, membuang sebagian tulang, pemotongan gigi, pengangkatan gigi, penghalusan tulang, kuretase, dan penjahitan (Musdalifah, 2014).

Pencabutan gigi dapat diikuti oleh beberapa komplikasi. Diantaranya adalah perdarahan, mahkota atau akar patah, fraktur alveolar, fraktur tulang rahang, abrasi jaringan lunak, trauma, aspirasi benda asing, pergerakan gigi ke sinus maksila atau jaringan lunak, dan rasa sakit. Komplikasi yang terjadi segera pasca operasi

meliputi: perdarahan, nyeri, infeksi, hematoma, emfisema jaringan lunak. Komplikasi pasca operasi yang terjadi dalam waktu lama meliputi: epulis granulomatosum, trismus, nyeri, parestesia, gangguan sendi temporomandibular, dan osteitis alveolar atau *dry socket* (Manor *et al.*, 2015).

2.2 Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi

Tindakan pencabutan gigi mengakibatkan trauma atau luka pada jaringan di sekitarnya sehingga menginisiasi suatu proses perbaikan yang melibatkan jaringan lunak maupun jaringan keras (Larjava, 2012). Proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi merupakan suatu kelanjutan dari reaksi peradangan sebagai respon normal tubuh terhadap kerusakan yang terjadi pada jaringan (Ardhiyanto, 2007).

2.2.1 Proses Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan luka dapat dikelompokkan menjadi tiga fase, yaitu:

1. Fase Inflamasi

Fase inflamasi adalah fase pertama dari proses penyembuhan yang ditandai dengan homeostasis dan inflamasi. Segera setelah pencabutan gigi, terjadi pembekuan darah (*blood clot*) yang mengisi soket. Bekuan darah ini tersusun atas kolagen, trombosit, trombin, dan fibronektin. Selanjutnya sel sinyal yang menandakan terjadinya luka dikirim dan diterima oleh neutrofil. Setelah mediator inflamasi menumpuk dan prostaglandin diuraikan, pembuluh darah di sekitarnya mengalami vasodilatasi untuk memungkinkan terjadinya peningkatan neutrofil ke daerah luka oleh *interleukin 1* (IL)-1, *tumor necrosis factor* (TNF)- α , *transforming growth factor* (TGF)- β , dan *platelet factor-4* (PF4) (Broughton *et al.*, 2006).

Monosit di jaringan terdekat dan dalam darah akan tertarik ke daerah luka dan berubah menjadi makrofag, biasanya sekitar 48 sampai 96 jam setelah luka terjadi. Aktivasi sel inflamasi sangat penting, terutama untuk makrofag. Makrofag yang aktif penting untuk transisi ke fase

proliferatif serta membantu proses angiogenesis, fibroplasia, dan mensintesis oksida nitrat (Broughton *et al.*, 2006).

Neutrofil akan masuk ke daerah luka dan mulai membersihkannya dari bakteri yang menyerang serta sisa-sisa debris sel. Neutrofil melepaskan enzim proteolitik yang akan mencerna bakteri dan jaringan yang tidak berfungsi. Sel berikutnya yang tampak pada luka adalah leukosit dan makrofag (monosit). Makrofag sangat penting dalam proses penyembuhan luka. Banyak enzim dan sitokin disekresikan oleh makrofag, termasuk kolagenase, yang membersihkan luka; *interleukin* dan TNF, yang merangsang fibroblas (menghasilkan kolagen) dan menginduksi angiogenesis; dan TGF, yang menstimulasi keratinosit (Broughton *et al.*, 2006; Lorenz dan Longaker, 2003).

2. Fase Proliferasi

Fase proliferasi yang merupakan fase perbaikan luka yang dimulai pada minggu pertama. Fase ini meliputi angiogenesis, epitelialisasi dan pembentukan jaringan granulasi. Angiogenesis, dirangsang oleh TNF, ditandai dengan migrasi sel endotel dan pembentukan kapiler. Migrasi kapiler ke daerah luka sangat penting dalam fase penyembuhan sebagai respons alami untuk menggantikan mikrosirkulasi yang mengalami trauma (Prasetyono, 2009; Broughton *et al.*, 2006).

Epitelialisasi merupakan proses pembentukan epitel pada luka, terjadi segera setelah luka terbentuk yang dirangsang oleh sitokin inflamasi dan *growth factor*. Sitokin inflamasi dan TGF- α meningkatkan ekspresi *Keratinosit Growth Factor* (KGF) pada fibroblas. Fibroblas kemudian akan mensintesis dan mengeluarkan KGF-1, KGF-2 (paling penting pada manusia), dan sitokin inflamasi yang merangsang keratinosit untuk bermigrasi di daerah luka, berproliferasi dan berdiferensiasi. Dimulai dengan mitosis sel basal (keratinosit) pada stratum basalis akan memipih dan membentuk tonjolan-tonjolan sekitar stratum basalis. Sel ini akan kehilangan

perlekatan hemidesmosom dengan sel basal sekitar keratinosit dan mulai bermigrasi pada 24 jam pasca trauma. Dalam 48 sampai 72 jam, proliferasi sel-sel epitel dimulai (Larjava, 2012; Broughton *et al.*, 2006).

Bagian akhir dari fase proliferasi adalah pembentukan jaringan granulasi. Fibroblas bermigrasi ke daerah luka dari jaringan sekitarnya, menjadi aktif, dan mulai mensintesis kolagen dan berproliferasi. Fibroblas yang berada di lokasi luka akan mulai mensintesis kolagen dan berubah menjadi myofibroblas (yang disebabkan oleh TGF-1 yang disekresi makrofag). Fibroblas juga mensintesis matriks sementara yang tersusun dari kolagen tipe III, glikosaminoglikan, dan fibronektin (Broughton *et al.*, 2006).

3. Fase Remodeling

Fase remodeling adalah fase akhir dari proses penyembuhan jaringan, dapat disebut juga dengan fase *wound maturation* yang terjadi pada minggu ketiga yang ditandai dengan adanya pengendapan kolagen (Prasetyono, 2009; Broughton *et al.*, 2006). Dalam fase ini, beberapa jaringan kolagen yang lama dirusak dan digantikan dengan jaringan kolagen yang baru, pembentukan tulang juga terjadi untuk mengisi soket alveolar (Ardhiyanto, 2007).

Kolagen tipe III yang diproduksi dan diendapkan oleh fibroblas selama fase proliferasi akan digantikan oleh kolagen tipe I melalui proses degradasi kolagen tipe III yang lambat melalui matriks metaloproteinase (MMP) yang disekresikan oleh makrofag, fibroblas, dan sel endotel (Prasetyono, 2009).

Kolagen pada bekas luka (bahkan setelah satu tahun fase remodeling) tidak akan pernah menjadi seperti kolagen pada jaringan yang tidak terluka. Pada minggu ketiga, awal fase remodeling, luka hanya memiliki sekitar 20% sampai 30% kondisi awal, dan pada akhirnya hanya memiliki kekuatan 70% sampai 80% pada kekuatan

kondisi normal pada akhir fase remodeling (Prasetyono, 2009; Broughton *et al.*, 2006).

2.2.2 Proses Penyembuhan Luka Pasca Pencabutan Gigi

Segera setelah pencabutan gigi terjadi perdarahan pada soket gigi dan diikuti oleh terbentuknya bekuan darah. Jaringan fibrin yang terbentuk secara perlahan menutup pembuluh darah yang rusak diikuti terjadinya vasodilatasi yang kemudian terjadi migrasi leukosit dan pembentukan lapisan fibrin. Pada hari yang sama terjadi proses inflamasi, neutrofil migrasi ke daerah luka dan memfagosit jaringan nekrotik (Miloró, 2004).

Proses proliferasi epitel pada permukaan bekuan darah akan terjadi pada hari ketiga pasca pencabutan gigi, selain itu terjadi pula proliferasi fibroblas yang berasal dari dinding tulang alveolar dan menyebar masuk ke dalam bekuan darah. Proliferasi fibroblas merupakan hasil mediator kimia dari makrofag atau yang disebut jaringan granulasi (Topazian *et al.*, 2002). Pada hari ketujuh, epitel akan tumbuh menutupi permukaan soket gigi, diikuti penurunan jumlah sel radang dan disertai peningkatan jaringan ikat. Pada bekuan darah terdapat benang-benang fibrin yang dicerna oleh enzim jaringan dan perbaikan awal jaringan telah selesai. Pada hari ke-10 sampai ke-15, tepian soket gigi mulai terbentuk osteoid dan *immature bone*. Osteoklas akan terakumulasi sepanjang *alveolar bone crest* dan mengatur tahap resorpsi *crest* yang aktif. Pada saat tersebut dimulai pembentukan osteoid dan jaringan tulang primer dari dasar soket menuju ke permukaan koronal luka, dan dari tepian soket menuju ke tengah soket. Osteoid akan memanjang dari bekuan darah ke alveolar dan resorpsi osteoklas akan terjadi pada margin kortikal soket alveolar. Fase remodeling tulang dengan deposisi dan resorpsi berlangsung selama beberapa minggu hingga tahun (Miloró, 2004; Wray *et al.*, 2003).

2.2.3 Faktor yang Menghambat Proses Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan luka dapat terganggu oleh karena beberapa faktor. Secara garis besar ada dua faktor yang dapat menyebabkan terganggunya proses

penyembuhan luka, yaitu faktor umum yang meliputi usia, defisiensi nutrisi terutama protein dan vitamin C, serta adanya efek penghambat seperti steroid dan NSAID (Ardhiyanto, 2007).

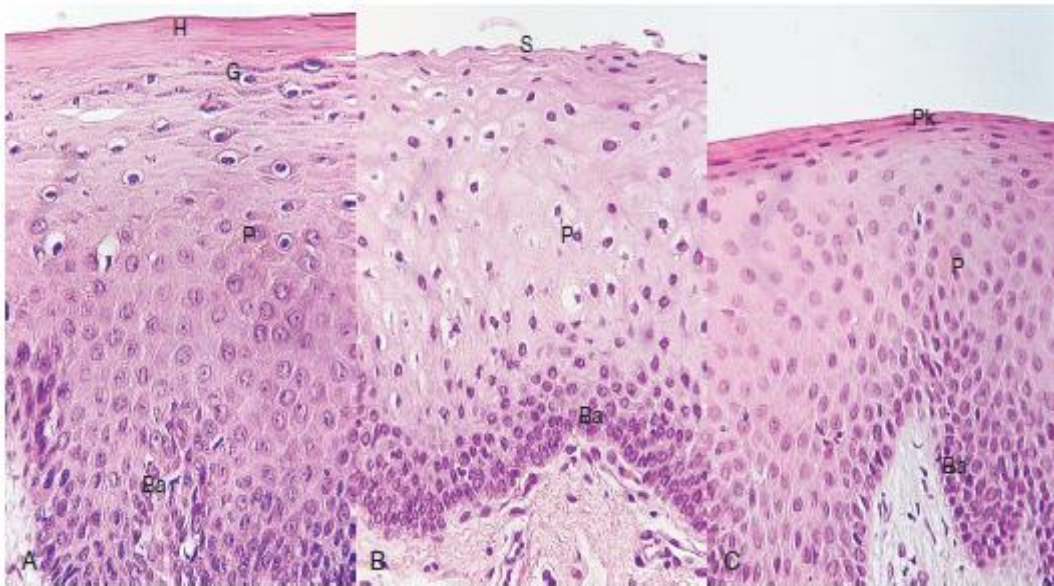
Faktor kedua yang dapat menghambat penyembuhan luka adalah faktor lokal. Pertama, buruknya suplai atau aliran darah (*ischemia*). Luka dengan suplai darah yang buruk, sembuh dengan lambat. Jika faktor-faktor yang esensial untuk penyembuhan, seperti oksigen, asam amino, vitamin dan mineral, sangat lambat mencapai luka karena lemahnya vaskularisasi maka penyembuhan luka tersebut akan terhambat (Yusuf, 2014). Faktor lain yaitu proses inflamasi yang berkelanjutan, adanya dehidrasi atau kekeringan pada luka, serta adanya pergerakan yang berlebihan sehingga memicu terjadinya pengulangan proses inflamasi (Ardhiyanto, 2007)

2.3 Jaringan Epitel

Jaringan epitel terdiri atas sel-sel polihedral yang berhimpitan dengan substansi ekstrasel yang berjumlah sangat sedikit. Sel-sel ini melekat erat dan membentuk lembaran-lembaran sel yang menutupi permukaan tubuh dan membatasi rongga-rongga tubuh. Fungsi utama epitel jaringan adalah menutupi, melapisi serta melindungi permukaan (misalnya kulit), absorpsi (misalnya, usus), sekresi (misalnya, sel epitel kelenjar, dan kontraktilitas (misalnya, sel mioepitel) (Mescher, 2011).

Menurut Newman *et al* (2012), epitel rongga mulut memiliki empat lapisan, yaitu:

- a. Stratum basal, terdiri dari sel-sel basal atau sel formatif dari lapisan sel kolumnar atau kuboid.
- b. Stratum spinosum yang terdiri dari sel-sel prickle atau lapisan spinosa dari sel-sel poligonal.
- c. Stratum granulosum (lapisan granular), sel-selnya datar dan mengandung banyak partikel keratohialin.
- d. Stratum korneum (lapisan kornifikasi) yaitu sel-selnya datar dan terkeratinisasi.



Gambar 2.1 Variasi epitel gingiva. A, Keratinisasi. B, Nonkeratinisasi. C, Parakeratinisasi. Lapisan tandus (H), lapisan granular (G), lapisan sel prickle (P), lapisan sel basal (Ba), sel permukaan rata (S), lapisan parakeratotik (Pk) (Sumber: Newman *et al.*, 2012)

2.3.1 Epitel Gingiva

Gingiva merupakan bagian dari mukosa rongga mulut yang menutupi bagian prosesus alveolaris dari rahang dan daerah sekitar leher gigi. Gingiva secara mikroskopis terdiri dari jaringan ikat yang dilapisi oleh jaringan epitel berlapis pipih. Sel utama dari epitel gingiva adalah keratinosit, sel ini yang berperan dalam proliferasi dan regenerasi jaringan epitel. (Newman *et al.*, 2012). Berdasarkan karakteristik morfologi dan fungsinya epitel gingiva dapat dibagi menjadi tiga, yaitu:

1. *Oral Epithelium*

Epitel oral adalah epitel yang melapisi lapisan luar margin gingiva dan permukaan gingiva cekat. Rata-rata ketebalan epitel oral 0,2 hingga 0,3 mm. berkeratinisasi atau parakeratin, membalut permukaan vestibular dan oral (Newman *et al.*, 2012).

2. *Sulcular Epithelium*

Epitel sulkular membentuk dinding sulkus gingiva dan menghadap ke permukaan gigi. Epitel ini merupakan *epitel stratified squamous* yang tipis, tidak berkeratin dan tanpa *rete peg*, meluas dari batas koronal *junctional epithelium* hingga krista tepi gingiva. Epitel ini penting sekali karena bertindak sebagai membrane semipermeabel yang dapat dilewati oleh produk bakteri menuju gingiva dan melalui cairan gingiva yang keluar ke sulkus gingiva (Newman *et al.*, 2012).

3. *Junctional epithelium*

Junctional epithelium membentuk perlekatan antara gingiva dengan permukaan gigi. Epitel ini merupakan *epitel stratified squamous* yang tidak berkeratin. Pada usia muda *junctional epithelium* terdiri atas tiga sampai empat lapis, namun dengan pertambahan usia lapisan *junctional epithelium* bertambah menjadi 10 hingga 20 lapis. *Junctional epithelium* melekat pada permukaan gigi dengan bantuan lamina basal. *Junctional epithelium* melekat pada permukaan gigi melalui lamina basal interna dan melekat pada jaringan ikat gingiva melalui lamina basal externa. Lamina basal interna terdiri atas lamina densa (melekat pada enamel) dan lamina lucida dimana hemidesmosome melekat. Hemidesmosome memiliki peran penting dalam perlekatan epitel ke lamina basal pada struktur gigi (Newman *et al.*, 2012).

2.3.2 Mekanisme Re-epitelialisasi

Setelah epitel rusak karena luka pada jaringan, proses pembentukan epitel harus terjadi secepat mungkin agar bisa membangun kembali integritas jaringan. Keratinosit mulai bergerak ke daerah luka sekitar 24 jam setelah terjadinya perlukaan (Hakkinen *et al.*, 2000). Sel epitel melepaskan perlekatan dengan hemidesmosomalnya dan melepaskan diri dari membran basal, kemudian bergerak cepat menuju daerah luka. Kemudian, saat proses re-epitelialisasi, proliferasi keratinosit pada tepi epitel menjadi lebih penting.. Migrasi sel epitel pada matriks jaringan ikat yang terbuka di bawah bekuan fibrin-fibronektin telah umum

dijelaskan. Migrasi keratinosit sangat fagositosis, memungkinkan mereka untuk menembus sisa jaringan atau bekuan. Migrasi sel harus dapat memfokuskan proteolisis ke tepi epitel. Hal ini dapat dilakukan dengan aktivasi enzim proteolitik pada lokasi spesifik di membran sel. Telah ditemukan bahwa aktivator-aktivator plasminogen jenis urokinase dapat dikaitkan dengan integrin. Hal ini merupakan contoh bagaimana sel dapat memfokuskan fibrinolisis oleh plasmin dan mempromosikan migrasi selanjutnya oleh integrin. Integrin memainkan peran penting dalam pembentukan epitelialisasi dan pembentukan granulasi selama penyembuhan luka melalui fungsinya dalam adhesi dan pensinyalan sel (Larjava, 2012).

Setelah aktivasi, keratinosit melepaskan perlekatan hemidesmosomal dengan membran basal, dan hubungan antara desmosomal lateral dan keratinosit pada tepi luka juga menurun. Beberapa hubungan antar sel-sel desmosomal diperlukan untuk re-epitelialisasi. Komunikasi antara keratinosit yang berdekatan dengan luka melalui *gap junction* juga berkurang melalui peningkatan fosforilasi connexin43, protein struktural utama epitel *gap junction*. Penurunan dari connexin43 di tepi luka menjadi prasyarat untuk mobilisasi keratinosit selama penyembuhan luka. Morfologi keratinosit berubah dari keratinosit basal terpolarisasi menjadi rata dan memanjang. Panjang *rich-actin lamellipodia* yang meluas ke dasar luka diamati pada migrasi keratinosit dalam matriks sementara. Ekstensi lamellipodia ini membutuhkan aktivitas intraseluler molekul sinyal Rac1 GTPase dan glikogen sintase kinase-3. Banyak sitokin, termasuk *keratinocyte growth factor* (KGF), *epidermal growth factor* (EGF) dan *insulin-like growth factor* (IGF), yang meningkatkan migrasi keratinosit serta dapat menyebabkan perubahan dalam organisasi sitoskeleton dan bentuk sel (Larjava, 2012).

Perubahan morfologi disebabkan oleh aktivasi keratinosit awal terjadi dalam beberapa jam setelah perlukaan dan menyebabkan migrasi keratinosit. Studi histologis menunjukkan bahwa keratinosit mulai bermigrasi dari tepi luka dengan matriks sementara selama 24 jam pertama, memulai epitelialisasi dari daerah luka yang rusak. Pada kulit, *stem cells* epidermis yang berada di folikel rambut, kelenjar

sebaceous dan kelenjar keringat juga ditarik ke daerah sel-sel yang bermigrasi. Meskipun sebagian besar dari sel-sel ini berumur pendek dan tersingkir dari epidermis selama beberapa minggu, namun beberapa bertahan dalam jangka panjang. Karena mukosa mulut tidak memiliki folikel rambut dan kelenjar keringat, sumber utama untuk keratinosit luka terletak paling mungkin di lapisan basal epitel mukosa mulut. Setelah migrasi keratinosit berjalan dengan baik, keratinosit basal yang berdekatan dengan bagian depan epitel yang bermigrasi mulai berproliferasi 48-72 jam setelah perlukaan, menyebabkan migrasi lebih lanjut, sel-sel yang tidak berproliferasi pada luka. Beberapa sel yang berasal dari sumsum tulang mungkin terdapat di daerah luka sebagai keratinosit yang memperkuat untuk membantu re-epitelialisasi, meskipun mereka mungkin tidak memainkan peran penting dalam proses (Larjava, 2012).

Ada beberapa mekanisme berbeda dari migrasi keratinosit selama re-epitelialisasi yang telah diusulkan. Pada mekanisme pertama, keratinosit basal bermigrasi pada matriks luka dan secara aktif menarik sepanjang lapisan sel suprabasal. Pada mekanisme kedua, sel-sel epitel di belakang margin luka juga aktif bergerak bersama-sama dengan sel-sel yang terletak di margin luka. Bukti untuk mekanisme ketiga (yang disebut model lompatan-katak), di mana sel-sel di margin luka pada kenyataannya tidak bermigrasi, tetapi keratinosit suprabasal melompati keratinosit basal dan melampirkan ke matriks luka membentuk bagian baru, berasal dari organotypic penyembuhan luka. Mekanisme ini juga melibatkan migrasi intra-epitel (Larjava, 2012).

Setelah bagian epitel yang bermigrasi telah bergabung dan permukaan luka tertutup, migrasi epitel berhenti karena adanya kontak inhibisi, dan epitel berlapis baru dengan membran basal yang mendasarinya telah kembali dari margin luka. Pada luka gingiva kecil, nukleasi membran basal tampaknya terjadi di beberapa daerah pada saat yang sama. Kedua keratinosit dan sel-sel jaringan ikat berkontribusi pada regenerasi membran basal, dan proses ini membutuhkan CXC *chemokine signaling*. Bersamaan dengan regenerasi membran basal, keratinosit mulai berdiferensiasi secara normal dan terbentuk perlekatan hemidesmosomal

baru untuk lamina basal. Deposisi jaringan granulasi dan *remodeling* masih akan terus berlanjut setelah re-epitelialisasi selesai (Larjava, 2012).

2.4 Kakao (*Theobroma cacao* L.)

2.4.1 Asal-usul Tanaman Kakao

Nama generik *Theobroma* berasal dari bahasa Yunani, *theos* artinya "tuhan", dan *broma*, artinya "makanan". *Theobroma* berarti "makanan para dewa". Sedangkan nama spesifik kakao berasal dari *Nahuatl* (bahasa Aztec) kata *xocolatl*, dari *xococ* (pahit) dan *atl* (air). Nama ilmiah *Theobroma cacao* itu dinamai oleh ahli botani Swedia Carl Linnaeus pada tahun 1753.

Kakao telah digunakan suku-suku di Amerika Selatan dan Tengah sejak ratusan tahun lalu. Suku Indian Olmec di Amerika Tengah adalah pengguna cokelat pertama yang tercatat dalam sejarah, sekitar 3000 tahun yang lalu. Suku Olmec, yang kemudian diikuti suku Maya dan Aztec, meminumnya dengan cara menuangkan dari satu pot ke pot yang lain untuk menciptakan gelembung busa di atasnya. Gelembung busa itulah bagian yang paling mereka sukai. Kurang lebih pada tahun 600 M bangsa Maya berpindah ke bagian utara Amerika Selatan dan menemukan tanaman kakao di Yucatan (Ide, 2008).

Pengenalan kakao kepada orang-orang di Eropa terjadi pada tahun 1528. Pada saat itu orang-orang Spanyol membawa pulang beberapa kakao yang sudah mereka olah dan dipersembahkan kepada rajanya, Charles V. Karena rasanya yang sangat lezat, cokelat pun menjadi terkenal di Spanyol sebagai produk makanan dan minuman baru. Pada awal tahun 1550, pengenalan kakao semakin meluas ke seluruh daratan Eropa. Bangsa Spanyol juga memperkenalkan kakao di Indonesia, yakni pada tahun 1560, tepatnya di Celebes (sekarang Sulawesi), Minahasa. Penanaman kakao di Jawa baru dimulai sekitar tahun 1880 (Wahyudi *et al.*, 2008).

Biji kakao berasal dari pohon kakao yang ditemukan di daerah beriklim hangat dan lembab di Indonesia daerah sekitar 20 derajat lintang utara dan selatan khatulistiwa. Secara umum, benih *Theobroma cacao* (dari urutan Sterculiaceae) dikenal terutama dalam dua varietas: Criollo dan Forastero, dengan Forastero dibagi

menjadi beberapa subvarieties. Kelompok ketiga yang disebut Trinitario pada dasarnya adalah persilangan antara Criollo dan Forastero dan tidak ditemukan di dalamnya Alam liar. Biji kakao terdiri dari bagian dalam nib yang ditutupi kulit terluar (Briz, 2015).

2.4.2 Taksonomi Kakao

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivision	: <i>Spermatophyta</i>
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclass	: <i>Oilleniidae</i>
Order	: <i>Malvales</i>
Family	: <i>Sterculiaceae</i>
Genus	: <i>Theobroma L.</i>
Species	: <i>Theobroma cacao</i> (Briz, 2015)

2.4.3 Morfologi Tanaman Kakao

Pohon kakao merupakan pohon dengan tinggi 12-25 kaki, serta bercabang di bagian puncaknya. Batangnya tegak lurus dengan panjang 1,5-2 meter. Kayunya terang dan putih, kulit kayunya tipis, halus, dan kecokelatan. Benihnya banyak, berukuran 2,5 cm, bagian luar berwarna merah kecokelatan, bagian dalam cokelat gelap dan dibungkus dengan lapisan keputih-putihan, manis serta berminyak (Ide, 2008).

Pohon kakao memiliki daun lebar dan mengkilat yang berwarna merah ketika muda dan hijau saat matang. Kuncupnya berjumlah ribuan berupa bunga kecil berwarna merah muda (pink) atau putih yang tumbuh dalam kelompok dan mekar bersamaan di batang dan cabang tua pohon kakao. Tetapi hanya 3-10% yang akan matang menjadi buah (Ide, 2008).

Buahnya berwarna hijau atau kadang merah tua. Bentuknya mirip melon panjang, sering kali kulitnya berubah menjadi keemasan saat matang atau kadang merah berbintik-bintik. Pohon kakao yang sudah dewasa, mencapai tinggi 15-25 kaki, bahkan pohon yang tumbuh liar bisa mencapai 60 kaki atau lebih (Ide, 2008). Morfologi tanaman kakao dapat dilihat pada Gambar 2.2 di bawah ini:

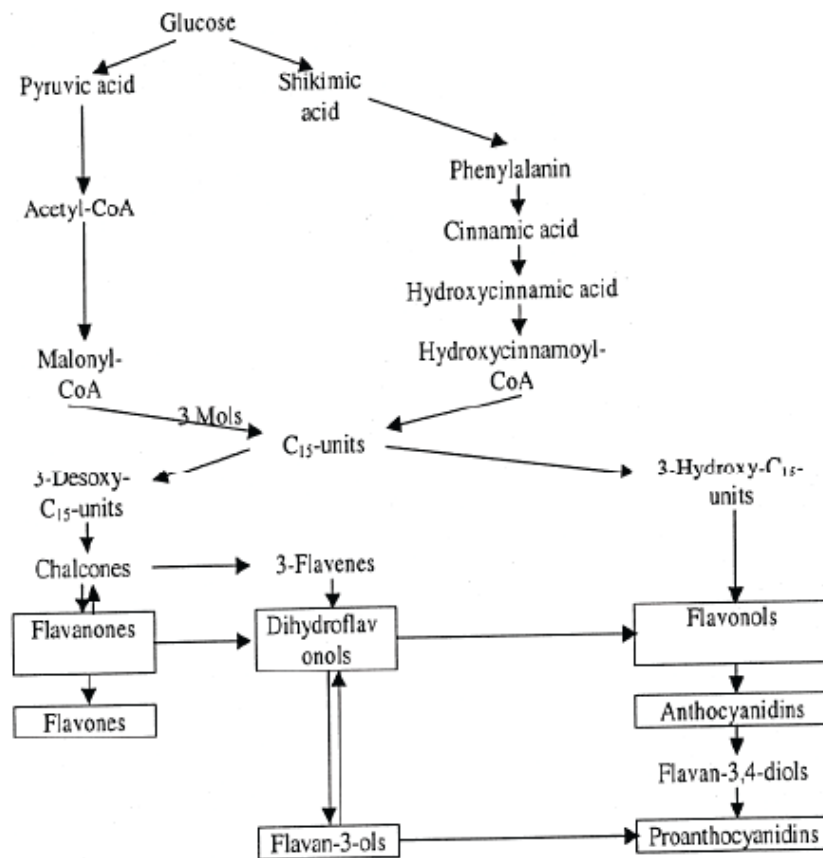


Gambar 2.2 (A) Pohon kakao; (B) Biji kakao yang terekspos dalam pod kakao; (C) Biji kakao (Sumber: Jiyoung *et al.*, 2011)

2.4.4 Kandungan Biji Kakao

Biji kakao mengandung sekitar 600 komponen kimia dan sekitar 230 dianggap bermanfaat bagi kesehatan. Kebanyakan dari komponen ini berupa polifenol (atau flavonoid) yang mampu bertindak sebagai antioksidan. Biji kakao mengandung jumlah flavonoid alami yang lebih kaya dibanding brokoli atau teh hijau (Ide, 2008).

Gambar 2.3 menunjukkan skema senyawa polifenol yang merupakan produk dari metabolisme sekunder tanaman, yang disintesis melalui dua jalur sintetik utama, yaitu jalur shikimat dan jalur piruvat, dimana asam shikimat dan asam piruvat merupakan hasil metabolisme dari senyawa glukosa (Wollgast dan Anklam, 2000).



Gambar 2.3 Skema biosintesis polifenol tanaman kakao (Sumber: Wollgast dan Anklam, 2000)

Jumlah kandungan senyawa polifenol pada biji kakao akan bervariasi tergantung pada tingkat kematangan buah, varietas/kultivar dan lingkungan tempat tumbuh tanaman kakao tersebut (Kowalska dan Sidorczuk, 2007; Meng *et al.*, 2009). Senyawa polifenol di alam diklasifikasikan menjadi (1) fenol sederhana; (2) benzoquinon; (3) asam fenolik; (4) *acetophenon*; (5) asam fenilasetat; (6) asam hidroksi-sinamat; (7) fenilpropen; (8) coumarin; (9) chromone; (10) naphtoquinon; (11) xanthon; (12) stilbene; (13) anthraquinon; (14) flavonoid; (15) lignan; dan (16) lignin (Wollgast dan Anklam, 2000). Pada Tabel 2.1 ditampilkan senyawa polifenol pada kakao yang lebih banyak di dominasi oleh gugus flavonoid yang terdiri dari grup *proanthocyanidin* sebanyak $\pm 58\%$, flavan-3-ol/flavanol sebanyak $\pm 37\%$,

anthocyanidin sebanyak \pm 4% dan flavonol *glycoside* sebanyak \pm 1% (Engler dan Engler, 2004; Andreas-Lacueva *et al.*, 2008; Hii *et al.*, 2009; Chin *et al.*, 2013).

Tabel 2.1 Jenis polifenol yang terkandung pada biji kakao

Proanthocyanidin	Flavan-3 ol	Anthocyanidin	Flavonol glycoside
1. Procyanidin B1	1. (-)-Epicatechin	1. Cyanidin-3- α -L-arabinosid	1. Quercetin-3-O- α -D-arabinosid
2. Procyanidin B2	2. (+)-Catechin	2. Cyanidin-3- β -D-galaktosid	2. Quercetin-3-O- β -D-glucopuranosid
3. Procyanidin B3	3. (+)-Gallocatechin		
4. Procyanidin B4	4. (-)-Epigallocatechin		
5. Procyanidin B5			
6. Procyanidin C1			
7. Procyanidin D			

(Sumber: Wollgast dan Aklam, 2000; Jalil dan Ismail, 2008; Jonvia-Essien *et al.*, 2008)

2.5 Alvogyl

Alvogyl merupakan obat pasca pencabutan gigi dan sering digunakan untuk pengobatan *dry socket* (Gambar 2.4). Freedman dan Stassen (2013) menyebutkan bahwa Alvogyl mengandung butamben, iodoform dan eugenol sebagai bahan aktifnya. Butamben adalah anestesi lokal ester dengan nama kimia butil 4-aminobenzoat. Iodoform adalah agen antimikroba berbasis yodium. Eugenol adalah minyak esensial, yang berasal dari berbagai tanaman, termasuk cengkeh. Sejumlah bahan lainnya dicampur dengan bahan aktif ini untuk membentuk konsentrat pasta (Tabel 2.2).

Alvogyl dimasukkan ke dalam soket dengan tujuan untuk mengurangi rasa sakit dan infeksi. Syrjänen pada tahun 1979 melakukan penelitian mengenai efek Alvogyl terhadap penyembuhan soket pasca pencabutan gigi. Penelitian dilakukan pada delapan sukarelawan, masing-masing dilakukan pencabutan dua gigi molar. Satu soket diberi Alvogyl, sementara soket yang lain tidak diberi perlakuan. Pada satu minggu sampai dua minggu pasca pencabutan gigi, biopsi diambil dari masing-masing soket dan tingkat kesembuhannya dibandingkan. Hasilnya ditemukan

tingkat jaringan fibrosa yang jauh lebih tinggi, reaksi inflamasi dan sel raksasa di soket yang diberi Alvogyl. Meskipun demikian, pasien secara subyektif melaporkan rasa sakit di tempat yang telah dirawat dengan Alvogyl lebih sedikit (Freedman dan Stassen, 2013).

Tabel 2.2 Komposisi Alvogyl

Bahan	Kuantitas
Butamben	25, 7 g
Iodoform	15, 8 g
Eugenol	13, 7 g

(Sumber: Freedman dan Stassen, 2013)



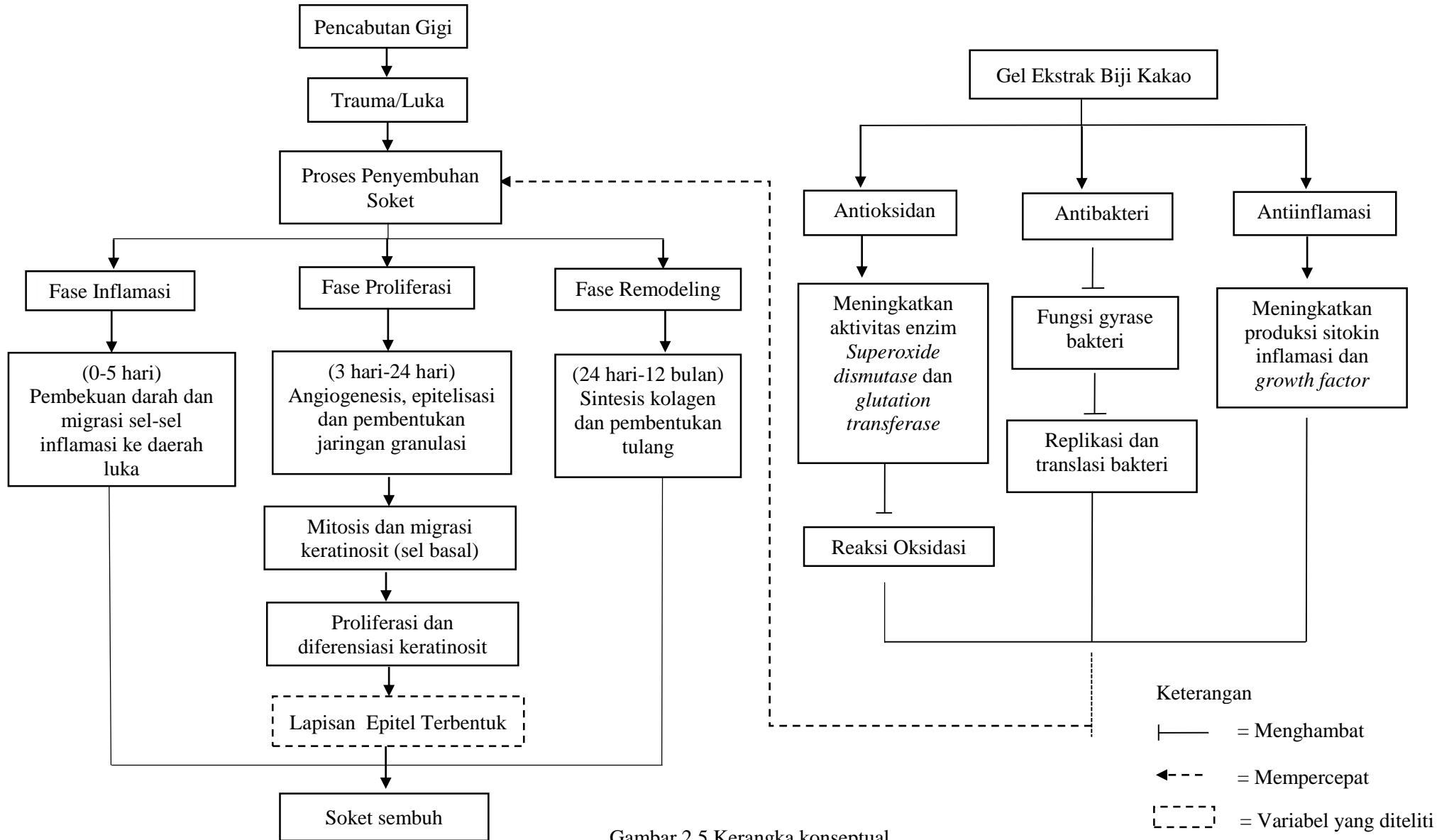
Gambar 2.4 Alvogyl dalam kemasan (Medicine-Online.org)

2.6 Pengaruh Biji Kakao terhadap Proses Penyembuhan Luka

Biji kakao memiliki banyak kandungan yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka. memiliki efek antioksidan yang dapat mempercepat fase inflamasi dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi oksidasi dengan meningkatkan aktifitas enzim *Superoxide dismutase (SOD)* dan *glutathion transferase*. Selain itu biji kakao memiliki aktivitas antiinflamasi yang bekerja menghambat fase penting dalam biosintesis prostaglandin yaitu pada lintasan siklooksigenase dan juga memiliki aktivitas antibakteri melalui hambatan fungsi *gyrase* bakteri sehingga kemampuan replikasi dan translasi bakteri dihambat (Fuadi *et al.*, 2015)

Aktivitas antiinflamasi dari biji kakao dapat merangsang sel-sel seperti makrofag untuk menghasilkan *growth factor* dan sitokin seperti *EGF*, *TGF- β* dan *IL-4*. *TGF- β* dan *EGF* berfungsi untuk induksi proliferasi dan migrasi fibroblas serta induksi fibroblas dalam produksi matriks ekstra seluler. *IL-4* berfungsi menginduksi proses kemotaksis fibroblas dan keratinosit, mengaktifasi proliferasi fibroblas, menginduksi sintesa kolagen dan proteoglikan, mengaktifasi makrofag untuk memulai proses kemotaksis, menginduksi marginasi dan maturasi keratinosit yang akan mempercepat pembentukan epitel (Fuadi *et al.*, 2015).

2.7 Kerangka Konseptual



Gambar 2.5 Kerangka konseptual

2.8 Penjelasan Kerangka Konseptual

Pencabutan gigi dapat menimbulkan trauma berupa rusaknya jaringan periodontal dan pembuluh darah di sekitar gigi yang memicu respon inflamasi sehingga menyebabkan terjadinya proses penyembuhan luka soket. Proses penyembuhan luka dapat dikelompokkan menjadi tiga fase yang berbeda: inflamasi, proliferasi dan remodeling. Fase inflamasi terjadi pada minggu pertama, dari hari ke-0 sampai hari ke-5 (Ardhiyanto, 2007). Pada fase ini terjadi hemostasis dengan pembekuan darah dan migrasi sel-sel inflamasi ke daerah luka. Setelah melalui fase inflamasi proses penyembuhan dilanjutkan dengan fase proliferasi yang terjadi pada hari ketiga sampai hari ke-24. Pada fase ini inflamasi berkurang, terjadinya angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi dan proses epitelialisasi dimulai. Selanjutnya adalah fase remodeling yang terjadi pada hari ke-24 sampai 12 bulan dimana pada fase ini terjadi sintesis kolagen dan pembentukan tulang. Ketika ketiga fase ini dilalui dengan baik, maka soket akan sembuh (Ardhiyanto, 2007).

Biji kakao memiliki banyak kandungan yang berperan dalam proses penyembuhan soket gigi. Biji kakao memiliki efek sebagai antioksidan dengan mencegah reaksi oksidasi dengan meningkatkan aktifitas enzim *Superoxide dismutase (SOD)* dan *glutathion transferase*; antibakteri dengan menghambat fungsi *gyrase* bakteri sehingga kemampuan replikasi dan translasi bakteri dihambat; dan antiinflamasi dengan meningkatkan produksi sitokin inflamasi dan *growth factor*. Kandungan dalam biji dapat meningkatkan pembentukan sitokin dan *growth factor* yang berperan dalam migrasi dan mitosis keratinosit. Akibat dari migrasi dan mitosis keratinosit dapat meningkatkan proliferasi dan differensiasi keratinosit itu sendiri, yang akan menyebabkan pembentukan lapisan epitel yang mempercepat penyembuhan soket. Selain itu sediaan gel dapat mempercepat penyembuhan luka. Gel dengan kandungan air dapat mempertahankan sifat lembab pada daerah luka dan sekitarnya. Keadaan lembab dapat meningkatkan reepitelialisasi dan migrasi epitel sehingga proses penyembuhan luka bisa lebih cepat (Fuadi *et al.*, 2015)

2.9 Hipotesis

1. Ekstrak biji memiliki efek meningkatkan re-epitelialisasi pada penyembuhan luka soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar.
2. Konsentrasi ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) 16% efektif terhadap re-epitelialisasi pada penyembuhan luka soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *experimental laboratories*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test only control group design*.

3.2 Tempat Penelitian

3.2.1 Identifikasi tanaman kakao dilakukan di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur.

3.2.2 Pembuatan ekstrak biji kakao dilakukan di Laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.2.3 Pembuatan gel ekstrak biji kakao dilakukan di Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.2.4 Perlakuan hewan coba (pencabutan gigi tikus dan pemberian ekstrak biji kakao 8%, ekstrak biji kakao 16%, Alvogyl, serta placebo) dilakukan di Laboratorium Farmakologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.2.5 Pembuatan preparat dan pengamatan jaringan dilakukan di Laboratorium Histologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.3 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2018-selesai

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak biji kakao.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah re-epitelialisasi soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar jantan.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kriteria hewan coba, tempat dan cara pemeliharaan hewan coba, cara pembuatan ekstrak biji kakao, cara pemberian ekstrak biji kakao, waktu, dan dosis ekstrak biji kakao yang diberikan, teknik pencabutan gigi pada tikus Wistar jantan, cara pembuatan sediaan jaringan, pengecatan sediaan, serta cara pengukuran re-epitelialisasi.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Ekstrak Biji Kakao

Ekstrak biji kakao adalah ekstrak dari biji kakao kering jenis lindak dengan karakteristik biji gepeng dan berwarna ungu, berasal dari Kecamatan Tempurejo, Kabupaten Jember. Biji kakao kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% untuk selanjutnya dibuat sediaan gel. Sediaan gel ekstrak biji kakao dengan konsentrasi 8% dan 16% dalam bentuk setengah padat, diberikan secara topikal pada soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar jantan.

3.5.2 Re-epitelialisasi

Re-epitelialisasi dilihat dari ketebalan epitel soket yang diukur dari stratum korneum sampai stratum basal pada daerah gingiva yang menutupi soket gigi dengan bantuan optilab dan *software image raster*. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x dengan pengecatan HE (*Haemaktosilin Eosin*).

3.5.3 Pencabutan Gigi

Pencabutan Gigi adalah pencabutan gigi molar satu rahang bawah kiri tikus Wistar jantan yang dilakukan dengan menggunakan metode pencabutan sederhana, yaitu menggunakan ekskavator dan sonde bengkok. Pencabutan gigi dilakukan hati-hati dengan arah dan gerakan yang tidak menimbulkan trauma berlebih pada jaringan, menggunakan anastesi ketamine dengan dosis 20-40 mg/kg berat badan tikus.

3.6 Sampel Penelitian

3.6.1 Kriteria Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria sebagai berikut: tikus putih dengan jenis kelamin jantan strain Wistar (*Rattus norvegicus*), berat badan 175-200 gram, umur 2-3 bulan, dan keadaan umum tikus Wistar baik, tidak cacat fisik. Kriteria eksklusi adalah tikus yang mati selama penelitian. Tikus dinyatakan *drop out* jika tikus memiliki kriteria eksklusi dan diganti dengan tikus lain sesuai kriteria inklusi sehingga didapatkan jumlah sampel yang sesuai dengan besar sampel.

3.6.2 Besar Sampel

Besar sampel pada penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005):

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

Keterangan :

n = besar sampel tiap kelompok

Z = nilai pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha=0,05$ maka nilai Z = 1,96

σ = Standar deviasi sampel

d = Kesalahan yang dapat ditoleransi, diasumsikan $d = \sigma$

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

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

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

$$n = 3,84 \approx 4$$

Jadi, jumlah sampel minimum yang harus digunakan adalah 4 sampel untuk masing-masing kelompok.

3.6.3 Pengelompokan Sampel

Sampel sebanyak 32 ekor tikus Wistar dibagi menjadi empat kelompok yang masing-masing berjumlah delapan ekor, yaitu kelompok kontrol negatif (K1), kelompok kontrol positif (K2), kelompok perlakuan I (P1), dan kelompok perlakuan II (P2). Setiap kelompok dibagi lagi menjadi dua subkelompok yang masing-masing terdiri dari empat ekor tikus. Pengelompokan sampel dapat dilihat pada Tabel 3.1 di bawah ini.

Tabel 3.1 Pengelompokan sampel penelitian

Kelompok	Sub-Kelompok	Keterangan	Jumlah sampel
K1	H-3	Tikus diberi gel placebo (CMC-Na) pasca ekstraksi, pada hari ketiga dieutanasia	4
	H-7	Tikus diberi gel placebo (CMC-Na) pasca ekstraksi, pada hari ketujuh dieutanasia	4
K2	H-3	Tikus diberi <i>Alvogyl</i> pasca ekstraksi, pada hari ketiga dieutanasia	4
	H-7	Tikus diberi <i>Alvogyl</i> pasca ekstraksi, pada hari ketujuh dieutanasia	4
P1	H-3	Tikus diberi gel ekstrak biji kakao 8% pasca ekstraksi, pada hari ketiga dieutanasia	4
	H-7	Tikus diberi gel ekstrak biji kakao 8% pasca ekstraksi, pada hari ketujuh dieutanasia	4
P2	H-3	Tikus diberi gel ekstrak biji kakao 16% pasca ekstraksi, pada hari ketiga dieutanasia	4
	H-7	Tikus diberi gel ekstrak biji kakao 16% pasca ekstraksi, pada hari ketujuh dieutanasia	4

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

- a. Alat pemeliharaan hewan coba terdiri dari kandang tikus, tempat makan dan minum tikus, handscoon (Sensi), masker (earloop), dan sonde lambung.
- b. Alat pembuatan gel ekstrak etanol biji kakao terdiri dari mesin penggiling/blender (Miyako, Jepang), toples, corong, neraca digital (Ohaus, Jerman), oven (Binder, Jerman), labu erlenmeyer (pyrex), gelas ukur (pyrex), dan *rotary evaporator* (Heppendolf, Jerman).
- c. Alat ekstraksi gigi terdiri dari pinset anatomis (Dentica stainless steel), sonde setengah lingkaran (Dentica stainless steel), *Arteri clam* bengkok (Yamaco stainless steel), *Disposable syringe tuberculin* 1 ml (One Med, Indonesia), gunting (Gunindo, Indonesia), dan ekskavator kecil (Dentica stainless steel).
- d. Alat dekapitasi dan pengambilan sampel terdiri dari papan bedah, blade scalpel, toples kaca, dan gunting.
- e. Alat pembuatan preparat terdiri dari botol untuk dekalsifikasi, *Mikrotom* (Leica, Jerman), kuas kecil, mikroskop cahaya (Olympus photo slide BX51 with Cam DP71 12mpx, Jepang), blok paraffin, *object glass* (Slides), *deck/ cover glass*(Menzel-Glaser), *water bath* (Memert, Jerman), *slide warmer* (Sakura, Jepang), blok kayu, erlenmeyer 500 cc (Pyrex), *embedding kaset/ blok kayu*, *staining jar* (Sakura, Jepang), dan *histological basket* (Sakura, Jepang).

3.7.2 Bahan Penelitian

- a. Bahan untuk pemeliharaan hewan coba terdiri dari makanan standart untuk tikus Wistar yang beredar di pasaran yaitu jenis konsentrat (Turbo 512), air mineral, aquadest, gabah/sekam, dan sabun colek.
- b. Bahan pembuatan gel ekstrak biji kakao terdiri dari biji kakao kering, etanol 96%, kertas saring (*Whatman filter paper*), dan CMC-Na.

- c. Bahan ekstraksi gigi hewan coba terdiri dari ketamin 1000 mg/10ml, kapas steril, *cotton roll*, dan aquadest steril.
- d. Bahan eutanasia hewan coba terdiri dari eter dan kapas
- e. Bahan pembuatan preparat terdiri dari alkohol 70%, 80%, 95%, 100%, formalin 10%, xylol, asam formait 10%, paraffin TD, cat Haematoxilin-Eosin, meyer egg albumin, larutan eosin, entellan, gliserin, benang, dan kertas saring 110 mm (Whatman, UK).

3.8 Penghitungan Dosis

3.8.1 Dosis Ekstrak Biji Kakao

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

Contoh penghitungan dosis yang digunakan dengan berat badan tikus 200 gram:

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

3.8.2 Dosis Ketamin

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

3.8.3 Dosis Alvogyl

Alvogyl yang digunakan pada penelitian adalah Alvogyl merek dagang Septodont dengan dosis 0,2 g untuk penggunaan pada manusia. Dosis yang digunakan pada tikus sesuai dengan konversi perhitungan dosis manusia (berat

badan 70 kg) terhadap hewan coba (berat badan 200 gr) sebagai berikut (Kusumawati, 2004):

$$\begin{aligned}\text{Dosis yang digunakan pada tikus} &= \text{Dosis manusia} \times 0,018 \\ &= 0,2 \text{ gram} \times 0,018 \\ &= 0,0036 \text{ gram} \times 1000 \\ &= 0,36 \text{ mg}\end{aligned}$$

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Ethical Clearance

Prosedur pertama sebelum penelitian pada hewan coba, dilakukan pengurusan *ethical clearance* di Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.9.2 Persiapan Hewan Coba

Tikus diadaptasikan dalam kandang yang berada di Laboratorium Farmakologi bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember kurang lebih selama 1 minggu untuk proses aklimatisasi. Aklimatisasi adalah penyesuaian atau adaptasi lingkungan yang lama atau asal hewan coba dengan keadaan lingkungan yang baru. Selama proses penyesuaian tersebut, tikus dijaga kebutuhan suplai makan dan minumannya agar terpenuhi nutrisinya.

3.9.3 Pembuatan Ekstrak Biji Kakao

Proses pembuatan ekstrak biji kakao menggunakan teknik maserasi. Pertama, biji kakao dibersihkan dari pulpa biji, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (tidak dipanaskan dengan sinar matahari langsung, hal ini bertujuan agar zat-zat kimia biji kakao tidak rusak karena terpapar sinar matahari) selama ± 24 jam. Tahap selanjutnya, biji kakao tersebut ditumbuk kasar dan diangin-anginkan lagi sampai kering selama ± 48 jam. Setelah hampir kering, kemudian digunakan oven untuk mendapatkan simplisian yang lebih kering, dengan suhu 50°C kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk. Selanjutnya serbuk

diayak menggunakan ayakan. Setelah diayak, serbuk biji kakao tersebut direndam dalam etanol 96% selama 24 jam. 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 bebas 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. Kemudian ekstrak diencerkan seri menggunakan aquades untuk mendapatkan ekstrak biji kakao pada konsentrasi 8% dan 16% (Hafidhah *et al.*, 2017).

3.9.4 Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao

Proses pembuatan gel ekstrak biji kakao dimulai dari pengukuran aquades 96 ml dengan labu ukur dan dituangkan ke dalam lumpang. Kemudian 4 gram CMC-Na diukur dengan timbangan analitik, lalu 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.

3.9.5 Perlakuan Hewan Coba

1. Setelah tikus diadaptasikan selama satu minggu, dilakukan pencabutan gigi molar satu rahang kiri bawah pada semua kelompok. Prosedur ekstraksi gigi yang dilakukan yaitu:
 - a. Tikus dianastesi dengan menggunakan ketamin dengan dosis 20-40 mg/kg berat badan yang diinjeksikan secara intramuskular pada kaki tikus.
 - b. Setelah anastesi bereaksi yang ditandai dengan kondisi tikus lemas, tikus diletakkan pada *rat dental chair*.
 - c. Gigi tikus dipisahkan dengan jaringan sekitarnya menggunakan sonde setengah lingkaran, kemudian setelah gigi terlepas dari perlekatan, gigi tikus diungkit dengan menggunakan *excavator* atau sonde setengah

lingkaran (sebagai pengganti *bein*) dan diambil dari soket menggunakan *arteri clamp* (sebagai pengganti *forcep*).

2. Perlakuan mulai diberikan di hari pertama pencabutan, dilakukan setiap hari sampai tikus dieutanasia sesuai dengan hari pembagian subkelompok (hari ke-3 dan ke-7). Perlakuan yang diberikan yaitu:
 - a. Kelompok K1 diberi gel placebo (CMC-Na) 1x/hari secara topikal dengan dosis 2,5 mg, menggunakan *excavator* lalu diratakan agar gel yang diberikan sama antar sampel dan kelompok.
 - b. Kelompok K2 diberi Alvogyl 1x/hari secara topikal dengan dosis 0,36 mg, menggunakan *excavator* lalu diratakan agar gel yang diberikan sama antar sampel dan kelompok.
 - c. Kelompok P1 diberi gel ekstrak biji kakao 8% 1x/hari secara topikal dengan dosis 2,5 mg, menggunakan *excavator* lalu diratakan agar gel yang diberikan sama antar sampel dan kelompok.
 - d. Kelompok P1 diberi gel ekstrak biji kakao 16% 1x/hari secara topikal dengan dosis 2,5 mg, menggunakan *excavator* lalu diratakan agar gel yang diberikan sama antar sampel dan kelompok.

3.9.6 Eutanasia Hewan Coba

1. Pada hari ke-3 pasca pencabutan gigi, semua subkelompok H-3 dieutanasia dengan menggunakan metode overdosis inhalasi eter. Tikus dimasukkan ke dalam toples kaca yang di dalamnya terdapat kapas yang dibasahi larutan eter dan ditutup rapat untuk beberapa saat hingga tikus mati.
2. Pada hari ke-7 pasca pencabutan gigi, semua subkelompok H-7 dieutanasia dengan menggunakan metode overdosis inhalasi eter. Tikus dimasukkan ke dalam toples yang di dalamnya terdapat kapas yang dibasahi larutan eter dan ditutup rapat untuk beberapa saat hingga tikus mati.

3.9.7 Pembuatan Sediaan Histologis

Tahap pembuatan sediaan histologis sebagai berikut (Tim Patologi Anatomi FKG UNEJ, 2007):

1. Pengambilan sampel sediaan

Pemotongan rahang bawah kiri tikus pada regio posterior dengan melebihkan jaringan yang di ambil sepanjang 5 mm pada bagian mesial distal dari soket gigi. Pembuatan preparat jaringan diambil dengan arah transversal agar bentuk soket dapat terlihat dengan jelas. Jaringan difiksasi dengan menggunakan larutan buffer formalin 10% selama minimal 24 jam untuk mencegah terjadinya autolisis, mempertahankan morfologi, dan mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri. Setelah difiksasi jaringan dicuci dengan air mengalir.

2. Dekalsifikasi

Dekalsifikasi dengan tujuan untuk melepaskan bahan anorganik dalam tulang tanpa merusak protein yang ada. Dekalsifikasi dilakukan dengan memakai larutan asam formiat 10% selama tujuh hari.

3. Pemrosesan jaringan

Tahapan pemrosesan jaringan adalah sebagai berikut :

a. Dehidrasi

Dehidrasi merupakan penarikan air dari dalam jaringan dengan menggunakan konsentrasi rendah ke tinggi. Dehidrasi dimulai dengan alkohol 70% selama 15 menit, 80% selama 1 jam, 95% selama 2 jam, dan 100% selama 3 jam.

b. *Clearing*

Clearing merupakan proses penjernihan jaringan 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.

c. Impregnasi

Impregnasi merupakan proses infiltrasi bahan embedding kedalam jaringan pada suhu 56°-60°C. Caranya jaringan dibungkus dengan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam bahan embedding yaitu parafin TD 56-60°C selama 3 x 2 jam.

d. *Embedding*

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

1. Mempersiapkan alat cetak blok parafin (*base mould*), letakkan alat ini diatas permukaan yang rata. Alat dan alas diolesin gliserin untuk mempermudah pemisahan alat cetak dan kaca dengan blok parafin yang sudah beku.
2. Menuangkan parafin cair kedalam alat cetak blok, kemudian masukkan jaringan yang telah diimpregnasi menggunakan pinset dengan posisi *cutting surface* menghadap dasar *base mould*. Ditunggu beberapa menit sampai parafin beku.
3. Parafin blok siap di potong setelah dilepas dari alat cetakan.

e. *Penyayatan*

Penyayatan blok parafin 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:

1. Penyayatan menggunakan mikrotom, sebelumnya dibersihkan pisau mikrotom dengan kasa atau kertas saring yang dibasahi dengan xylol arah tegak lurus.
2. Mengatur ketebalan sayatan mikrotom yaitu 5 µm, kemudian dilakukan pemotongan arah transversal agar bentukan soket dapat terlihat dengan jelas.
3. Mengambil sayatan yang telah diperoleh dengan kuas lalu letakkan diatas permukaan air *waterbath* dengan suhu tetap 56°-58°C hingga sayatan mekar.

4. Mengambil sayatan yang sudah mekar dengan *object glass* yang diolesi dengan meyer egg albumin, dikeringkan dengan suhu 30°-35°C minimal selama 12 jam.

3.9.8 Pengecatan Preparat Jaringan

Pengecatan preparat jaringan dilakukan dengan tahapan :

1. Deparafinasi dengan menggunakan xylol, preparat dimasukkan ke dalam xylol selama 2-3 menit lalu diulangi dengan memasukkan kembali ke dalam wadah yang berbeda selama 2-3 menit.
2. Rehidrasi dengan larutan alkohol 100% dan 95% selama 2x3 menit.
3. Preparat dibilas dengan air mengalir selama 10-15 menit, mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat untuk menghilangkan semua kelebihan alkohol.
4. Preparat diwarnai dengan zat warna Hematoxillin Mayer's selama 15 menit.
5. Bilas ulang dengan air mengalir selama 20 menit.
6. Preparat direndam eosin selama 15 detik sampai 2 menit.
7. Dehidrasi kembali dengan konsentrasi meningkat 95% dan 100% masing-masing 2-3 menit sebanyak 2 kali dalam wadah yang berbeda.
8. Setelah itu, preparat dimasukkan ke dalam xylol tiga kali masing-masing 3 menit dengan wadah yang berbeda.
9. Mounting menggunakan cairan Entellan lalu ditutup dengan deck glass.

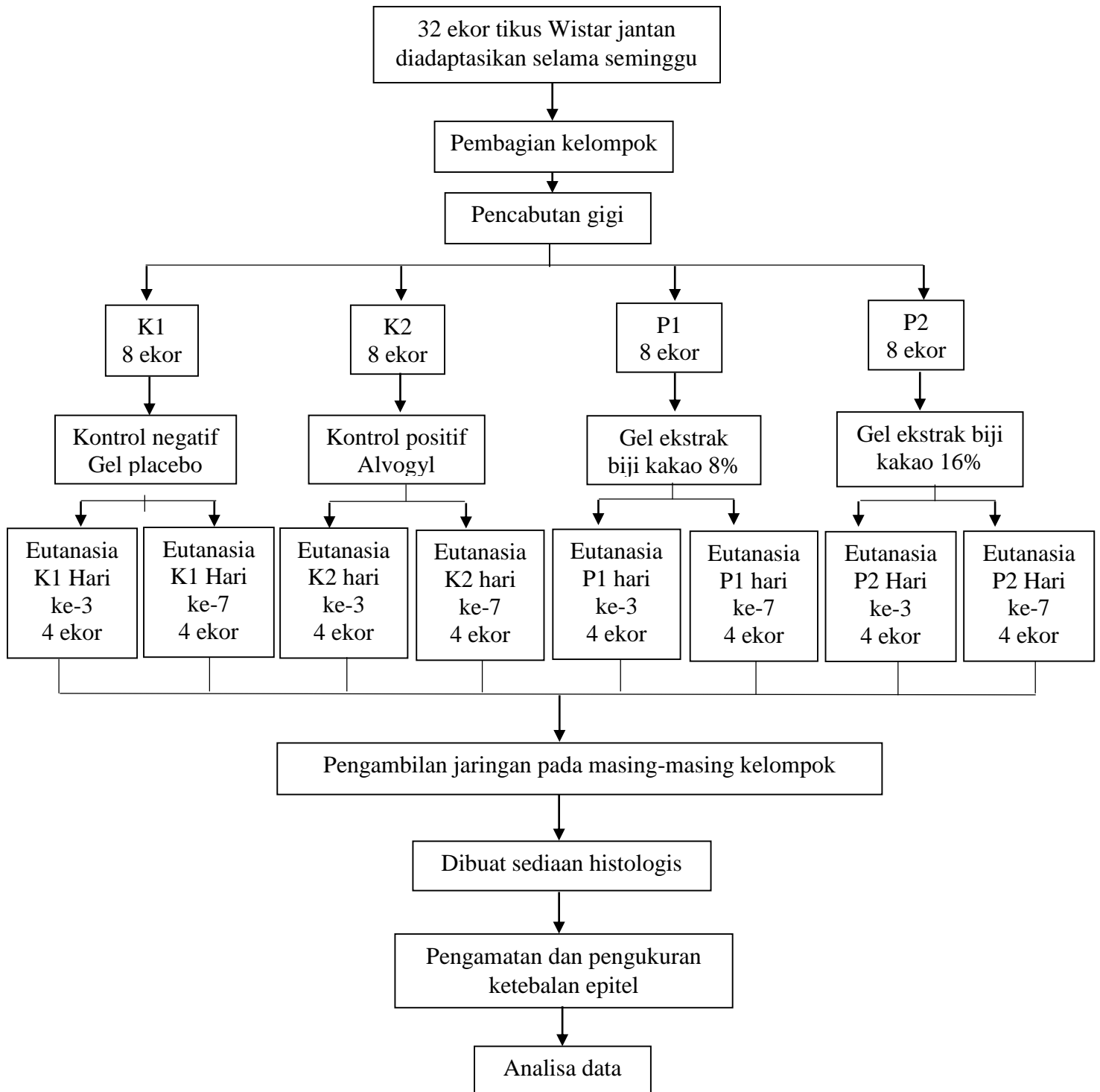
3.9.9 Tahap Pengamatan dan Pengukuran Re-epitelialisasi

Re-epitelialisasi dilihat dari ketebalan epitel yang diukur dari stratum korneum sampai stratum basal pada daerah epitel gingiva yang menutupi soket gigi. Pengukuran dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x dengan bantuan optilab dan *software image raster*. Ketebalan epitel diperoleh dari pengukuran di daerah mesial tepi soket pada tiga lapang pandang yang diamati dan diukur oleh tiga pengamat.

3.10 Analisa data

Data yang telah diperoleh dilakukan uji normalitas dengan test *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan *Levene Test*. Selanjutnya analisa data menggunakan uji parametrik, yaitu uji *One Way Anova*. Kemudian dilakukan uji *LSD (Least Significant Difference)* untuk mengetahui dua kelompok yang memiliki perbedaan.

3.11 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) memiliki efek meningkatkan re-epitelialisasi soket pasca pencabutan gigi tikus wistar.
2. Konsentrasi ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) yang efektif terhadap re-epitelialisasi soket pasca pencabutan gigi tikus wistar adalah 16%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan penulis adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek pemberian ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap hari pengamatan dalam fase yang berbeda pada penyembuhan luka soket pasca pencabutan gigi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap variabel lain pada penyembuhan luka soket pasca pencabutan gigi.
3. Perlu dilakukan pengamatan ketebalan epitel di sisi yang lain sehingga didapatkan gambaran keseluruhan dari penyembuhan soket.

DAFTAR PUSTAKA

- AbdullGaffar, B., Alawadhi, F., dan Gandour, K. 2016. Alvogyl Dental Dressing: A Potential Cause of Complicated Postextraction Nonhealing Sockets: A Clinicopathologic study of 7 cases. *Int J dent Oral Health*. Vol 2(4)
- Adeyemo, W. L., Ladeinde, A. L., dan Ogunlewe, M.O. 2006. Clinical Evaluation of Post-Extraction Site Wound Healing, *J. Contemp. Dent. Pract*
- Andres-Lacueva, C., Monagas, M., Khan, N., Izquierdo-Pulido, M., Urpi-Sarda, J., Permanyer, dan Lamuela-Raventos, R.M. 2008. Flavanol And Flavonol Contents Of Cocoa Powder Product: Influence Of The Manufacturing Process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 : 3111-3117.
- Ardhiyanto, H. B. 2007. Proses Penyembuhan Luka Post Ekstraksi Gigi. *Stomatognati*. 4 (2): 60-65
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2008. *Riset Kesehatan Dasar: Laporan Nasional 2007*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI
- Briz, W. M. 2015. Cacao (*Theobroma cacao* Linnaeus). Research Information Series on Ecosystems 27 (1)
- Broughton, G., Janis, J. E., Attinger, C. E. 2006. Wound Healing: An Overview. *Plastic and Reconstructive Surgery* 117: 1e-S
- Chin, E., Miller, K.B., Payne, M.J., Hurst, W.J., dan Stuart, D.A. 2013. Comparison Of Antioxidant Activity And Flavanol Content Of Cocoa Beans Processed By Modern And Traditional Mesoamerican Methods. *Heritage Science* 1 : 1-7.
- Daniel, W. 2005. *Biostatistic a Foundation for Analysis in the Health Sciences*. 8th edition. Georgia: Wiley.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2016. *Statistik Perkebunan Indonesia 2015-2017*. Jakarta: Kementerian Pertanian
- Emelda, A., Rusli, dan Santi, I. 2016. Kandungan Flavanoid Total Dan Aktivitas Antimikroba Serbuk Biji Kakao (*Theobroma cacao*) asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Pharmaciana* 6 (2): 207-214
- Engler, M.B. dan Engler, M.M. 2004. The Vasculoprotective Effects Of Flavonoid-Rich Cocoa And Chocolate. *Nutrition Research* 24 : 695-706.

- Faizel, S., Thomas, S., dan Yuvaraj, V. 2014. Comparison Between Neocone, Alvogyl and Zinc Oxide Eugenol Packing for the Treatment of Dry Socket: A Double Blind Randomised Control Trial. *J. Maxillofac. Oral Surg.*
- Freedman, M., dan Stassen, L. F. 2013. Commonly Used Topical Oral Wound Dressing Materials In Dental And Surgical Practice—A Literature Review. *Irish Medical Journal (IMJ)* 59 (4):190-195
- Fuadi, M. I., Elfiah U., Misnawi. 2015. Jumlah Fibroblas pada Luka Bakar Derajat II pada Tikus dengan Pemberian Gel Ekstrak Etanol Biji Kakao dan Silver Sulfadiazine. *Pustaka Kesehatan* 3 No. 2: 244–248.
- Hafidhah, Nurul, dan Rachmi Fanani Hakim. 2017. Pengaruh Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus Faecalis* Pada Berbagai Konsentrasi. *Journal Caninus Dentistry* 2 (2): 92–96.
- Hakkinen, L., Uitto, V.J., dan Larjava, H. 2000. Cell Biology of Gingival Wound Healing. *Periodontology* 24:127–52.
- Hii, C.L., Law, C.L., Suzannah, S., Misnawi, dan Cloke, M. 2009. Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao L.*). *Asian Journal of Food and Agro-Industry* 2 (4): 702-722.
- <http://www.medicine-online.org/img/cms/alvogyl.JPG>. Diakses 14 November 2017
- ICCO. 2012. International Cocoa Organization Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XXXVIII. No. 4, Cocoa year 2011/2012.
- Ide P. 2008. *Dark Chocolate Healing*. Jakarta: PT Elex Media Computindo
- Jalil, A.M.M. dan Ismail, A. 2008. Polyphenols In Cocoa And Cocoa Product : Is There A Link Between Antioxidant Properties And Health?. *Molecules* 13 : 2190-2219.
- Jiyoung, K., Kiwon, L., dan Hyongjoo, L., 2011. Cocoa (*Theobroma cacao*) Seeds and Phytochemicals in Human Health, in: Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention. Elsevier, pp. 351–360.
- Jonvia-Essien, W.A., West, G., Alderson, P.G., dan Tucker, G. 2008. Phenolic Content And Antioxidant Capacity Of Hybrid Variety Cocoa Beans. *Food Chemistry* 108 : 1155-1159.
- Kowalska, J. dan A. Sidorcuk. 2007. Analysis Of The Effect Of Technological Processing On Changes Antioxidant Properties Of Cocoa Processed Products. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 57 (2A) : 95-99.

- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gajah Mada
- Larjava, H. 2012. *Oral Wound Healing: Cell Biology and Clinical Management*. UK: Wiley-Blackwell
- Li, J., Chen, Juan., dan Kirsner, R. 2007. Pathophysiology of Acute Wound Healing. *Clinics in Dermatology* 25: 9-18.
- Lorenz, H. P. dan Longaker, M.T. 2003. Wounds: Biology, Pathology, And Management. *Essential Practice of Surgery*. 77–88
- Manor, Y., Mardinger, O., Zaks, O., Haim, D., Manor, A., dan Chaushu, G. 2015. Complications Following Dental Extractions in a Mobile Dental Clinic. *J Dent Oral Care Med* 1(1): 101.
- Meng, C.C., A.M.M. Jalil dan A. Ismail. 2009. Phenolic And Theobromine Contents Of Commercial Dark, Milk And White Chocolates On The Malaysian Market. *Molecules* 14 : 200-209.
- Mescher, A.L. 2011. *Histologi Dasar Junqueira: Teks dan Atlas Edisi 12*. Jakarta: EGC
- Miloro M., 2004. *Petersons Principles of Oral and Maxillofacial Surgery 2nd Ed* Bc Decker Inc. London pp. 3-5
- Musdallifah, S. 2014. Potensi Ekstrak Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) Terhadap Peningkatan Ketebalan Epitel Gingiva Pasca Pencabutan Gigi pada Tikus Wistar Jantan. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Newman, M. G., Takei, H.H., Klokkevold, P. R., dan Carranza, F.A. 2012. *The Gingiva in Carranza's Clinical Periodontology 12th Ed*. Philadelphia: W. B. Saunders Co.
- Pastar, I., Stojadinovic, O., Yin, N. C., Ramirez, H., Nusbaum, A. G., Sawaya, A., Patel, S. B., Khalid, L., Isseroff, R. R., dan Tomic Canic, M. 2014. Epithelization in Wound Healing: A Comprehensive Review. *Advances in Wound Care* Vol. 3 (7): 445-464
- Pedlar, J., dan Frame, J. 2007. *Extraction of Teeth in Oral and Maxillofacial Surgery-An objective based textbook*. Second edition. London: Churchill Livingstone
- Prasetyono, T. O. H. 2009. General Concept of Wound Healing. *Med J Indonesia*. Vol.18 No. 3 :208-216

- Ramiro, E., Àngels, F., Cristina, C., Francisco, P., Joan, P., Maria, I., dan Margarida, C. 2005. Flavonoids from *Theobroma Cacao* Down-Regulate Inflammatory Mediators. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, no. 22:06–11.
- Rupina, W., Trianto, H. F., Fitrianingrum, I. 2016. Efek Salep Ekstrak Etanol 70% Daun Karamunting terhadap Re-epitelialisasi Luka Insisi Kulit Tikus Wistar. *eJKI* 4 (1): 26-30.
- Ryalat, S. T., Marmash, A., Mohammad H. A.T. 2011. The Effect of Alvogyl™ When Used As a Post Extraction Packing. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol 4 No. 2: 149–153.
- 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., Mao, T. K., Keen, C. L., Schmitz, H. H., dan Gershwin, M. E. 2006. The Anti-inflammatory Properties of Cocoa Flavanols. *J Cardiovasc Pharmacol* 47[Suppl 2]:S613-S171.
- Sies, H., T. Schewe, C. Heiss dan Keln, M. 2005. Cocoa polyphenols and inflammatory mediators. *American Journal of Clinical Nutrition* 81 : 304-312.
- Tim Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. 2007. *Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi Degenerasi dan Radang*. Tim Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Topazian, R. G., Goldberg, M. H., dan Hupp, J. R. 2002. *Oral and maxillofacial infections*. Elsevier Health Sciences.
- Towaha, J. 2014. Kandungan Senyawa Polifenol Pada Biji Kakao dan Kontribusinya Terhadap Kesehatan. *SIRINOV*. Vol 2 (1): 1–16
- Vicioli, F., Borsami, L., dan Galli, C. 2000. Diet and prevention of coronary heart disease : the potential role of phytochemicals. *Cardiovascular Research* 7 (3) : 419-423.
- Wahyudi, T., Panggabean, T. R., dan Pujianto. 2008. Panduan Kakao Lengkap, Manajemen Agribisnis dari Hulu hingga Hilir. Penebar Swadaya. Jakarta. 364p.

- Wollgast, J., dan Anklam, E. 2000. Review on Polyphenols in Theobroma Cacao: Changes in Composition During the Manufacture of Chocolate and Methodology for Identification and Quantification. *Food Research International* 33:423-427
- Wray D., Stenhouse D., Lee D., dan Clark A.J.E. 2003. *Textbook of General and Oral Surgery*. Elsevier.
- Yusuf, M. S. 2014. Efektivitas Penggunaan Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Dalam Proses Percepatan Penyembuhan Luka Setelah Pencabutan Gigi. *Skripsi*. Makassar: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

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. 023/UN25.8/KEPK/DL/2018

Title of research protocol : "Efektivitas Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) Terhadap Ketebalan Epitel pada Penyembuhan Luka Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar"

Document approved : Research Protocol

Principal investigator : Maqdisi Firdaus Ali

Member of research : -

Responsible Physician : Maqdisi Firdaus Ali

Date of approval : February 5th, 2018

Place of research : 1. UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Kab. Pasuruan
 2. Bioscience Laboratory RSGM Universitas Jember
 3. Pharmaceutics Laboratory at Faculty of Pharmacy in Universitas Jember.
 4. Pharmacology Biomedical Sect. Laboratory at Faculty of Dentistry Universitas Jember
 5. Histology Biomedical Sect. Laboratory at 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.

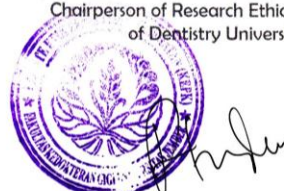
Jember, February 10th, 2018

Dean of Faculty of Dentistry Universitas
 Jember



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

Chairperson of Research Ethics Committee Faculty
 of Dentistry Universitas Jember



(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: 1760 /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



Agus Budiharta, 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

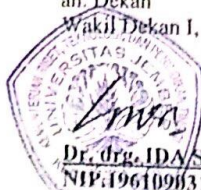
31 OCT 2017

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
2. Nadia Farhatika
3. Nufsi Egi P
4. Zulfah Al Faizah
5. Stefany S.D | 141610101071
141610101014
141610101073
141610101017
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 (Mus 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
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 : 4744 /UN25.8/TL/2017
Perihal : Ijin Penelitian

30 NOV 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 Penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Maqdisi Firdaus Ali |
| 2 | NIM | : 141610101071 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Pangandaran 89 Antirogo Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Efektivitas Ekstrak Biji Kakao (Theobroma Cacao L.) Terhadap Ketebalan Epitel Pada Penyembuhan Luka Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Gigi Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : - |
| 9 | Waktu | : Desember 2017 sd Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Efektivitas Ekstrak Biji Kako (Theobroma cacao L) Terhadap Kekebalan Epitel Pada Penyembuhan Luka Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Amandia Dewi Permana S, M.Biomed
2. drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an, Dekan
Wakil Dekan I,

Dr. drg. DA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001

Lampiran E. Surat Ijin Laboratorium Fisiologi



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

Nomor : 4144 /UN25.8/TL/2017
Perihal : Ijin Penelitian

30 NOV 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 : Maqdisi Firdaus Ali
- 2 NIM : 141610101071
- 3 Semester/Tahun : 2017/2018
- 4 Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- 5 Alamat : Jl. Pangandaran 89 Antirogo Jember
- 6 Judul Penelitian : Efektivitas Ekstrak Biji Kakao (Theobroma Cacao L.) Terhadap Ketebalan Epitel Pada Penyembuhan Luka Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar
- 7 Lokasi Penelitian : Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- 8 Data/alat yang dipinjam : Pinset Anatomis, Sonde Bengkok, Ekskavator, dll
- 9 Waktu : Desember 2017 sd Selesai
- 10 Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Efektivitas Ekstrak Biji Kako (Theobroma cacao L) Terhadap Kekebalan Epitel Pada Penyembuhan Luka Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar
- 11 Dosen Pembimbing : 1. drg. Amandia Dewi Permana S, M.Biomed
2. drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an Dekan
Wakil Dekan I,

drg. DA Susilawati, M.Kes
09031986022001

Lampiran F. Surat Ijin Laboratorium Histologi



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

Nomor : 474A /UN25.8/TL/2017
Perihal : Ijin Penelitian

30 NOV 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 | : Maqdisi Firdaus Ali |
| 2 | NIM | : 141610101071 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Pangandaran 89 Antirogo Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Efektivitas Ekstrak Biji Kakao (Theobroma Cacao L.) Terhadap Ketebalan Epitel Pada Penyembuhan Luka Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Mikrotom, Mikroskop Cahaya, Water Bath, dll |
| 9 | Waktu | : Desember 2017 sd Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Efektivitas Ekstrak Biji Kako (Theobroma cacao L) Terhadap Ketebalan Epitel Pada Penyembuhan Luka Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Amandia Dewi Permana S, M.Biomed
2. drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an Dekan
Wakil Dekan I,

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001

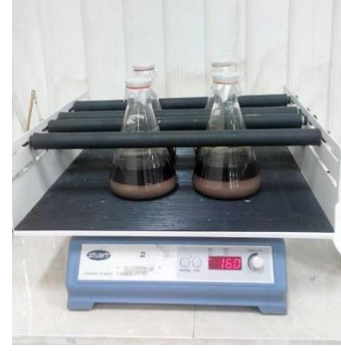
Lampiran G. Proses Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao



1. Biji kakao yang telah dibuat serbuk.



2. Pengekstrakan dengan etanol 96%.



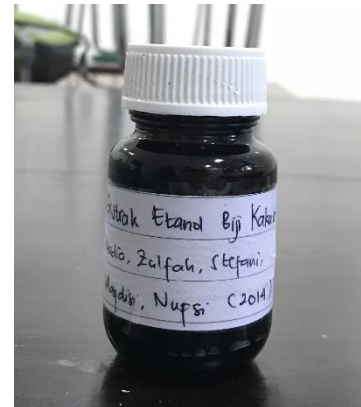
3. Diletakkan pada mesin *shaker* agar menyatu.



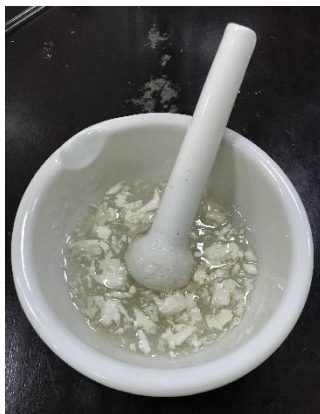
4. Proses penyaringan.



5. Proses evaporasi dengan *rotatory evaporator*.



6. Ekstrak pekat biji kakao.



7. CMC-Na sebagai bahan pembawa.



8. Pencampuran CMC-Na dan ekstrak biji kakao.



9. Gel ekstrak biji kakao.

Lampiran H. Alat dan Bahan Penelitian

H.1 Alat Penelitian



Keterangan :

- | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|
| A. Neraca digital | M. Pisau malam |
| B. Dental rat chair | N. Pinset |
| C. Tabung plastik | O. Arteri clam |
| D. Timbangan digital | P. Gunting bedah |
| E. Papan bedah | Q. Sonde setengah lingkaran |
| F. <i>Handscoon</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 stainless steel | |
| K. <i>Disossible syringe</i> 1 ml | |
| L. <i>Disossible syringe</i> 5 ml | |



1. Inkubator



2. Slide warmer



3. Optilab



4. Mikroskop binokuler



5. Mikrotom



3. Water bath



7. Almari es



8. Filling cabinet

H.2 Bahan Penelitian



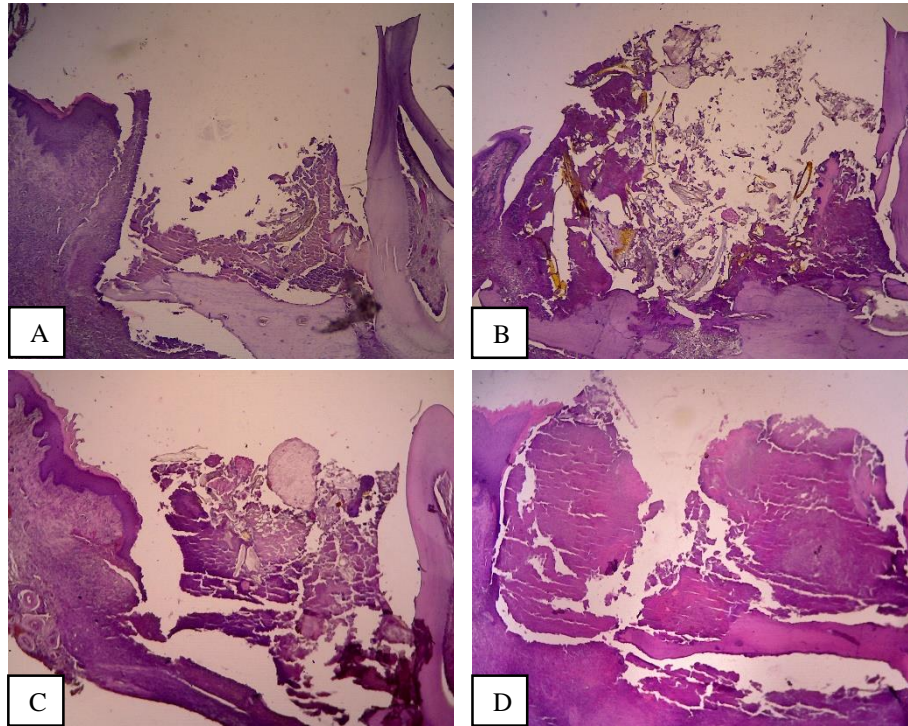
Keterangan :

1. Parafiin Pastilles
2. Formic Acid
3. Entellan
4. Alkohol 80%
5. Alkohol 100%
6. Alkohol 95%
7. Alkohol 70%
8. Xylol
9. Objek glass dan cover
10. Mayer's Hematoxylin
11. Eosin

Lampiran I. Gambaran Histologis Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus

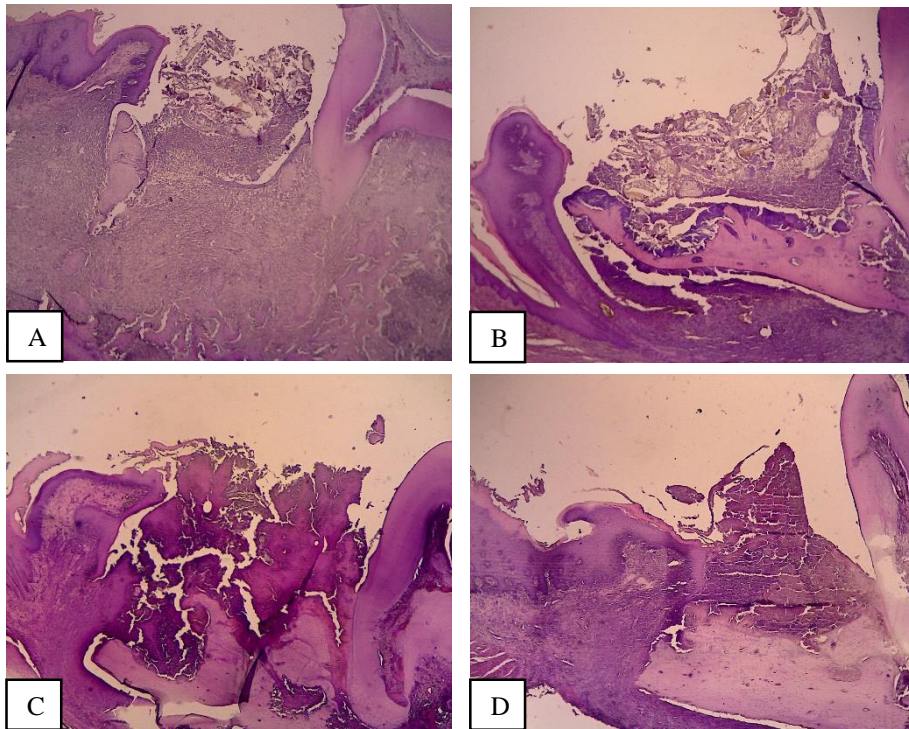
Wistar Perbesaran 40x

Hari Ke-3



- A. Kelompok kontrol negatif dengan pemberian gel placebo (K1).
- B. Kelompok kontrol positif dengan pemberian Alvogyl (K2) .
- C. Kelompok perlakuan dengan pemberian gel ekstrak biji kakao 8% (P1) .
- D. Kelompok perlakuan dengan pemberian gel ekstrak biji kakao 16% (P2).

Hari Ke-7



- A) Kelompok kontrol negatif dengan pemberian gel placebo (K1).
- B) Kelompok kontrol positif dengan pemberian Alvogyl (K2).
- C) Kelompok perlakuan dengan pemberian gel ekstrak biji kakao 8% (P1).
- D) Kelompok perlakuan dengan pemberian gel ekstrak biji kakao 16% (P2).

Lampiran J. Hasil Pengukuran Ketebalan Epitel

1. Kelompok Kontrol Negatif Placebo (K1) Hari ke-3

Sampel	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata-rata	Rata-rata total
	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal		
1	86,6	97,56	106,89	90,49	93,99	105,09	75,78	96,36	102,6	130,99	115,66
	89,19	135,15	165,91	93,05	133,63	188,77	112,16	147,19	175,2		
	145,74	162,76	170,91	133,65	167,65	177,95	142,1	167,65	172,65		
2	45,38	86,68	107,32	45,69	85,28	115,42	47,12	63,51	112,84	100,64	
	110,72	127,46	145,66	77,83	113,44	136,32	76,82	132,39	140,86		
	37,63	111,29	135,54	36,68	135,55	144,2	72,57	135,82	137,37		
3	101,34	115,49	149,21	82,94	111,84	127,71	116,16	130,48	136,27	123,85	
	106,34	122,42	142,8	105,72	129,23	144,8	132,08	140,32	145,43		
	115,13	115,95	138,07	104,79	123,24	135,33	115,07	121,32	134,55		
4	90,89	110,23	113,62	91,16	107,33	117,45	100,9	104,62	118,18	107,14	
	72,47	100,12	112,89	87,36	105,51	121,39	78,2	102,58	122,77		
	106,98	109,28	116,04	101,96	120,74	133,24	102,78	115,13	128,83		

2. Kelompok Kontrol Negatif Placebo (K1) Hari ke-7

Sampel	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata-rata	Rata-rata total
	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal		
1	158,4	165,09	165,86	148,86	157,32	173,91	142,04	169,09	184,36	133,35	139,95
	78,4	146,31	166,01	66,74	136,1	176,11	93,71	134,35	157,71		
	104,33	107,2	118,99	100,93	105,28	126,64	103,96	105,36	107,33		
2	127,41	142,24	169,49	120,37	124,04	175,72	119,81	131,65	141,91	143,16	
	109,34	135,29	251,31	118,03	118,88	223,05	109,7	134,4	244,48		
	121,53	129,58	137,87	122,23	128,81	131,85	119,69	132,83	143,78		
3	131,19	221,07	229,76	136,83	219,41	229,51	131,52	212,01	233,56	141,97	
	100,54	123,22	131,22	105,27	109,29	121,23	113,23	115,23	130,32		
	103,59	109,66	118,47	108,24	113,02	131,71	112,49	114,91	126,81		
4	54,99	117,64	147,95	71,2	116,13	146,63	50,04	114,98	126,44	141,32	
	119,11	142,11	167,38	116,46	151,06	160,99	112,97	141,86	154,34		
	163,16	177,74	181,33	169,83	185,76	188,08	167,03	182,72	187,71		

3. Kelompok Kontrol Positif Alvogyl (K2) Hari ke-3

Sampel	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata-rata	Rata-rata total
	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal		
1	84,95	109,9	140,64	90,56	119,58	140,23	81,83	99,29	123,91	83,57	117,58
	45,21	57,21	65,74	55,62	61,93	65,63	52,36	62,92	65,41		
	58,71	67,27	134,35	60,22	71,03	94,12	66,74	76,81	104,19		
2	112,81	125,61	132,61	87,06	91,96	116,72	93,99	94,24	130,39	104,08	
	72,18	109,84	170,16	86,56	91,51	96,51	76,71	94,54	99,71		
	93,83	120,57	123,35	82,02	102,49	102,5	85,5	104,69	112,13		
3	97,12	104	151,96	99,53	99,78	151,01	104,38	113,22	158,12	159,10	
	141,46	151,42	157,8	144,05	159,08	160,31	127,73	142,79	159,17		
	206,56	214,47	231,01	144,62	242,93	244,21	186,25	195,86	206,98		
4	94,53	98,85	132,12	103,23	117,53	131,62	99,05	103,99	130,69	123,56	
	64,61	108,67	112,05	100,82	118,61	120,1	64,95	111,02	117,82		
	64,40	153,25	211,81	130,53	154,31	188,48	113,04	174,27	215,87		

4. Kelompok Kontrol Positif Alvogyl (K2) Hari ke-7

Sampel	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata-rata	Rata-rata total
	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal		
1	61,05	61,54	73,68	48,14	56,57	56,88	49,08	50,89	52,86	107,61	140,56
	102,32	106,09	121,77	105,21	107,44	128,13	113,26	116,91	121,52		
	106,33	124,83	253,93	113,71	118,05	146,03	118,74	144,55	246,02		
2	109,62	113,67	128,68	90,17	96,1	104,51	90,44	95,47	115,22	132,71	
	107,69	109,67	141,17	88,54	106,92	107,7	101,36	110	111,68		
	129,61	190,25	212,94	136,12	191,42	210,15	183,63	187	213,36		
3	68,90	173,46	188,09	88,78	161,51	176,27	77,41	158,32	178,31	180,15	
	143,60	151,93	190,64	146,67	154,36	181,44	148,02	151,33	190,09		
	218,11	241,25	246,46	221,35	240,83	249,3	218,17	245,99	253,57		
4	91,6	92,7	111,79	95,06	106,9	124,94	99,49	105,3	139,63	141,75	
	149,99	154,32	178,6	146,25	154,77	155,62	148,77	151,9	163,56		
	120,91	146,78	169,56	145,97	184,4	198,44	106,51	177,92	205,48		

5. Kelompok Perlakuan Ekstrak Biji Kakao 8%(P1) Hari ke-3

Sampel	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata-rata	Rata-rata total			
	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal					
1	63,07	82	119,29	98,11	109,96	113,75	49,76	100,04	121,3	140,69	135,57			
	109,01	164,27	172,52	111,88	157,44	187,37	117,08	171,32	203,83					
	145,51	164,04	197,48	155,36	174,16	198,08	143,62	166,18	202,1					
2	94,78	104,7	110,45	96,21	103,8	111,38	86,13	94,65	101,56	121,69		135,57		
	77,25	138,25	153,11	126,36	133,47	157,91	91,37	134,73	176,12					
	78,24	168,9	181,29	83,19	144,81	174,93	81,65	124,4	155,96					
3	62,37	131,3	148,64	71,55	116,94	163,74	65,66	119,09	144,37	129,73			135,57	
	104,79	110,23	182,44	109,99	112,59	183,04	117,8	121,73	178,9					
	85,26	130,16	203,86	99,73	117,11	198,68	102,36	156,28	164,21					
4	93,84	148,39	165,76	92,91	148,24	170,78	93,67	149,03	156,43	150,16				135,57
	139,85	149,16	176,62	151,03	158,31	170,81	141,88	157,2	163,19					
	131,6	165,16	173,97	122,56	174,67	180,84	115,23	133,23	230,01					

6. Kelompok Perlakuan Ekstrak Biji Kakao 8%(P1) Hari ke-7

Sampel	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata-rata	Rata-rata total			
	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal					
1	65,86	97,41	131,78	81,38	98,14	110,11	69,66	117,33	122,38	144,16	144,70			
	98,54	130,83	156,04	105,33	148,32	151,11	130,42	146,24	151,96					
	161,6	199,75	207,8	173,87	197,5	206,16	188,59	197,52	246,64					
2	75,23	78,22	116,66	84,97	95,64	117,93	89,31	98,71	119,16	104,02		144,70		
	123,36	132,16	161,26	118,02	138,87	150,24	110,27	151,46	171,74					
	45,77	72,16	91,5	73,34	73,55	88,8	53,04	88,26	88,82					
3	165,17	211,54	214,18	160,04	182,64	194,79	140,23	188,77	195,25	206,92			144,70	
	186,23	231,43	272,58	182,3	185,06	200,32	223,63	233,02	245,93					
	185,81	226,2	233,18	193,14	203,35	237,73	218,28	229,07	247					
4	54,24	55,5	85,24	34,91	62,8	92,04	50,75	50,94	70,21	123,71				144,70
	96,21	153,32	163,69	101,6	160,03	164,95	83,12	156,18	168,46					
	124,96	142,2	254,53	156,83	167,38	204,14	117,57	169,81	198,54					

7. Kelompok Perlakuan Ekstrak Biji Kakao 16% (P2) Hari ke-3

Sampel	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata-rata	Rata-rata total
	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal		
1	115,41	118,07	120,51	109,32	120,79	132,07	124,19	128,96	131,03	137,73	139,11
	99,62	135,72	141,12	113,75	150,06	159,52	100,2	143,36	145,55		
	121,76	169,16	186,46	108,1	152,83	221,69	111,22	153,42	195,98		
2	98	113,98	127,07	92,06	117,68	122,28	96,71	103,66	110,03	148,13	
	177,82	207,06	209,8	186,69	204,2	225,11	159,55	175,48	250,6		
	99,79	157,63	187,58	81,58	129,68	181,25	94,17	132,06	158,02		
3	113,91	158,32	205,96	144,21	162,3	187,83	112,94	166,08	192,63	136,49	
	91,78	118,61	156,65	99,54	135,08	153,86	91,76	109,64	160,54		
	98,58	134,87	139,34	99,97	126,09	130,89	118,5	132,52	142,74		
4	75,41	180,86	210,51	95,38	173,16	206,25	81,51	173,69	207,67	134,10	
	126,33	134,29	152,94	114,93	127,32	175,56	120,48	131,22	164,24		
	99,74	100,5	113,27	96,5	111,38	126,21	94,78	100,4	126,15		

8. Kelompok Perlakuan Ekstrak Biji Kakao 16% (P2) Hari ke-7

Sampel	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata-rata	Rata-rata total
	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal	Tipis	Sedang	Tebal		
1	180,48	210,73	294,66	167,72	253,13	313,02	128,83	176,51	178,45	188,29	176,20
	139,86	169,51	247,3	199,01	229,48	261,91	130,44	156,29	274,43		
	158,68	163,03	164,56	148,34	163,72	172,93	110,87	143,9	146,04		
2	124,73	129,85	141,43	87,85	149,81	195,21	141,42	153,97	171,72	167,46	
	100,93	140,91	151,88	111,48	148,12	227,46	145,51	161,38	268,37		
	110,19	182,78	186,89	163,91	218,06	312,18	139,26	222,31	233,73		
3	157,54	204,01	218,89	162,37	164,69	208,3	170,42	189,22	197,79	165,86	
	175,16	196,96	233,17	172,28	204,57	237,16	171,48	207,02	242,52		
	103,16	109,46	121,28	95,82	106,34	116,24	82,69	114,02	115,77		
4	108,93	129,48	157,72	116,6	133,58	158,47	131,37	174,49	195,59	183,18	
	142,44	207,17	266,44	161,07	256,34	267,14	170,6	222,85	222,92		
	170,19	176,1	204,6	181,4	211,75	206,6	182,58	185,54	203,95		

Lampiran K. Hasil Analisis Data

1. Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*

	Kelompok	Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.
Ketebalan Epitel	Placebo hari ke-3	0.93	4	0.60
	Placebo hari ke-7	0.82	4	0.14
	Alvogyl hari ke-3	0.98	4	0.91
	Alvogyl hari ke-7	0.97	4	0.85
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-3	0.98	4	0.91
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-7	0.92	4	0.54
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-3	0.82	4	0.15
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-7	0.86	4	0.26

2. Uji Homogenitas *Levene-Test*

Test of Homogeneity of Variances

Ketebalan Epitel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.20	7	24	0.07

3. Uji *One-Way Anova*

ANOVA

Ketebalan Epitel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9738.22	7	1391.17	2.50	0.04
Within Groups	13405.62	24	558.57		
Total	23143.84	31			

4. Uji LSD (*Least Significant Difference*)**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Ketebalan Epitel

LSD

Sampel berdasar kelompok	Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Placebo hari ke-3	Placebo hari ke-7	-24.42	16.71	0.16	-58.91	10.07
	Alvogyl hari ke-3	-1.92	16.71	0.91	-36.41	32.57
	Alvogyl hari ke-7	-24.90	16.71	0.15	-59.39	9.59
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-3	-19.91	16.71	0.25	-54.40	14.58
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-7	-29.05	16.71	0.10	-63.54	5.44
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-3	-23.36	16.71	0.18	-57.85	11.13
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-7	-60.54	16.71	0.00	-95.03	-26.05
Placebo hari ke-7	Placebo hari ke-3	24.42	16.71	0.16	-10.07	58.91
	Alvogyl hari ke-3	22.50	16.71	0.19	-12.00	56.99
	Alvogyl hari ke-7	-0.48	16.71	0.98	-34.97	34.01
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-3	4.51	16.71	0.79	-29.99	39.00
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-7	-4.63	16.71	0.78	-39.12	29.86
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-3	1.06	16.71	0.95	-33.44	35.55
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-7	-36.13	16.71	0.04	-70.62	-1.63
Alvogyl hari ke-3	Placebo hari ke-3	1.92	16.71	0.91	-32.57	36.41
	Placebo hari ke-7	-22.50	16.71	0.19	-56.99	12.00
	Alvogyl hari ke-7	-22.98	16.71	0.18	-57.47	11.51
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-3	-17.99	16.71	0.29	-52.48	16.50
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-7	-27.13	16.71	0.12	-61.62	7.37
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-3	-21.44	16.71	0.21	-55.93	13.05
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-7	-58.62	16.71	0.00	-93.11	-24.13
Alvogyl hari ke-7	Placebo hari ke-3	24.90	16.71	0.15	-95.91	59.39
	Placebo hari ke-7	0.48	16.71	0.98	-34.01	34.97
	Alvogyl hari ke-3	22.98	16.71	0.18	-11.51	57.47
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-3	4.99	16.71	0.77	-29.50	39.48
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-7	-4.15	16.71	0.81	-38.64	30.34
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-3	1.54	16.71	0.93	-32.95	36.03
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-7	-35.64	16.71	0.04	-70.13	-1.15
Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-3	Placebo hari ke-3	19.91	16.71	0.25	-14.58	54.40
	Placebo hari ke-7	-4.51	16.71	0.79	-39.00	29.99
	Alvogyl hari ke-3	17.99	16.71	0.29	-16.50	52.48
	Alvogyl hari ke-7	-4.99	16.71	0.77	-39.48	29.50
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-7	-9.14	16.71	0.59	-43.63	25.36
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-3	-3.45	16.71	0.84	-37.94	31.04
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-7	-40.63	16.71	0.02	-75.12	-6.14
Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-7	Placebo hari ke-3	29.05	16.71	0.10	-5.44	63.54
	Placebo hari ke-7	4.63	16.71	0.78	-29.86	39.12
	Alvogyl hari ke-3	27.13	16.71	0.12	-7.37	61.62
	Alvogyl hari ke-7	4.15	16.71	0.81	-3.03	38.64
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-3	9.14	16.71	0.59	-25.36	43.63
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-3	5.69	16.71	0.74	-28.81	40.18
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-7	-31.50	16.71	0.07	-65.99	3.00

Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-3	Placebo hari ke-3	23.36	16.71	0.18	-11.13	57.85
	Placebo hari ke-7	-1.06	16.71	0.95	-35.55	33.44
	Alvogyl hari ke-3	21.44	16.71	0.21	-13.05	55.93
	Alvogyl hari ke-7	-1.54	16.71	0.93	-36.03	32.95
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-3	3.45	16.71	0.84	-31.04	37.94
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-7	-5.69	16.71	0.74	-40.18	28.81
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-7	-37.18	16.71	0.04	-71.67	-2.69
Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-7	Placebo hari ke-3	60.54	16.71	0.00	26.05	95.03
	Placebo hari ke-7	36.13	16.71	0.04	1.63	70.62
	Alvogyl hari ke-3	58.62	16.71	0.00	24.13	93.11
	Alvogyl hari ke-7	35.64	16.71	0.04	1.15	70.13
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-3	40.63	16.71	0.02	6.14	75.12
	Gel ekstrak biji kakao 8% hari ke-7	31.50	16.71	0.07	-3.00	65.99
	Gel ekstrak biji kakao 16% hari ke-3	37.18	16.71	0.04	2.69	71.67

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