



**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK BIJI KAKAO
(*Theobroma cacao L*) TERHADAP JUMLAH SEL MAKROFAG
PADA SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS WISTAR
JANTAN**

SKRIPSI

Oleh

Melati Harum Pertiwi

NIM 151610101053

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2019



**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK BIJI KAKAO
(*Theobroma cacao L*) TERHADAP JUMLAH SEL MAKROFAG
PADA SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS WISTAR
JANTAN**

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
Melati Harum Pertiwi
NIM 151610101053

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2019



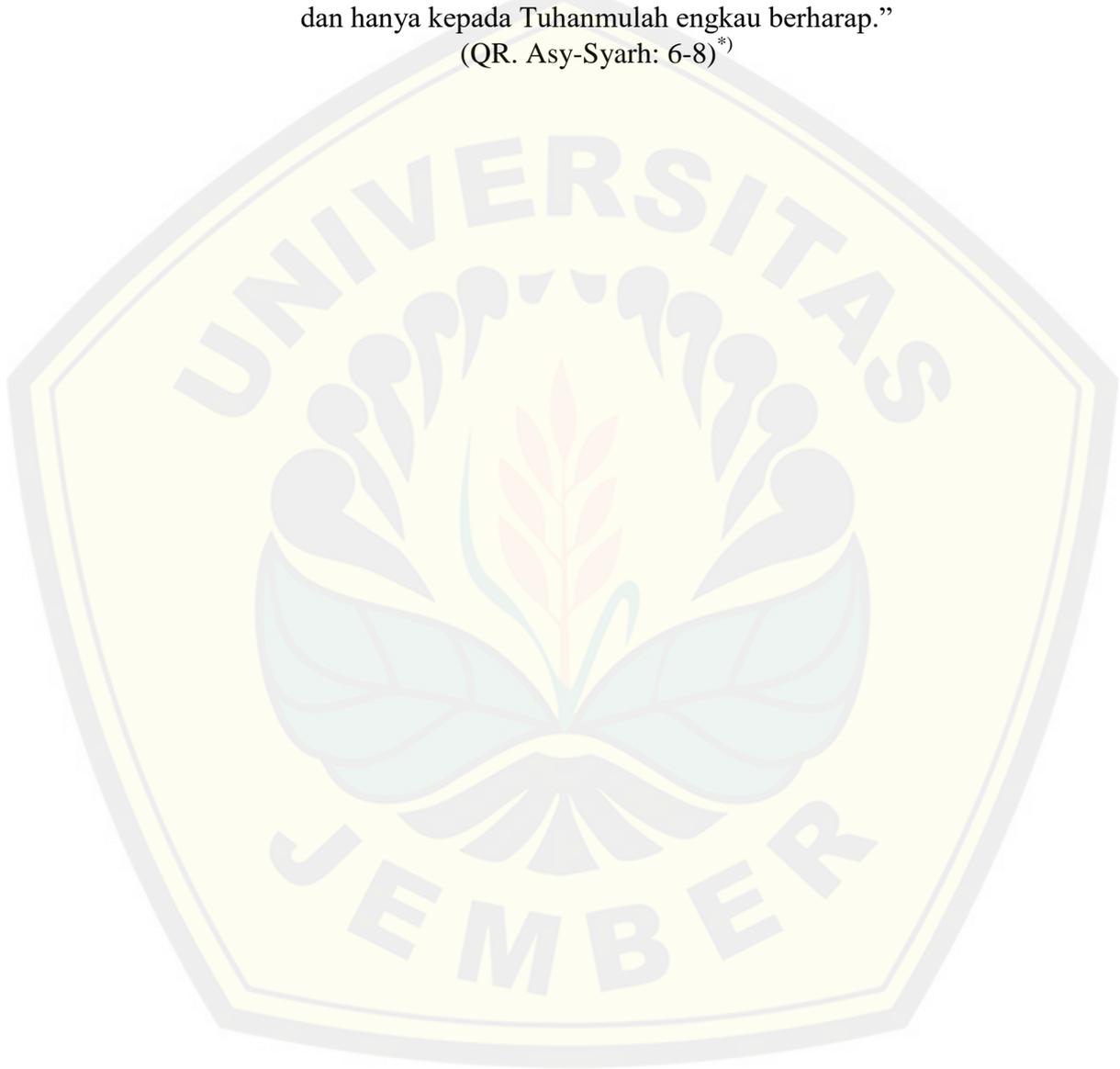
PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmannirahim, dengan segala kerendahan hati dan rasa syukur yang mendalam, saya persembahkan skripsi ini untuk yang tercinta :

1. Allah SWT atas nikmat dan ridho-Nya sehingga mendapat kesempatan belajar sehingga sekarang ini. Semoga apa yang saya kerjakan selama ini mendapat keberkahan dari Allah SWT.
2. Rosululloh Muhammad SAW, idola yang patut untuk dirindukan dan ingin sekali bertemu dengan Beliau, berjuang hingga islam seindah semua yang kita rasakan.
3. Mama saya, Uminurhanik, Ayahanda Nurkhaedori dan tante saya, Umi Laela tercinta yang sampai kapanpun semangat, bekerja keras, dan kasih sayang dalam mendidik, mendukung setiap langkah dan selalu mendoakan putra putrinya dengan tulus dan ikhlas, akan melekat di hati dan menjadi semangat untuk langkah ini.
4. Adik saya Pedang Gusti dan sahabat-sahabat saya April dan Shela yang selalu memberi motivasi saya.
5. Seluruh guru dan dosen yang selama ini mendidik saya semoga bisa menjadi anak yang berilmu dan bertaqwa hingga kembali pada-Nya.
6. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

“Sesungguhnya bersama kesulitan aka nada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras,(untuk urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.”
(QR. Asy-Syarh: 6-8)^{*)}



^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2009. *Syaamil Qur'an (Al-Qur'an dan Terjemahannya Special For Woman)*. Bandung: PT Sygma Examedia Arkanleema.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Melati Harum Pertiwi

NIM : 151610101053

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L*) terhadap Jumlah Sel Makrofag pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar Jantan” 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 beertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai 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 dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 19 Juni 2019

Yang menyatakan

Melati Harum Pertiwi

NIM 151610101053

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK BIJI KAKAO
(*Theobroma cacao L*) TERHADAP JUMLAH SEL MAKROFAG
PADA SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS WISTAR
JANTAN**

Oleh

Melati Harum Pertiwi
NIM 151610101053

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Zainul Cholid, Sp. B.M

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul " Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L*) terhadap Jumlah Sel Makrofag pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar Jantan " telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal : Rabu, 19 Juni 2019

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota

drg. Yani Corvianindya R., M.KG

NIP 197308251998022001

drg. Hengky Bowo A., MD.Sc

NIP 197905052005011005

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

drg. Zainul Cholid, Sp. B.M

NIP 197105141998021001

Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes

NIP 197102041998022002

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas jember,

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

NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L*) terhadap Jumlah Sel Makrofag pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar Jantan; Melati Harum Pertiwi; 151610101053; 2019: 75 halaman : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Pencabutan gigi merupakan suatu tindakan pembedahan yang melibatkan jaringan tulang dan jaringan lunak dari rongga mulut, tindakan tersebut dibatasi oleh bibir, pipi dan terdapat faktor yang dapat mempersulit dengan gerakan lidah dan rahang bawah. Pencabutan gigi dapat menyebabkan suatu kavitas berupa soket gigi dan luka bekas pencabutan gigi pada jaringan di sekitar soket. Luka pasca pencabutan gigi perlu dilakukan pemberian obat agar tidak terjadi komplikasi. Banyak tanaman yang digunakan dalam pengobatan alternatif salah satunya adalah biji kakao. Kakao (*Theobroma cacao L*) diyakini memiliki banyak manfaat dibidang kesehatan, salah satunya biji kakao mengandung senyawa polifenol diantaranya flavonoid yang berfungsi sebagai antiinflamasi dan antioksidan berfungsi mempercepat fase inflamasi dengan cara menangkal radikal bebas. Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L*) sebanyak 8% terhadap jumlah sel makrofag pada soket pasca pencabutan gigi dalam sediaan gel. Sediaan gel dipilih dikarenakan memiliki sifat yang menyejukkan melembabkan, mudah penggunaannya, mudah berpenetrasi pada kulit.

Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental laboratories* yang menggunakan 24 ekor tikus wistar jantan. Variabel yang diteliti dalam penelitian ini adalah sel makrofag pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan pada kelompok yang tidak diberikan perlakuan dan pada kelompok yang diberi perlakuan yaitu diberi gel ekstrak biji kakao 8% yang kemudian didekapitasi pada hari ke-1, ke-3 dan ke-5. Kemudian dilakukan pengambilan sampel pada region molar kiri rahang bawah tikus dan dilakukan pembuatan preparat histologi dan diamati menggunakan pewarnaan Haematoxilin-eosin

dengan perbesaran 400x pada 3 lapang pandang dengan menggunakan mikroskop binokuler.

Data dianalisis menggunakan uji normalitas Shapiro Wilk, uji homogenitas menggunakan Levene-Test. Data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji parametrik One-Way Anova dan dilanjutkan dengan uji LSD (Least significant Difference). Hasil penelitian didapatkan jumlah sel makrofag pada kelompok tanpa perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan pada hari ke-1, ke-3 dan ke-5 hal ini dikarenakan adanya kandungan polifenol dari ekstrak biji kakao yang membantu dalam proses inflamasi. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa Ekstrak biji kakao 8% (*Theobroma Cacao, L*) berpotensi menurunkan jumlah sel makrofag pada soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar jantan

PRAKATA

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

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

1. Ayah dan mama saya yang selalu memberikan semangat, kasih sayang dan doanya yang sampai saat ini terujud;
2. Drg. Rahardyan Pranaadji, M.Kes., Sp.Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. Drg. Zainul Cholid, Sp.B.M selaku Dosen Pembimbing Utama Skripsi;
4. Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Pendamping Skripsi;
5. drg. Yani Corvianindya, M.KG selaku Penguji Ketua Skripsi;
6. drg. Hengky Bowo Ardhiyanto, MD. Sc selaku Penguji Anggota Skripsi;
7. Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik;
8. Adik saya Pedang Gusti Athariq selalu memberi semangat; motivasi dan doanya dalam menyelesaikan skripsi ini agar bisa menjadi contoh baik bagi kalian semua;
9. Sahabat-sahabat saya Aprillya Sakila dan Shela Seftiayu yang selalu memberi semangat saya di kosan dalam mengerjakan skripsi;
10. Teman-teman seproyekan, Reizy, Hendito dan Karin terimakasih atas bantuan, kerjasama dan supportnya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;

11. Alfanda Rahmadani Fitrul Muchid atas support, doa dan kesabaran menemani dalam suka maupun duka;
12. Teknisi dan analis yang turut membantu dan membimbing dengan sabar selama penelitian;
13. Keluarga KKN 121 yang selalu memberi dukungan, khususnya Nindi, Maya dan Parlin;
14. Semua pihak yang turut membantu dan terselesaikan skripsi ini yang tidak mungkin disebutkan satu persatu.

Semoga penulisan skripsi ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pendidikan dan kesehatan. Penulis mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini.

Jember, 19 Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

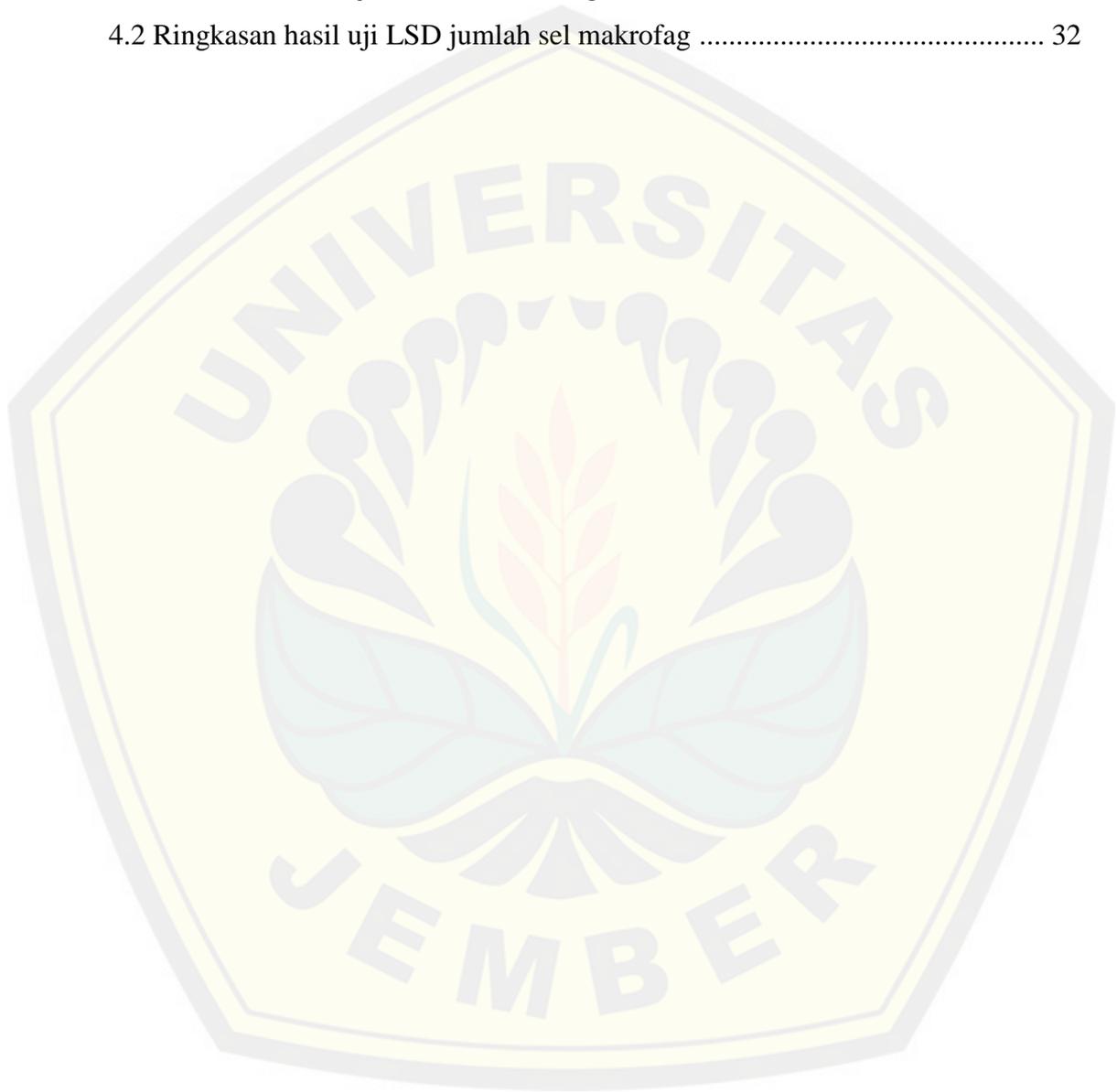
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pencabutan Gigi	5
2.2 Penyembuhan Luka	6
2.3 Faktor yang Mempengaruhi Proses Penyembuhan Luka	8
2.4 Makrofag	9
2.5 Kakao (<i>Theobroma Cacao L</i>)	11
2.4.1 Taksonomi Tanaman Kakao	11
2.4.2 Varietas Kakao	11
2.6 Kandungan Biji Kakao	13
2.7 Peran Polifenol dalam Proses Penyembuhan Luka	14
2.8 Metode Ekstraksi Biji Kakao	15
2.9 Metode Sediaan Ekstrak Biji Kakao	16

2.10	Kerangka Konseptual	17
2.11	Hipotesis	18
BAB 3. METODE PENELITIAN		19
3.1	Jenis Penelitian	19
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2.1	Tempat	19
3.2.2	Waktu	19
3.3	Variabel Penelitian	19
3.3.1	Variabel Bebas	19
3.3.2	Variabel Terikat	20
3.3.3	Variabel Terkendali	20
3.4	Definisi Operasional Penelitian	20
3.4.1	Ekstrak Biji Kakao (<i>Theobroma cacao L</i>)	20
3.4.2	Pencabutan Gigi	20
3.4.3	Sel Makrofag	21
3.5	Sampel Penelitian	21
3.5.1	Besar Sampel	21
3.5.2	Kriteria Sampel	22
3.6	Alat dan Bahan	22
3.6.1	Alat	22
3.6.2	Bahan	23
3.7	Dosis	23
3.7.1	Dosis Ekstrak Biji Kakao	23
3.7.2	Dosis Ketamin	24
3.8	Prosedur Kerja	24
3.8.1	<i>Ethical Clearance</i>	24
3.8.2	Persiapan Hewan Coba	24
3.8.3	Pembuatan Ekstrak Biji Kakao	24
3.8.4	Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao	25
3.8.5	Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba	25

3.8.6	Tahap Pencabutan Gigi Tikus	26
3.8.7	Tahap Pembuatan Preparat Jaringan	27
3.8.8	Tahap Pewarnaan	29
3.9	Analisis Data	30
3.10	Alur Penelitian	31
BAB 4.	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	32
4.1	Hasil Penelitian	32
4.2	Analisis Data	34
4.3	Pembahasan	35
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN	38
5.1	Kesimpulan	38
5.2	Saran	38
DAFTAR PUSTAKA		39
LAMPIRAN		47

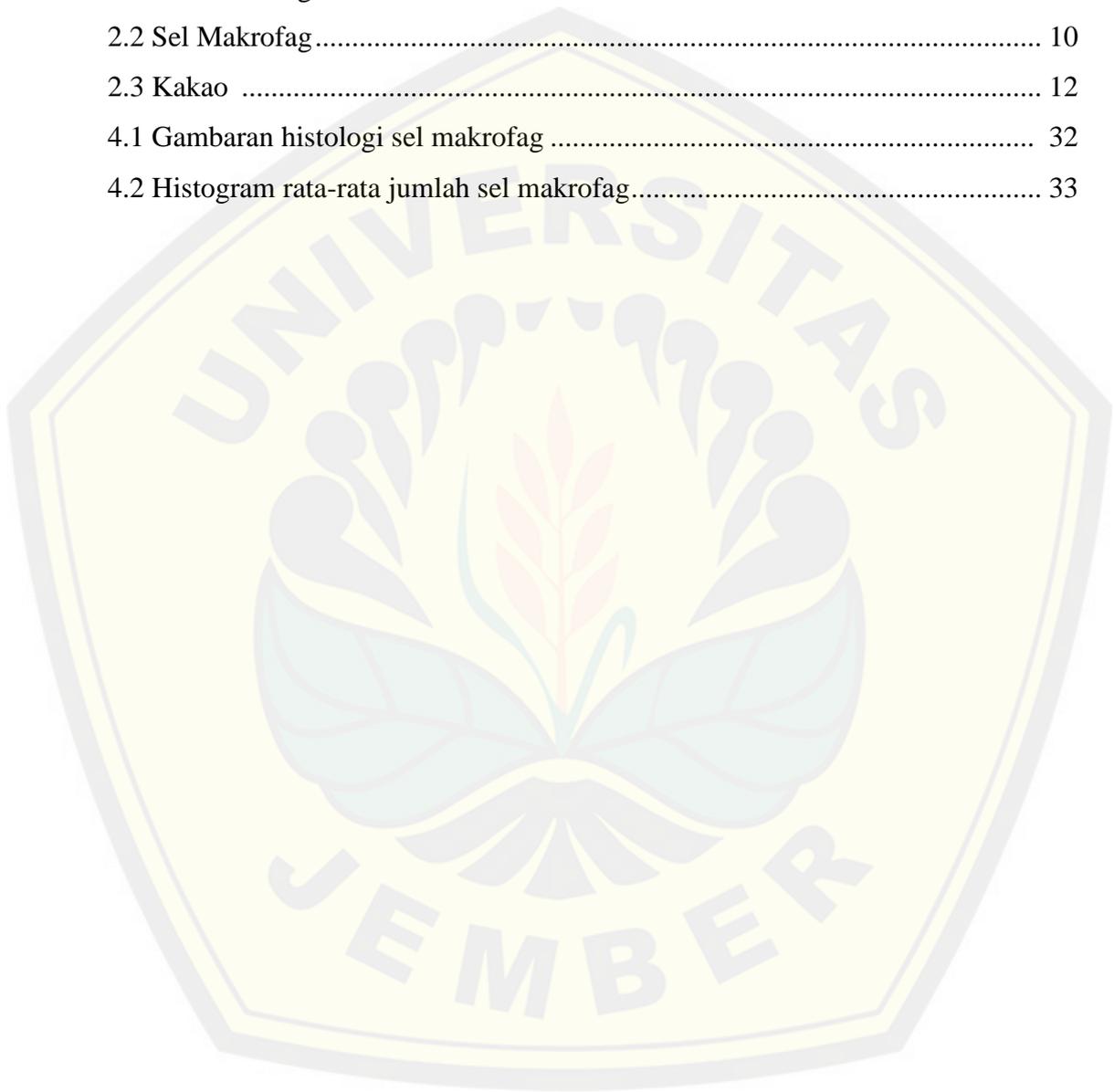
DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Jenis polifenol yang terkandung pada biji kakao	13
4.1 Rata-rata (<i>mean</i>) jumlah sel makrofag	33
4.2 Ringkasan hasil uji LSD jumlah sel makrofag	32



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Sel Makrofag.....	9
2.2 Sel Makrofag.....	10
2.3 Kakao	12
4.1 Gambaran histologi sel makrofag	32
4.2 Histogram rata-rata jumlah sel makrofag.....	33



LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan Besar Sampel.....	46
Lampiran 2. Perhitungan Dosis Gel Ekstrak Biji Kakao	47
Lampiran 3. Perhitungan Dosis Ketamin	48
Lampiran 4. Surat Keterangan Ethical Clearance	49
Lampiran 5. Surat Keterangan Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao	50
Lampiran 6. Prosedur Penelitian	51
Lampiran 7. Sertifikat Pengujian Ekstrak Biji Kakao	55
Lampiran 8. Surat Izin Laboratorium Biomedik (Fisiologi).....	57
Lampiran 9. Alat dan Bahan	58
Lampiran 10. Surat Izin Laboratorium Biomedik (Histologi)	62
Lampiran 11. Hasil Gambaran Histologis Makrofag	63
Lampiran 12. Rerata Hasil Perhitungan Jumlah Sel Makrofag	69
Lampiran 13. Hasil Analisis Data	70

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu tindakan perawatan yang sering dilakukan dalam bidang kedokteran gigi adalah ekstraksi atau pencabutan gigi (Bakar, 2012). Pencabutan gigi merupakan suatu tindakan pembedahan yang melibatkan jaringan tulang dan jaringan lunak dari rongga mulut, tindakan tersebut dibatasi oleh bibir, pipi dan terdapat faktor yang dapat mempersulit dengan adanya pergerakan lidah dan rahang bawah (Fachriani, 2016).

Pencabutan gigi dapat menyebabkan suatu kavitas berupa soket gigi dan luka bekas pencabutan gigi pada jaringan di sekitar soket diikuti oleh respon tubuh berupa penyembuhan luka (Sari, 2012). Komplikasi akibat pencabutan gigi dapat terjadi karena berbagai faktor dan bervariasi pula dalam hal yang ditimbulkannya. Komplikasi dapat digolongkan menjadi intraoperatif, segera sesudah pencabutan dan jauh setelah pencabutan (Nimeri, 2013). Komplikasi yang sering ditemui pada pencabutan gigi antara lain perdarahan, pembengkakan, rasa sakit, *dry socket*, fraktur, dan dislokasi mandibula (Chandra, 2014). Komplikasi pada proses penyembuhan luka yang paling banyak dialami oleh pasien pasca pencabutan gigi adalah alveolar osteitis atau yang sering disebut sebagai *dry socket* (74,3%). Sedangkan untuk kejadian infeksi alveolar akut hanya 14,3% (WL Adeyemo, 2006). Apabila dibiarkan dan tidak diobati, luka menyebabkan bagian dalam tubuh menjadi terpapar dengan lingkungan luar dan penyembuhan luka menjadi terhambat (Christgau, 2004).

Luka pada jaringan lunak selanjutnya diikuti dengan proses penyembuhan yang terjadi melalui tiga fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase *remodeling* (Sugiaman, 2011). Beberapa jam setelah luka, terjadilah invasi sel inflamasi yaitu sel neutrofil atau sel polimorfonuklear (PMN) pada jaringan luka yang terjadi pada 6-24 jam pertama, kemudian sel polimorfonuklear (PMN) bermigrasi menuju daerah luka dan setelah 24-48 jam sel PMN akan digantikan dengan makrofag yang merupakan sel paling dominan pada inflamasi dengan jumlah paling tinggi pada hari ke-2 sampai hari ke-3. Makrofag akan tetap di

dalam luka sampai penyembuhan berjalan sempurna dan makrofag berangsur-angsur akan menurun dan akan digantikan oleh limfosit (Sugiaman, 2011; Robbins, 2013).

Makrofag normalnya tersebar difus pada sebagian besar jaringan ikat (Robbins, 2013). Makrofag merupakan unsur sel yang penting pada pembentukan jaringan granulasi yang berasal dari sel monosit. Monosit sendiri berasal dari sel progenitor di sumsum tulang. Makrofag berfungsi untuk memfagositosis patogen, sel-sel mati, beberapa komponen dalam matriks ekstraseluler dan fibrin pada tempat jejas, makrofag juga menginduksi proliferasi fibroblas dan produksi matriks ekstraseluler pada hari ke-2. Penurunan jumlah makrofag pada hari ke-5 menunjukkan bahwa proses inflamasi telah banyak berkurang dan luka akan diisi oleh proliferasi jaringan (Zhang, 2008; Nucera dkk, 2010; Budi, 2017).

Saraf (2006) menyatakan bahwa pada proses peradangan terdapat salah satu gejala yang akan terjadi yaitu peningkatan sel darah putih, hal ini berarti juga terjadi peningkatan makrofag sebagai pertahanan tubuh. Tetapi jika jumlah makrofag ini terlalu tinggi maka akan menyebabkan kerusakan pada jaringan sehat disekitar peradangan, sedangkan apabila terlalu rendah, maka tubuh tidak mampu melawan sumber infeksi.

Berbagai tanaman banyak dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan suatu penyakit maupun pemeliharaan kesehatan. Salah satunya kakao (*Theobroma cacao* L), yang diyakini memiliki banyak manfaat dibidang kesehatan (Misnawi, dkk., 2002). Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L) banyak tumbuh di perkebunan-perkebunan di Indonesia. Indonesia adalah produsen kakao terbesar ketiga setelah Pantai Gading dan Ghana dengan produksi tahunan mencapai 833.313 ribu ton (Peraturan Menteri Pertanian Nomor 90, 2013). Sedangkan di Jember perkebunan kakao berada di kecamatan Wuluhan, Silo, Patrang dan Rambipuji dengan luas kira-kira 494,4 hektar (ha) dengan hasil produksi 500kg/ha/tahun (Wirya, 2015).

Biji kakao mengandung senyawa-senyawa polifenol/fenolik berupa katekin, epikatekin, antosianin, proantosianidin, asam-asam fenolat, tanin, dan flavonoid-flavonoid lainnya (Sartini, 2013). Kandungan polifenol dalam kakao

banyak diteliti dalam kaitannya dengan kesehatan, hal ini disebabkan aktivitas antioksidan yang ditunjukkan polifenol kakao. Polifenol kakao khususnya kelompok flavonoid diketahui secara signifikan mempengaruhi produksi beberapa jenis sitokin, yaitu senyawa ekstraselular yang berfungsi menyampaikan sinyal dari satu sel ke sel lainnya. Kehadiran sitokin inilah yang mempengaruhi aktivitas sistem imun (Kayaputri, 2014).

Peran dan kegunaan flavonoid bagi tumbuhan itu sendiri yaitu sebagai pengatur pertumbuhan, fotosintesis, antimikroba, antivirus dan fitoaleksin, sementara bagi manusia flavonoid berperan sebagai antibiotik dan menghambat pendarahan (Susilawati, 2007). Flavonoid juga diketahui secara *in vitro* menjadi zat antimikroba yang efektif melawan berbagai macam mikroorganisme juga menunjukkan efek penghambatan terhadap beberapa virus (Cowan, 1999).

Salah satu sediaan topikal adalah gel yang merupakan sediaan setengah padat yang terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel organik dan anorganik (Yanhendri, 2012). Bentuk gel dipilih dengan alasan gel bersifat padat, lunak dan kenyal sehingga dalam pengaplikasian ke jaringan luka lebih mudah diletakkan dalam soket bekas pencabutan dan dapat bertahan lama dalam soket sampai pada saatnya masuk ke dalam proses penyembuhan luka (Zulfitri dkk., 2012). Sediaan dalam bentuk gel juga aman dalam penggunaan sehingga tidak membahayakan bagi pengguna dan tidak mempengaruhi kandungan dari ekstrak biji kakao (Subandi dkk., 2014).

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

Berdasarkan kandungan yang terdapat pada biji kakao penulis ingin mengetahui gel ekstrak biji kakao terhadap jumlah makrofag pada soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah bagaimana pengaruh pemberian gel ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L) terhadap jumlah sel makrofag pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan pada hari ke-1, hari ke-3 dan hari ke-5?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L) terhadap jumlah sel makrofag pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan pada hari ke-1, hari ke-3 dan hari ke-5.

1.4 Manfaat

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

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

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi merupakan suatu proses pengeluaran gigi dari tulang alveolar. Tindakan ini juga merupakan operasi bedah yang melibatkan jaringan bergerak dan jaringan lunak dari rongga mulut yang dibatasi oleh bibir dan pipi serta adanya gerakan lidah dan rahang (Brooks, 2009).

Ekstraksi gigi sering dikategorikan menjadi dua macam yakni, ekstraksi simple dan ekstraksi bedah / *surgical*. ekstraksi simple adalah ekstraksi yang dilakukan pada gigi yang terlihat dalam rongga mulut, menggunakan anestesi lokal dan menggunakan alat-alat untuk elevasi bagian gigi yang terlihat. Sementara ekstraksi bedah adalah ekstraksi yang dilakukan pada gigi yang tidak dapat dijangkau dengan mudah karena berada dibawah garis gingiva atau karena belum erupsi secara keseluruhan. Ekstraksi bedah dilakukan insisi pada gusi untuk menjangkau gigi. Beberapa kasus, gigi tersebut harus dipecah menjadi beberapa bagian sebelum dicabut (Sitanaya, 2016).

Tindakan pencabutan gigi dapat meninggalkan bekas luka, dan menyebabkan inflamasi yang menimbulkan rasa kurang nyaman. Inflamasi merupakan respons terhadap jejas pada jaringan hidup yang memiliki vaskularisasi (Nimeri, 2013). Rangsangan inilah yang menyebabkan pelepasan mediator inflamasi seperti histamin, serotonin, bradikinin, dan prostaglandin yang menimbulkan reaksi radang berupa panas, nyeri, merah, bengkak dan gangguan fungsi (Kim, 2014).

Pencabutan gigi dapat menimbulkan komplikasi yang membuat pasien tidak nyaman, beberapa komplikasi yang disebabkan oleh pencabutan gigi adalah trismus, hematoma, edema, *dry socket* dan infeksi luka yang disebabkan oleh penggunaan instrumen yang terinfeksi dan bahan sekali pakai selama prosedur pembedahan (Fragiskos, 2007).

Dry socket merupakan komplikasi yang paling sering terjadi dalam proses penyembuhan penyembuhan luka pasca pencabutan gigi permanen yang disebabkan oleh faktor lokal seperti adanya trauma, infeksi, perdarahan dan faktor

predisposisi lainnya. Beberapa pasien yang mengalami *dry socket* umumnya mengeluhkan timbulnya rasa sakit, adanya penumpukkan sisa-sisa makanan, adanya pembengkakan di daerah sekitar bekas pencabutan, luruhnya gumpalan darah yang akan tampak dan dirasakan pasien pada 1-3 hari pasca pencabutan gigi (Chandra, 2014).

2.2 Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks, tetapi umumnya terjadi secara teratur. Penyembuhan luka dalam pencabutan gigi termasuk dalam penyembuhan luka primer. Salah satu contoh penyembuhan luka primer adalah suatu insisi bedah. Insisi tersebut hanya melibatkan robekan pada membran basalis epitel dan menyebabkan kematian sel epitel dan jaringan ikat dan jumlah yang relatif lebih sedikit (Robbins dkk., 2013).

Penyembuhan luka primer berlangsung dalam 3 fase, yaitu :

1. Inflamasi

Fase inflamasi / fase reaktif berlangsung sejak terjadinya luka sampai kira-kira hari ke-lima, dan terdiri atas fase vaskuler dan seluler. Fase vaskuler pembuluh darah yang ruptur pada luka akan menyebabkan perdarahan dan tubuh akan mencoba menghentikannya melalui vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh darah yang putus, dan reaksi homeostasis (Sugiaman, 2011).

Fase inflamasi akan terjadi aktivitas seluler yaitu dengan pergerakan leukosit menembus dinding pembuluh darah (diapedesis) menuju luka karena daya kemotaksis. Leukosit mengeluarkan enzim hidrolitik yang membantu mencerna bakteri dan debris pada luka (Robbins, 2013). Beberapa jam setelah luka, terjadi radang akut invasi sel inflamasi pada jaringan luka. Sel tersebut adalah sel neutrofil pada infiltrat radang pada 6 sampai 24 jam pertama dan akan bermigrasi menuju daerah luka dan setelah 24-48 jam terjadi transisi sel neutrofil menjadi sel monosit atau makrofag yang merupakan sel paling dominan pada fase inflamasi. Makrofag berfungsi untuk memfagositosis patogen, sel-sel mati, beberapa komponen dalam matriks ekstraselular dan fibrin pada tempat jejas,

makrofag juga menginduksi proliferasi fibroblas dan produksi matriks ekstraseluler pada hari ke-2 (Nucerra dkk., 2010).

Jumlah makrofag paling tinggi terjadi pada hari kedua sampai hari ketiga dan makrofag akan berangsur-angsur menurun pada hari kelima sampai hari ketujuh. Makrofag akan tetap didalam luka sampai penyembuhan berjalan sempurna, makrofag berangsur-angsur akan menurun dan digantikan oleh limfosit (Faler, 2006; Robbins dkk., 2013).

2. Poliferasi

Fase poliferasi disebut juga fase fibroplasia, karena yang menonjol adalah proses proliferasi fibroblas. Fase poliferasi berlangsung dari hari ke-3 hingga akhir fase inflamasi sampai kira-kira akhir minggu ke-tiga yang ditandai dengan deposisi matriks ekstraseluler, angiogenesis, dan epitelisasi (Sugiaman, 2011). Proses angiogenesis juga terjadi pada fase ini yang ditandai dengan terbentuknya formasi pembuluh darah baru dan dimulainya pertumbuhan saraf pada ujung luka (Sjamsuhidajat, 2005; Werner, 2003).

Keratinosit berproliferasi dan bermigrasi dari tepi luka untuk melakukan epitelisasi menutup permukaan luka, menyediakan barier pertahanan alami terhadap kontaminan dan infeksi dari luar. Epitel tepi luka yang terdiri atas sel basal, terlepas dari dasarnya dan berpindah mengisi permukaan luka. Tempatnya kemudian diisi oleh sel baru yang terbentuk dari proses mitosis (Sugiaman, 2011).

Fase poliferasi baru berhenti ketika sel epitel saling menyentuh dan menutup seluruh permukaan luka. Dengan tertutupnya permukaan luka dan dengan pembentukan jaringan granulasi, maka proses fibroplasia akan berhenti dan dimulailah proses pematangan dalam fase *remodeling* (Robbins, 2013; Sjamsuhidajat, 2005; Werner, 2003).

3. Fase maturasi / *remodeling*

Fase maturasi merupakan fase terakhir dari proses penyembuhan luka pada jaringan lunak dan kadang-kadang disebut fase pematangan luka. Fase maturasi terjadi perubahan bentuk, kepadatan, dan kekuatan luka (Werner, 2003). Fase maturasi menghasilkan jaringan parut yang pucat, tipis, lemas, dan mudah digerakkan dari dasarnya. Terlihat pengerutan maksimal dari luka, terjadi

peningkatan kekuatan luka, dan berkurangnya jumlah makrofag dan fibroblas yang berakibat terhadap penurunan jumlah kolagen. Secara mikroskopis terjadi perubahan dalam susunan serat kolagen menjadi lebih terorganisasi (Robbins, 2013; Werner, 2003). Fase ini dapat berlangsung berbulan-bulan dan dinyatakan berakhir apabila semua tanda radang sudah hilang. Tubuh berusaha menormalkan kembali semua yang abnormal karena adanya proses penyembuhan (Robbins, 2013).

2.3 Faktor yang Mempengaruhi Proses Penyembuhan Luka

Menurut Lawler (2002), terdapat dua faktor yang dapat mempengaruhi penyembuhan yaitu :

a. Faktor Lokal

Beberapa faktor lokal sangat berpengaruh terhadap proses penyembuhan. Faktor lokal seperti suplai darah yang kurang, adanya infeksi bakteri atau virus, retensi benda asing, dan trauma.

b. Faktor Umum

Faktor umum meliputi defisiensi vitamin C sehingga mengganggu sintesis kolagen dan penyakit sistemik seperti diabetes mellitus yang dapat mengganggu proses penyembuhan.

Menurut Sjamsuhidajat (2005), penyembuhan luka dipengaruhi dari dalam tubuh (internal) dan dari luar tubuh (eksternal). Faktor internal seperti gangguan sistem imun dan gangguan koagulasi. Sedangkan faktor eksternal seperti adanya penyinaran ionisasi yang mitosis sel.

2.4 Makrofag

Makrofag merupakan unsur sel yang penting pada pembentukan jaringan granulasi. Selain membersihkan debris ekstraseluler dan fibrin pada tempat jejas, makrofag juga menginduksi proliferasi fibroblas dan produksi matriks ekstraseluler pada hari ke-2 dan puncaknya pada hari ke-3. Penurunan jumlah makrofag pada hari ke-5 sampai hari ke-7 menunjukkan bahwa proses inflamasi telah banyak berkurang (Budi, 2017). Makrofag berfungsi untuk memfagositosis

patogen, sel-sel mati, beberapa komponen dalam matriks ekstraselular dan fibrin pada tempat jejas, makrofag juga menginduksi proliferasi fibroblas dan produksi matriks ekstraseluler pada hari ke-2 (Nucerra dkk., 2010).

Makrofag merupakan sel yang dominan pada radang kronik dan merupakan sel jaringan yang berasal dari monosit darah yang beredar dan kemudian keluar dari aliran darah. Waktu paruh monosit dalam sirkulasi sekitar 1 hari, monosit mulai bermigrasi ke tempat jejas dalam waktu 24-48 jam pertama setelah onset inflamasi akut. Pada saat mencapai jaringan ekstraseluler, monosit berubah menjadi makrofag yang lebih besar, dan mampu melakukan fagositosis besar. Makrofag juga bisa menjadi teraktivasi, suatu proses yang menyebabkan ukuran bertambah besar, meningkatnya kandungan enzim lisosom, memiliki metabolisme yang lebih aktif, dan memiliki kemampuan lebih besar untuk membunuh organisme yang dimangsa (Robbins, 2013).

Peningkatan makrofag dalam jumlah yang tidak terkontrol dapat menyebabkan peradangan yang berlebihan atau fibrosis. Disfungsi makrofag atau jumlah makrofag yang rendah dalam proses perbaikan jaringan menyebabkan penyembuhan luka tidak optimal, terhambatnya proliferasi fibroblas dan angiogenesis (Koh, 2011).

Makrofag normalnya tersebar difus pada sebagian besar jaringan ikat, makrofag juga ditemukan dalam jumlah yang meningkat di organ, seperti hati (disebut Kupffer), limfa dan kelenjar getah bening (disebut histosit sinus), system saraf pusat (sel microglia), dan paru (makrofag alveolus). Pada seluruh jaringan, makrofag berfungsi sebagai alat penyaring untuk benda tertentu, mikroba, dan sel yang menua, juga sel efektor yang mengeliminasi mikroba melalui respons seluler atau humoral (Robbins, 2013).

Secara histologis makrofag bebas biasanya tampak bulat dengan pinggir sel yang tidak teratur, tetapi menunjukkan gambaran yang bervariasi. Dalam gambar, makrofag memperlihatkan inti kecil yang kaya kromatin dan sitoplasmanya terisi oleh partikel padat yang tertelan (Gambar 2.3) (Eroschenko, 2010).



Gambar 2.1 Sel makrofag pembesaran kuat atau imersi minyak dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* pada jaringan ikat longgar (Eroschenko, 2010).

Makrofag memiliki diameter 9-10 μm , tetapi pada sediaan hapusan darah diameternya mencapai 20 μm . Terdapat granula azurofil yang merupakan lisosom primer. Retikulum endoplasma, ribosom, dan piliribosom ditemukan dengan jumlah sedikit, sedangkan mitokondrianya banyak. Aparatus golgi berkembang dengan baik dan ditemukan mikrofilamen dan mikrotubulus. Monosit ditemukan pada darah, jaringan ikat, dan rongga-rongga tubuh (Gambar 2.4) (Effendi, 2003).



Gambar 2.2 Sel makrofag pembesaran 1000x dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* pada jaringan jaringan ikat gingiva (Faisah, 2012).

Setelah stimulus awal dieliminasi dan reaksi radang berkurang, makrofag akan mati atau terbawa aliran limfatik. Namun ditempat radang kronik, akumulasi makrofag tetap terjadi, karena pengumpulan dari darah tetap berlangsung dan terjadi juga proliferasi lokal. $\text{IFN-}\gamma$ juga dapat menginduksi makrofag untuk bergabung menjadi sel raksasa multi-inti yang besar (Robbins, 2013).

2.5 Kakao (*Theobroma Cacao* L)

Kakao (*Theobroma cacao* L) adalah anggota dari *Bromeliaceae* yang berasal dari hutan di Amerika Tengah dan Amerika Selatan. Dua subspecies yang ditanam adalah *calabacillo* (*T. Cacao* L. subsp. *sphaerocarpum*) yang berasal dari Amerika Selatan dan *criollo* (*T. Cacao* L. subsp. *cacao*) dari Meksiko (Ferrazzano, 2009).

2.5.1 Taksonomi Tanaman Kakao

Kakao merupakan satu-satunya dari 22 jenis marga *Theobroma*, suku *Sterculiaceae*, yang diusahakan secara komersial. Menurut Tjitrosoepomo (1988) sistematika tanaman ini sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Anak kelas	: Dialypetalae
Bangsa	: Malvales
Suku	: Sterculiaceae
Marga	: <i>Theobroma</i>
Jenis	: <i>Theobroma cacao</i> L

2.5.2 Varietas Kakao

Kakao dibagi tiga kelompok besar berdasarkan populasinya, yaitu:

a. Criollo

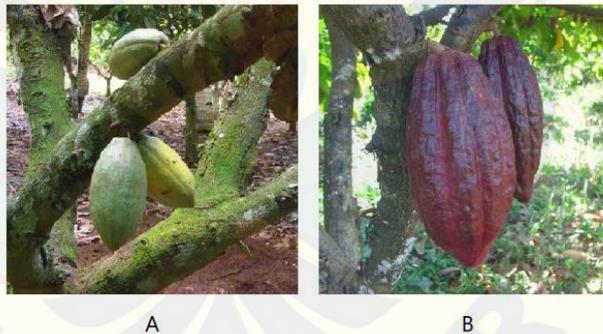
Kakao Criollo termasuk kelompok kakao mulia (*fine flavoured*). Criollo adalah tipe kakao yang bermutu (*Choiced cacao*), hampir seluruhnya berbiji putih dan fermentasinya cepat. Kulit buahnya tipis dan mudah diiris. Kakao Criollo menghasilkan cita rasa coklat yang lembut dengan warna yang cerah (Siregar dkk., 2003). Pertumbuhan tanaman kakao tipe Criollo kurang kuat, daya hasilnya lebih rendah dibandingkan Forestero yang lebih rentan terhadap gangguan hama dan penyakit (Sahardi, 2015).

b. Forastero

Kakao Forastero termasuk kelompok kakao lindak (*bulk*). Forastero merupakan tipe yang lebih kuat dalam hal produksi tapi mutunya rendah, oleh sebab itu sering disebut *Bulk cacao / Lindak*. Bijinya gepeng dan selalu berwarna ungu, kulit buahnya keras dan sulit diiris. Kakao jenis Forastero memiliki cita rasa coklat yang kuat dan warna yang gelap, karena banyak mengandung polifenol dan antosianin (Siregar dkk, 2003).

c. Trinitario

Kakao Trinitario merupakan hibrida *Criollo* dengan *Forastero*. Sifat-sifat Kakao ada diantara keduanya (*Criollo* dan *Forastero*). Kakao ini memiliki buah dengan beragam warna dengan kulit buah yang halus sampai dengan kasar, biji berwarna ungu dengan bentuk lonjong pipih, dan mengandung lemak yang cukup banyak (KKI, 2006).



Gambar 2.3 A. Kakao Lindak (sub jenis *T. cacao sphaeocarpum*)
B. Kakao mulia (sub jenis *T. cacao*) (Karmawati, 2010).

2.6 Kandungan Biji Kakao

Biji kakao mengandung senyawa-senyawa polifenol/fenolik berupa katekin, epikatekin, antosianin, proantosianidin, asam-asam fenolat, tanin, dan flavonoid-flavonoid lainnya (Sartini, 2013). Sebanyak 60% dari total fenolik pada biji kakao mentah adalah monomer flavanol (epikatekin dan katekin) dan oligomer proanidin (dimer hingga decamer) (Dreosti, 2000).

Tabel 2.1 Jenis polifenol yang terkandung pada biji kakao

Gugus polifenol			
Proanthocyanidin	Flavan-3 ol	Anthocyanidin	Flavonol glycoside
Procyanidin B1	(-)-Epicatechin	Cyanidin-3- α - Larabinosid	Quercetin-3-O- α - D- arabinosid
Procyanidin B2	(+)-Catethin	Cyanidin-3- β - Dgalaktosid	Quercetin-3-O- β - Dglucopuranosid
Procyanidin B3	(+)-Gallocatechin		
Procyanidin B4	(-)-Epigallocatechin		
Procyanidin B5			
Procyanidin C1			
Procyanidin D			

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

Kandungan polifenol dalam kakao banyak diteliti dalam kaitannya dengan kesehatan, hal ini disebabkan aktivitas antioksidan yang ditunjukkan polifenol kakao. Polifenol kakao khususnya kelompok flavonoid diketahui secara signifikan mempengaruhi produksi beberapa jenis sitokin, yaitu senyawa ekstraselular yang berfungsi menyampaikan sinyal dari satu sel ke sel lainnya. Kehadiran sitokin inilah yang mempengaruhi aktivitas sistem imun (Suardita, dkk., 2014). Flavonoid dapat menghambat siklooksigenase atau lipooksigenase dan menghambat akumulasi leukosit sehingga dapat menjadi agen antiinflamasi (Narande, 2013).

Flavonoid pada biji kakao dengan aktivitas antiinflamasinya juga dapat merangsang makrofag untuk menghasilkan *growth factor* dan sitokin seperti EGF, TGF- β , IL-1, IL-4, IL-8. TGF- β dan EGF berfungsi untuk induksi proliferasi dan migrasi fibroblas serta induksi fibroblas dalam produksi matriks ekstra seluler. IL-1, IL-4 dan IL-8 berfungsi menginduksi proses kemotaksis fibroblas dan keratinosit, mengaktifasi proliferasi fibroblas dan menginduksi sintesa kolagen (Hidayat, 2013).

Katekin adalah senyawa polifenol alami, merupakan metabolit sekunder dan termasuk dalam penyusun golongan tanin. Katekin memiliki efek antioksidan, antimutagenik, antidiabetes, antiinflamasi, antibakteri, antivirus dan antikanker (Lestari dkk., 2009).

Epikatekin memiliki fungsi sebagai antioksidan yang mempunyai kemampuan untuk mengurangi sejumlah gugus radikal bebas dalam tubuh manusia dan menyediakan pertahanan terhadap serangan spesies oksigen yang reaktif (Reactive Oxygen Species/ROS) (Tohawa, 2014).

Secara kimia antosianin merupakan turunan struktur aromatik tunggal, yaitu sianidin, dan semuanya terbentuk dari pigmen sianidin dengan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil, metilasi dan glikosilasi. Antosianin tergolong flavonoid yang pada umumnya larut dalam air (Winarno, 1997). Antosianin bertindak sebagai penangkal radikal bebas, menghambat reaksi hidrolisis dan oksidasi enzim, antibakteri, serta antiinflamasi (Ibtisam, 2008).

Proantosianidin atau tanin terkondensasi, adalah kelas senyawa fenolik polimer yang terdiri terutama unit flavon-3-ol (katekin, epikatekin, dan 3-Ogalat dan epigalat) (Goufo dan Trindade, 2013). Berbagai penelitian secara *in vitro* dan *in vivo* membuktikan bahwa antosianin dan proantosianidin bertindak sebagai antioksidan dan berpotensi sebagai pencegah berbagai penyakit seperti kardiovaskular, diabetes melitus, dan lain sebagainya (Arifin dkk., 2019).

2.7 Peran Polifenol dalam Proses Penyembuhan Luka

Polifenol berfungsi sebagai antiinflamasi, antibakteri dan antioksidan. flavonoid merupakan zat yang berfungsi sebagai antioksidan akan mempercepat fase inflamasi dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi oksidasi dengan meningkatkan aktifitas enzim *Superoxide dismutase* (SOD) dan *glutathion transferase*. Selain itu flavonoid juga dapat merangsang sel-sel seperti makrofag untuk menghasilkan growth factor dan sitokin seperti epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor β (TGF- β), interleukin 1 (IL-1), interleukin 4 (IL-4), interleukin 8 (IL-8). TGF- β dan EGF memiliki peran untuk menginduksi proliferasi dan migrasi fibroblas dan menginduksi fibroblas dalam produksi matriks ekstra seluler. IL-1, IL-4 dan IL-8 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 (Fuadi, 2015).

Mekanisme flavonoid yang terkandung dalam polifenol dalam menghambat terjadinya inflamasi melalui dua cara yaitu menghambat asam arakhidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel endothelial dan menghambat fase proliferasi dan fase eksudasi dari proses inflamasi, terhambatnya pelepasan asam arakhidonat dapat menyebabkan kurang tersedianya substrat arakhidonat bagi jalur siklooksigenase dan lipooksigenase, sehingga akhirnya akan menekan jumlah prostaglandin, tromboksan, prostasiklin, endoperoksida, asam hidroksatetraenoat, dan leukotrin (Robbinson, 2013). Terhambatnya jalur lipooksigenase akan menyebabkan penurunan sel inflamasi yang ditandai dengan penurunan jumlah sel radang secara mikroskopis pada area luka (Prasetyo, 2015). Selanjutnya reaksi inflamasi akan berjalan lebih singkat dan kemampuan dari poliferatif dari factor-faktor pertumbuhan tidak terhambat (Indraswary, 2011). Jika proses inflamasi dapat berlangsung lebih singkat maka penyembuhan jaringan akan tercapai lebih dini (Sulistiawari, 2011).

Katekin adalah senyawa yang memiliki antioksidan yang tinggi. Mekanisme katekin sebagai antioksidan pada saat penyembuhan luka adalah dengan memotong reaksi berantai radikal bebas dengan cara mengikat zat besi (Fe) (Lingga, 2012). Untuk mekanisme theobromin sebagai antimikroba adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri (Kurniawan, 2015).

2.8 Metode Ekstraksi Biji Kakao

Ekstraksi adalah suatu cara untuk menarik satu atau lebih zat dari bahan asal dengan menggunakan pelarut. Tujuan utama ekstraksi ini adalah untuk mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan (Syamsuni, 2006). Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah air dan etanol (Ningsih dkk., 2009).

Pada penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan.

Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Agoes, 2007). Keuntungan cara ekstraksi dengan metode ini adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah dilakukan. Sedangkan kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyaringannya kurang sempurna (Ningsih dkk., 2009).

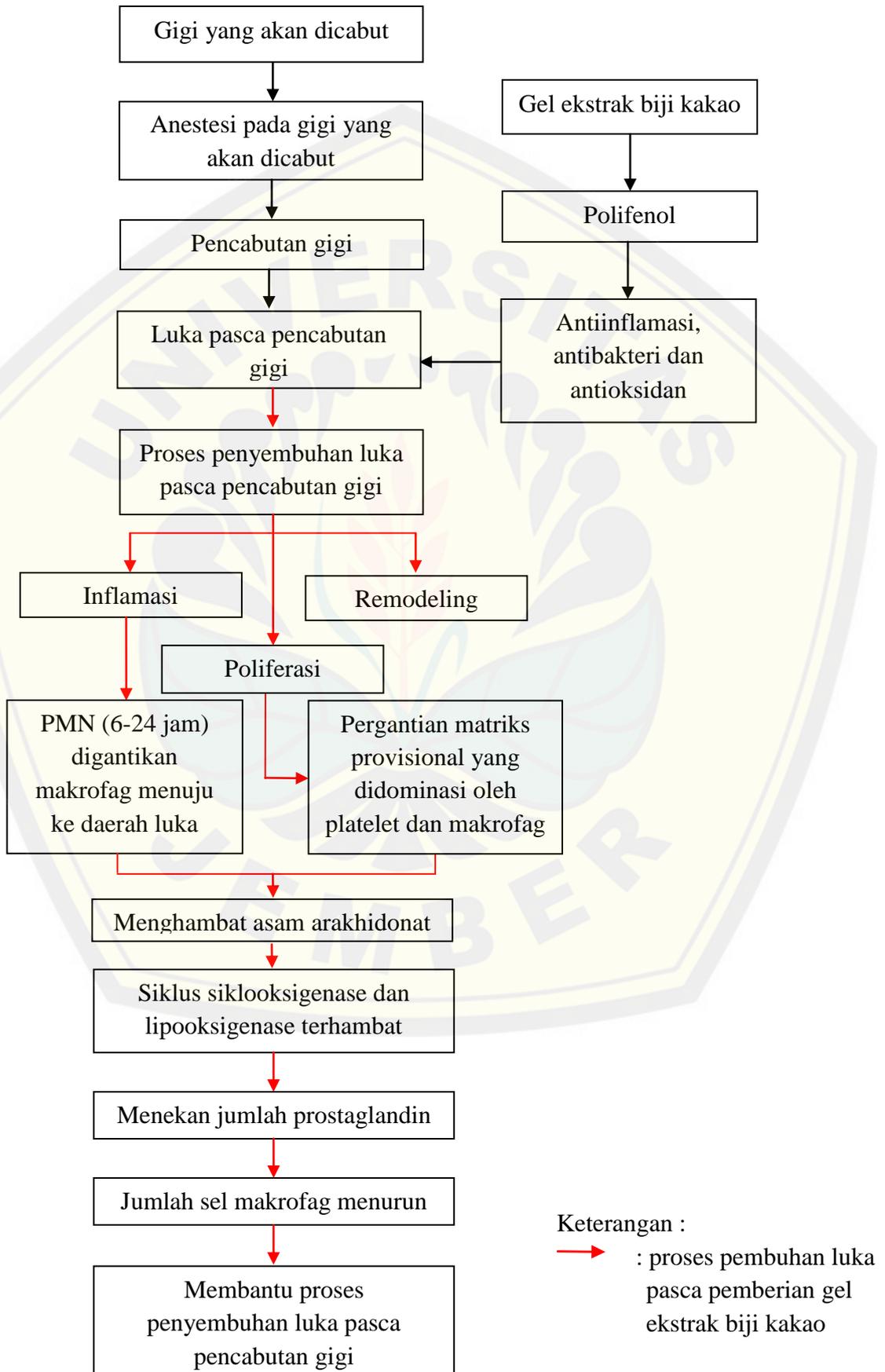
2.9 Metode Sediaan Ekstrak Biji Kakao

Sediaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan dalam bentuk gel. Gel merupakan sediaan setengah padat yang terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel organik dan anorganik (Yanhendri, 2012). Gel mempunyai sifat yang menyejukkan, melembabkan, mudah penggunaannya, mudah berpenetrasi pada kulit sehingga memberikan efek yang menyembuhkan (Ansel, 2005).

Bentuk gel dipilih dengan alasan gel bersifat setengah padat, lunak dan kenyal sehingga dalam pengaplikasian jaringan luka lebih mudah diletakkan dalam soket bekas pencabutan dan dapat bertahan lama dalam soket sampai pada saatnya masuk ke dalam proses penyembuhan luka (Zulfitri dkk., 2012).

Gelling agent yang sering digunakan adalah carboxymethylcellulose, dikenal sebagai CMC. Carboxymethylcellulose Sodium (CMC-Na) berbentuk serbuk granul putih, tidak berbau, tidak berasa, dan bersifat higroskopis. Pada konsentrasi 3-6% dalam formula biasa digunakan sebagai basis gel. Tidak dapat larut dalam aseton, etanol (95%), eter, dan toluene, tetapi mudah terdispersi dalam air pada segala temperatur (Rowe dkk, 2009).

2.10 Kerangka Konseptual



2.11 Penjelasan Kerangka Konsep

Pencabutan gigi merupakan tindakan perawatan yang sering dilakukan dalam bidang kedokteran gigi. Sebelum dilakukan pencabutan gigi dilakukan anestesi terlebih dahulu, tujuan pemberian anestesi pada dasarnya adalah mengurangi atau bahkan menghilangkan rasa nyeri dan juga memberikan ketenangan kepada pasien yang akan diberikan perawatan. Setelah dilakukan anestesi maka dapat dilakukan pencabutan gigi. Pencabutan gigi dapat menyebabkan suatu kavitas berupa soket gigi dan luka bekas pencabutan gigi pada jaringan di sekitar soket diikuti oleh respon tubuh berupa penyembuhan luka.

Luka pada jaringan lunak selanjutnya diikuti dengan proses penyembuhan yang terjadi melalui tiga fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase *remodeling* (Sugiaman, 2011). Fase inflamasi ditandai dengan adanya kehadiran sel PMN (6-24 jam) yang selanjutnya digantikan oleh makrofag menuju ke daerah luka. Fase proliferasi terjadi Pergantian matriks provisional yang didominasi oleh platelet dan makrofag. Fase remodeling ditandai dengan terbentuknya jaringan parut.

Gel ekstrak biji kakao diberikan setelah pencabutan gigi. Biji kakao mengandung senyawa-senyawa polifenol/fenolik berupa katekin, epikatekin, antosianin, proantosianidin, asam-asam fenolat, tanin, dan flavonoid-flavonoid lainnya (Sartini, 2013). Polifenol dalam biji kakao mengandung antiinflamasi, antibakteri dan antioksidan.

Kandungan antiinflamasi dalam biji kakao dapat menghambat asam arakhidonat yang dapat mempengaruhi siklus siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga menekan jumlah prostaglandin sehingga jumlah sel makrofag menurun. Adanya penurunan jumlah makrofag dapat membantu proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi.

2.12 Hipotesis

Pemberian gel ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L*) berpotensi menurunkan jumlah sel makrofag pada soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar jantan pada hari ke-1, hari ke-3 dan hari ke-5.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

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

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat

Penelitian ini dilakukan dalam berbagai tempat :

1. Bagian identifikasi tanaman Politeknik Negeri Jember
2. Laboratorium Analisis Terpadu Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Negeri Jember
3. Laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Negeri Jember
4. Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Negeri Jember untuk perlakuan hewan coba.
5. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Negeri Jember untuk pembuatan preparat dan pembuatan jaringan.

3.2.2 Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2018 – Januari 2019.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah gel ekstrak biji kakao 8%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan pada penelitian ini adalah jumlah sel makrofag yang dilihat secara mikroskopik menggunakan mikroskop binokuler dengan bantuan kamera *Opti Lab* pada hari ke-1, hari ke-3 dan hari ke-5 setelah diberi gel ekstrak biji kakao. Daerah yang diamati pada 3 lapang pandang yang berbeda yaitu pada 1/3 apikal pada soket gigi pada bagian mesial, distal dan central.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

1. Hewan coba berupa tikus wistar jantan yang memiliki berat badan sekitar 150-200 gram dengan usia 2-3 bulan dan keadaan umum baik.
2. Tempat pemeliharaan.
3. Cara pembuatan gel ekstrak biji kakao.
4. Cara pemberian, dosis dan waktu gel ekstrak biji kakao.
5. Pengambilan dan pembuatan sediaan jaringan luka.
6. Pengecatan sediaan jaringan luka.
7. Pengamatan dan penghitungan jumlah sel makrofag.

3.4 Definisi Operasional Penelitian

3.4.1 Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.)

Ekstrak biji kakao adalah ekstrak yang terbuat dari biji kakao jenis lindak dengan karakteristik bewarna ungu dan gepeng yang berasal dari perkebunan Sidodadi, kecamatan Tempurejo, Kabupaten Jember dan dikeringkan kemudian dibuat serbuk dan dimaserasi dengan pelarut etanol 96%. Selanjutnya ekstrak biji kakao tersebut dibuat sediaan gel yang diberikan secara topikal pada sampel kelompok perlakuan dengan konsentrasi 8%.

3.4.2 Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi adalah suatu proses pengeluaran gigi dari soket yang melibatkan jaringan keras dan jaringan lunak rongga mulut. Sebelum dilakukan

pencabutan gigi molar satu rahang bawah kiri tikus wistar jantan dianastesi terlebih dahulu dengan ketamin secara *general* dengan cara injeksi ketamin menggunakan *disposable syringe* pada paha kaki belakang sebelah kanan di otot tricep tikus. Kemudian dilakukan pencabutan gigi pada gigi molar satu rahang bawah kiri menggunakan sonde setengah lingkaran, eskavator kecil, gunting bedah dan *artery calm*.

3.4.3 Sel Makrofag

Pengamatan makrofag dilakukan secara mikroskopik pada hari ke-1, ke-3 dan ke-5 dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* dengan pembesaran 400x. bagian Makrofag akan terlihat dengan bentuk irreguler dan berwarna kebiruan dengan granul hasil fagositosis berwarna kecoklatan di dalam sitoplasma makrofag (Kietnan, 2008).

3.5 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah tikus wistar jantan yang memiliki berat badan sekitar 150-200 gram dengan usia 2-3 bulan dan keadaan umum baik.

3.5.1 Besar Sampel

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

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

Keterangan:

n = besar sampel tiap kelompok

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

σ = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang dapat ditoleransi

Berdasarkan perhitungan rumus di atas, maka jumlah sampel minimal yang didapatkan sebanyak 4. Sehingga besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4 sampel untuk setiap kelompok. Jadi, jumlah keseluruhan sampel adalah 24 ekor.

3.5.2 Kriteria Sampel

Kriteria sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

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

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Kandang tikus
- b. Tempat makan dan minum tikus
- c. Timbangan/neraca (Ohaus)
- d. Sarung tangan/*handscone* (Evo Med)
- e. Masker (Sensi)
- f. Sonde lambung
- g. Pinset berkerat kedokteran gigi (Dentica)
- h. Ekskavator (Dentica)
- i. Sonde setengah bulat (Dentica)
- j. *Arteri Clamp* (Yamaco)
- k. *Disposibble syringe* (One Med)
- l. Gelas Ukur (Pyrex)
- m. *Rotary evaporator* (Heppendolf)
- n. Lumpang dan alu
- o. Maserator
- p. Alat cetak *paraffin*
- q. Mikrotom (Leica)
- r. *Slide warmer* (Sakura)
- s. Oven
- t. *Waterbath*
- u. *Beaker glass* (Pyrex)

- v. Kaca objek/*object glass* (Slides)
- w. *Deck glass* (Maenzel-Glaser)
- x. Mikroskop Binokuler (Olympus photo slide BX51 with Cam DP71 12 mpx)
- y. Kamera Optilab[®]

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah:

- a. Biji kakao jenis lindak
- b. Makanan untuk tikus Wistar
- c. *Aquadest* steril
- d. *Parrafin*
- e. *Buffer* formalin 10%
- f. Xylol
- g. *Mayer's Haematoksilin*
- h. Alkohol 80%, 95% , dan 100%
- i. EDTA
- j. Eosin
- k. Ettellan
- l. Air
- m. Minyak emersi
- n. Larutan buffer
- o. Etanol 96 %
- p. *Meyer egg albumin*
- q. CMC-Na

3.7 Dosis

3.7.1 Dosis Gel Ekstrak Biji Kakao

Pada penelitian Fuadi dkk. (2015) menyatakan dosis gel ekstrak biji kakao dengan kon sentrasi 8% yang dapat diberikan kepada tikus dalam sehari adalah 0,5gram. Sebanyak 0,5 gram gel ekstrak biji kakao setara dengan 2,5

mg/200grBB. Jadi dosis gel ekstrak biji kakao yang diberikan kepada tikus Wistar jantan 2,5 mg/200grBB sehari sekali. Pemberian dilakukan mulai hari ke-1 pasca pencabutan gigi tikus Wistar Jantan.

3.7.2 Dosis Ketamin

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

3.8 Prosedur Kerja

3.8.1 *Ethical Clearance*

Sebelum dilakukan penelitian, hewan coba dan prosedur penelitian akan dilakukan pengurusan *ethical clearance* di Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Negeri Jember.

3.8.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba diadaptasikan selama 7 hari dalam kandang dan diberi makanan serta minum agar hewan coba memiliki keseragaman sebelum dilakukan penelitian untuk mengontrol hewan coba.

3.8.3 Pembuatan Ekstrak Biji Kakao

Sampel biji dibersihkan dari pulpa biji dengan cara nonfermentasi yaitu dengan cara manual karena pembersihan pulpa biji kakao secara non fermentasi dapat menjaga atau tidak mengurangi kandungan yang berada pada biji kakao tersebut kemudian diangin-anginkan selama ± 24 jam. Tahap selanjutnya, sampel yang telah kering ditumbuk kasar dan diangin-anginkan lagi sampai kering selama ± 48 jam, kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk biji kakao tersebut direndam dalam etanol 96% selama 24 jam. Proses ekstraksi biji kakao ini menggunakan pelarut etanol karena polifenol dari biji kakao bersifat polar dan relatif stabil pada kondisi larutan asam sehingga polifenol dalam biji kakao lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol. Larutan diaduk secara konstan dengan mesin maserasi kinetik selama 1 jam terlindung dari

cahaya, kemudian disaring menggunakan kertas saring hingga diperoleh cairan berwarna coklat kemerahan yang 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 (Hafidhah dkk., 2017).

3.8.4 Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao 8%

Aquades 88 ml diukur dengan labu ukur dan dituangkan ke dalam lumpang. Kemudian 4 gram CMC-Na diukur dengan timbangan analitik ditaburkan ke dalam lumpang yang berisi aquades. Diamkan sekitar 10-15 menit, aduk hingga mengembang dan digerus hingga membentuk gel berwarna bening. Masukkan ekstrak biji kakao sebanyak 8gr (*Theobroma cacao* L.) ke dalam lumpang dan dicampur sampai homogen (Farhatika, 2017).

3.8.5 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba tikus Wistar jantan sebanyak 24 ekor dibagi menjadi 2 kelompok utama dan setiap kelompok terbagi menjadi 3 subdivisi kelompok. Sehingga jumlah kelompok adalah 6 kelompok. Kelompok I (kelompok kontrol negatif), kelompok II (kelompok perlakuan) yang akan diteliti pada hari ke-1, hari ke-3 dan hari ke-5. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus Wistar jantan. Pada seluruh kelompok dilakukan pencabutan gigi molar rahang bawah yang sebelumnya telah dilakukan anestesi.

- a. Kelompok I, kontrol negatif, setelah dilakukan pencabutan gigi molar satu rahang bawah kiri hewan coba tidak diberikan perlakuan pada soket yang telah dilakukan pencabutan gigi.
 - 1) Pada hari ke-1, 4 ekor hewan coba didekaputasi kemudian diambil jaringan pada bagian soket pasca pencabutan gigi molar satu rahang bawah kiri, selanjutnya diproses untuk membuat sediaan jaringan.
 - 2) Pada hari ke-3, 4 ekor hewan coba didekaputasi kemudian diambil jaringan pada bagian soket pasca pencabutan gigi molar satu rahang bawah kiri, selanjutnya diproses untuk membuat sediaan jaringan.

- 3) Pada hari ke-5, 4 ekor hewan coba didekaputasi kemudian diambil jaringan pada bagian soket pasca pencabutan gigi molar satu rahang bawah kiri, selanjutnya diproses untuk membuat sediaan jaringan.
- b. Kelompok II, kelompok perlakuan , setelah dilakukan pencabutan gigi molar satu rahang bawah kiri hewan coba diberi gel ekstrak biji kakao 8% sehari sekali sampai tikus Wistar dikorbankan:
 - 1) Pada hari ke-1, 4 ekor hewan coba didekaputasi kemudian diambil jaringan pada bagian soket pasca pencabutan gigi molar satu rahang bawah kiri, selanjutnya diproses untuk membuat sediaan jaringan.
 - 2) Pada hari ke-3, 4 ekor hewan coba didekaputasi kemudian diambil jaringan pada bagian soket pasca pencabutan gigi molar satu rahang bawah kiri, selanjutnya diproses untuk membuat sediaan jaringan.
 - 3) Pada hari ke-5, 4 ekor hewan coba didekaputasi kemudian diambil jaringan pada bagian soket pasca pencabutan gigi molar satu rahang bawah kiri, selanjutnya diproses untuk membuat sediaan jaringan.

3.8.6 Tahap Pencabutan Gigi Tikus

Pencabutan molar satu bawah kiri dilakukan pada masing- masing kelompok yang dianastesi terlebih dahulu dengan anastesi ketamin dengan dosis 0,04 – 0,08 ml. Anastesi yang digunakan adalah anastesi *general* dengan cara injeksi ketamin menggunakan *disposable syringe* pada paha kaki belakang sebelah kanan di otot tricep tikus. Pencabutan gigi dilakukan dengan cara sonde setengah lingkaran dimasukkan ke dalam sulkus gingiva untuk merusak perlekatan gingiva dan gigi kemudian gigi di goyangkan dengan menggunakan *artery clamp* serta diungkit atau dilakukan pencabutan dengan menggunakan ekskavator kecil. Dilakukan secara hati- hati dengan arah dan gerakan yang menimbulkan trauma minimal.

3.8.7 Tahap Pembuatan Preparat Jaringan

Tahap pembuatan sediaan sebagai berikut:

a. Pengambilan sampel sediaan.

Pemotongan rahang bawah kiri tikus pada region posterior dengan melebihkan jaringan yang diambil sepanjang 5 mm pada bagian mesial distal dari soket gigi. Untuk pembuatan preparat jaringan diambil dengan arah sagital agar bentuk soket dapat terlihat dengan jelas. Jaringan difiksasi dengan menggunakan larutan *buffer* formalin 10% selama 12-18 jam untuk mencegah terjadinya *autolysis*, mempertahankan morfologi, dan mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri. Setelah difiksasi jaringan dicuci dengan air mengalir.

b. Dekalsifikasi

Dekalsifikasi dengan tujuan untuk melepaskan bahan anorganik dalam tulang tanpa merusak protein yang ada. Dekalsifikasi dilakukan dengan memakai larutan EDTA selama 30 hari.

c. Pemrosesan jaringan

Tahapan pemrosesan jaringan :

1. Dehidrasi

Dehidrasi jaringan dilakukan dengan tujuan untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan yang telah difiksasi sehingga nantinya dapat diisi dengan *paraffin* atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Hal ini perlu dilakukan karena air tidak dapat bercampur dengan cairan *paraffin* atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Penarikan air keluar dari sel/jaringan dilakukan dengan cara merendam jaringan dalam bahan kimia yang berfungsi sebagai dehidrator (penarik air) yang secara progresif konsentrasinya meningkat, yakni alkohol (Pratiwi, 2015).

2. *Clearing*

Clearing merupakan proses penjernihan jaringan dengan menggunakan bahan-bahan antara lain: *xylol*, toluen dan benzen.

Pada penelitian ini, mengunkan *xylol* sebanyak 3 kali pada 3 tabung yang berbeda dengan ketentuan waktu 1 jam pada tabung pertama dan 2 jam pada tabung kedua dan ketiga.

3. impregnasi

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

4. Embedding

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

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

5. Penyayatan Jaringan

- d) Penyayatan mengguankan alat mikrotom, yang sebelumnya bersihkan pisau mikrotom dengan kasa/ kertas saring yang telah dibasahi dengan *xylol*.
- e) Mengatur ketebalan sayatan mikrotom sebesar 6 mikron
- f) Mengambil sayatan yang telah diperoleh dengan kuas kemudian sayatan diletakkan diatas permukaan air *waterbath* dengan temperatur 56°-60°C hingga sayatan mekar.
- g) Mengambil sayatan yang sudah mekar menggunakan *object glass* yang telah diolesi dengan *meyer egg albumin*.

Selanjutnya dikeringkan dengan *slide warmer* minimal 12 jam suhu 30°-35°C.

3.8.8 Tahapan Pewarnaan

Pewarnaan adalah proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga jaringan dapat dikenali dan memudahkan dalam pengamatan jaringan dengan mikroskop (Pratiwi, 2015). Pewarnaan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Haematoksilin Eosin* (HE). Untuk pengecatan *Haematoksilin Eosin* (HE) digunakan untuk melihat jumlah sel makrofag. Teknik pengecatan yang dilakukan adalah sesuai dengan standart rutin dari Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Metode pengecatan HE secara progresif antara lain:

- a) Preparat dimasukkan ke dalam *xylol* selama 3 menit lalu ulangi dengan memasukkan kembali ke dalam *xylol* pada wadah yang berbeda selama 3 menit.
- b) Rehidrasi dengan larutan alkohol absolut dua kali dan alkohol 95% dua kali masing - masing selama 3 menit dengan wadah yang berbeda.
- c) Preparat dibilas dengan air mengalir selama 10-15 menit, mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan menghilangkan semua kelebihan alkohol.
- d) Preparat diwarnai dengan cat *Mayer's Haematoksilin* selama 10 menit
- e) Bilas dengan air mengalir selama 20 menit
- f) Preparat direndam *eosin* selama 15 detik sampai 2 menit
- g) Dehidrasi kembali dengan konsentrasi meningkat 95% dan absolut masing-masing 3 menit dengan wadah yang berbeda
- h) Setelah itu, preparat dimasukkan ke dalam *xylol* tiga kali masing-masing 3 menit dengan wadah yang berbeda
- i) *Mounting* menggunakan cairan *entellan* lalu ditutup *deck glass*.

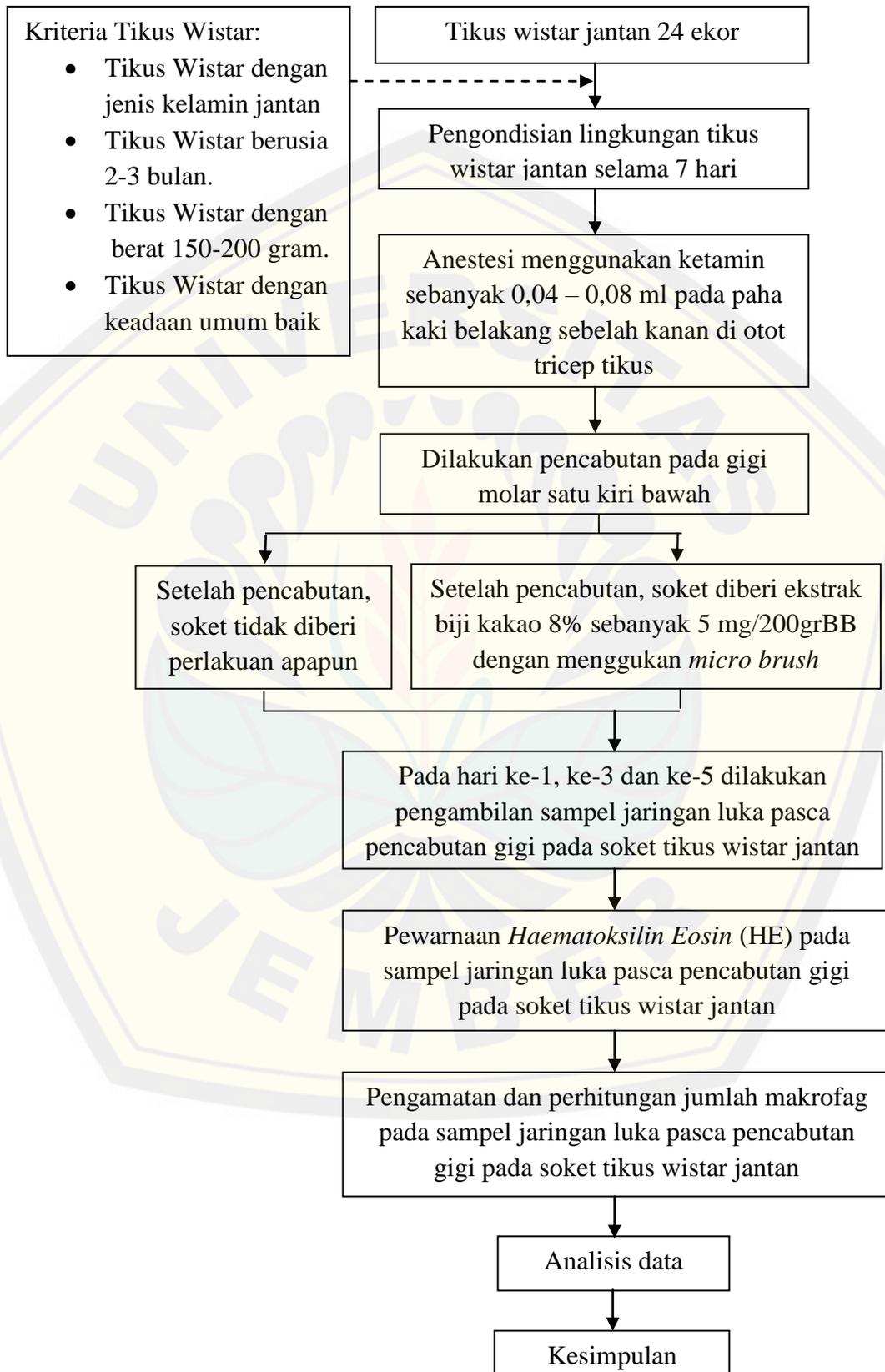
3.8.9 Tahapan Pengamatan dan Perhitungan Jumlah Makrofag

Pengamatan dan perhitungan jumlah makrofag menggunakan *Opti Lab* yang tersambung pada mikroskop binokuler. Penghitungan dilakukan oleh 3 orang pengamat dengan menghitung tiga lapang pandang yang berbeda yaitu pada 1/3 apikal pada soket gigi pada bagian mesial, distal dan central pasca pencabutan menggunakan *software image raster* dengan perbesaran 400X. Kemudian, hasil penghitungan sel makrofag dilakukan tabulasi dan diambil rata-ratanya.

3.9 Analisis Data

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan *software* SPSS. Data dianalisis terlebih dahulu menggunakan uji normalitas yaitu uji *Saphiro-Wilk*. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas varian menggunakan uji *Levene-Test*. Apabila data yang diperoleh berdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji parametrik *One-Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) yang dilanjutkan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

3.10 Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa gel Ekstrak biji kakao 8% (*Theobroma Cacao, L*) berpotensi menurunkan jumlah sel makrofag pada soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar jantan.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan saran yang dapat diberikan sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian sediaan topikal dalam bentuk gel yang mempertimbangkan kekurangan dari sediaan gel sendiri yaitu mudah larut dalam saliva sehingga dilakukan penjahitan pada soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar jantan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian aplikasi topikal selain sediaan dalam bentuk gel pada penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus Wistar jantan.
3. Perlu penelitian lebih lanjut tentang pengaruh kandungan dalam biji kakao (*Theobroma cacao, L*) seperti flavonoid, katekin, proantosianidin, epikatekin, dan antosianin yang berperan pada proses keradangan tikus Wistar jantan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung : ITB Press
- Agussalim. 2011. *Manfaat Biji Kakao untuk Kesehatan*. Sulawesi Tenggara : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian.
- Akhlaghi, M., Brian, B. 2009. Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia–reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 46 : 309–17.
- Al Fa'izah, Z. 2018. Efektifitas Gel Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L*) terhadap Jumlah Sel Fibroblast pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar Jantan. *Skripsi*. Jember : Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.
- Anggraini, N.D. 2014. Uji Toksisitas Subkronis Senyawa Asam 2-3-(Klorometil)Benzoiloksi Benzoa pada Profil Darah dan Urin Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi*. Surabaya: Universitas Katolik Widya Mandala.
- Ansel,H,C. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi edisi IV*. Jakarta : UI Press.
- Aponno, J. V, Yamlean, P.V.Y. & Supriati, H.S., 2014. Uji efektivitas sediaan gel ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava Linn*) terhadap penyembuhan luka yang terinfeksi bakteri staphylococcus aureus pada kelinci (*Orytolagus cuniculus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3(3): 279–286.
- Bakar, A. 2012. *Kedokteran Gigi Klinis*. Yogyakarta: Quantum
- Bratawidjaja K. 2001. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Balai Penerbit Fakutas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Brooks P., J, D. Nilforoushan, M.F. Manolson, C.A. Simmons, and S.G. Gong. 2009. Molecular markers of early orthodontic tooth movement. *The Angle Orthodontist*. 79(6): 1113–1108.
- Budi, H.S., P. Soesilowat, Z. Imanina. 2017. Gambaran histopatologi penyembuhan luka pencabutan gigi pada makrofag dan neovaskular dengan pemberian getah batang pisang ambon. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 3(3): 122
- Chandra, H. M. 2014. *Buku Petunjuk Praktis Pencabutan Gigi*. Edisi Pertama. Makassar: Sagung Seto.

- Christgau, M. 2004. Wound management and postoperative care. *Perio*. 1(4): 293-310.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4): 564-582.
- Daniel, W. W. 2008. *Biostatic: A Foundation For Analysis in The Health Sciences*. 8th ed. Las Vegas : University of Nevada.
- Departemen Pertanian. 2004. *Standard Prosedur Operasional Kakao dan Penanganan Biji Kakao di Tingkat Petani*. Jakarta : Direktorat Jenderal Bina Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian.
- Dreosti, I. E. 2000. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry*. 100(4): 1523-1530.
- Effendi, D. Z., 2003. *Peranan Leukosit sebagai Antiinflamasi Alergik dalam Tubuh*. Solo: USU digital library.
- Eroschenko, V. P. 2010. *Atlas Histologi diFiore dengan Kolerasi Fungsional*. Edisi 11. Jakarta: EGC
- Fachriani, Z., C. F. Novita, dan Sunnati. 2016. Distribusi frekuensi faktor penyebab ekstraksi gigi pasien di rumah sakit umum. *Journal Caninus Dentistry*. 1(4) : 32-38.
- Faisah, Ria. 2012. Pemberian Probiotik Terhadap Jumlah Sel Makrofag gingiva Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Lipopolisakarida E.Coli. *Skripsi*. Jember : Bagian Biomedik Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Faler B.J., R.A. Macsata , D. Plummer , L. Mishara , A.N. Sidawi . 2006. *Transforming growth factor- β and wound healing. Perspectives in vascular surgery and endovascular therapy*. USA: Westminster Publications. 18(1): 55-62.
- Farhatika, Nadia. 2018. Respon Antiinflamasi Gel Ekstrak Biji Kakao (Theobroma cacao L.) terhadap Intensitas Kolagen Jaringan Lunak pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Ferrazzano, G. F., A. Ivana, I. Aniello, D. Antonino , dan P. Antonino. 2009. Anti-cariogenic effects of Polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia*. 80: 259.
- Fragikos, D. 2007. *Oral Surgery*. Jerman: Springer Science and Business Media.

- Fuadi, M.I., U. Elfiah, dan Misnawi. 2015. Jumlah fibroblas pada luka bakar derajat II pada tikus dengan pemberian gel ekstrak etanol biji kakao dan silver sulfadiazine. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 3(2): 244-248.
- Guyton, A. C. Dan Hall, J. E. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi kesebelas. Jakarta : EGC
- Hafidhah, N., R.F. Hakim, dan Fakhurrazi. 2017. Pengaruh ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis* pada berbagai konsentrasi. *Journal Caninus Dentistry*. 2(2): 92-96.
- Hidayat, T.S.N. 2013. Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera pada Penyembuhan Luka Bakar derajat Dua Dalam. *Skripsi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Hiie, C.L., C.L. Law, S. Suzannah, Misnawi, M. Cloke. 2009. Polyphenol in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Asian Journal of Food and Agro-Industry*. 2(4):702.
- Ibtisam. 2008. *Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (Eugenia uniflora L.) Menggunakan Metode Perlokasi dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid*. Bogor: Institut Pertanian Bogor Press.
- Ito, K., Y. N. Akamura, T. T. Okunaga, and D. I. Ijima. 2003. Anti cariogenic properties of a water soluble extract from cacao. *Enzyme*. 67 (12): 2567-73.
- Karmawati, Elna dkk. 2010. *Budidaya dan Pascapanen Kakao*. Bogor : Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Kayaputri, I.L., D.M. Sumanti, M.D.R. Indiarso, dan D.L. Dewi. 2014. *Kajian Fitokimia Ekstrak Kulit Biji Kakao (Theobroma cacao L.)*. Sumedang: Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjadjaran.
- Kietnan, J. A., 2008. Histological and histochemical methods 4th edition. *Journal of Anatomy*. United Kingdom : Scion.
- Kim, J.H., and N. Kim. 2014. Regulation of NFATc1 in osteoclast differentiation. *Journal of Bone Metabolism*. 21(4): 241-233.
- Koh T.J., DiPietro L.A. 2011. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. *Expert Rev Mol Med*. 11(13): 23.
- Komisi Kakao Indonesia (KKI). 2006. *Direktori dan Revitalisasi Agribisnis Kakao Indonesia*. Departemen Pertanian.
- Konam, J., Y. Namaliu, R. Daniel dan D. Guest. 2009. *Pengelolaan Hama dan Penyakit Terpadu untuk Produksi Kakao Berkelanjutan, Panduan Pelatihan*

untuk Petani dan Penyuluh. Australia : Pusat Penelitian Internasional Australia (ACIAR).

Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba.* Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

Lestari, C., Widjijono, dan K. Murdiastuti . 2009. Pengaruh ekstrak gambir terstandarisasi (*Uncaria Gambir (Hunter) Roxb*) sebagai periodontal dressing terhadap penyembuhan luka gingiva kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Majalah Kedokteran Gigi.* Vol. 16

Misnawi, S., B. Jinap, Jamillah, dan S. Nazamid. 2002. Effect of incubation and polyphenol oxidase enrichment of unfermented and partly fermented dried cocoa beans on color, fermentation index and epicatechin content. *International Journal of Food Science and Technology.* 3(8): 2-4.

Narande, J.M., A. Wulur, dan A. Yudistira. 2013. Uji efek antiinflamasi ekstrak etanol daun suji (*Dracaena angustifolia Roxb*) terhadap edema kaki tikus putih jantan galur wistar. *Pharmachon, Jurnal Ilmiah Farmasi.* 2(3): 14-18

Nehriasari, I. 2014. Perbedaan Pagaruh Povidone-Iodine 10% Dan Chlorhexidine 0,2% Terhadap Peningkatan Jumlah Osteoblas dan Kepadatan Kolagen Pasca Pencabutan Gigi. *Tesis.* Yogyakarta: Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.

Nimeri, G., C.H. Kau, N.S. Aboe-kheir, and R. Corona. 2013. Acceleration of tooth movecment during orthodontic treatment - a frontier in orthodontic. *Progress in Orthodontic.* 42-14.

Ningsih, I. Y., Nuri, P.E., dan Arum, M. 2009. *Buku Petunjuk Pratikum Fitokimia Edisi Revisi IV.* Jember: Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember

Notoatmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan.* Jakarta: Rineka Cipta.

Nucerra S, Biziato D, Palma MD. 2010. The interplay between macrophages and angiogenesis in development tissue injury and regeneration. *Int. j. dev. Biol.* 55:495-503.

Pawarta, I.M.O. Adi. 2016. *Antioksidan.* Denpasar : Universitas Udayana

Peraturan Menteri Pertanian Nomor 90/Permentan/OT.140/9/2013. Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2013 Nomor 1143.

- Pratiwi, H.C. dan Abdul M. 2015. Teknik dasar histologi pada ikan gurami (*Osporonemus gouramy*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 2(7): 154-158.
- Prior, R. L., and L. Gu. 2005. Occurrence and Biological Significance of Proanthocyanidins in the American Diet. *Phytochemistry*. US : Department of Agriculture. 66: 2264–80.
- Purnamasari, D. A., M. Ellie , R.M Yogiartono. 2010. Konsentrasi ekstrak biji kakao sebagai material alam dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal PDGI*. 59(1): 14.
- Robbins, S.L., R.S. Cotran, dan V. Kumar. 2013. *Buku Ajar Patologi*. Edisi ke-7. Jakarta: EGC.
- Rowe, R.C. et Al. 2006. *Handbook Of Pharmaceutical Excipients*, 5th Ed. London: The Pharmaceutical Press.
- Sabir A. 2003. Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi. Dalam *Majalah Kedokteran Gigi*. Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III. Surabaya : FKG Unair. 36: 81 – 87.
- Sahardi, Fadju D. 2015. Keragaman karakteristik morfologis dan argonomis plasma nuftah klon harapan kakao lokal sulawesi selatan. *Litri*. 21 (3) : 147.
- Saraf, Sanjay. 2006. *Text Book Of Oral Pathology*. First Edition. New Delhi, India : Jaypee Brother Medical Publisher Ltd.
- Sari, S. A. 2013. Efektivitas Pemberian vitamin C terhadap aktivitas osteoblas pasca pencabutan pada tikus wistar jantan. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Sartini. 2013. Pemanfaatan Kakao Sebagai Sumber Bahan Aktif Pembantu Sediaan Farmasi (Obat dan Kosmetika) dan Suplemen Makanan. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Industri Kakao dan Hasil Perkebunan Lainnya*. Makassar : Balai Besar Industri Hasil Perkebunan Kementerian Perindustrian.
- Siregar, H.S. Tumpal., S. Riyadi, dan L. Nuraini. 2003. *Budidaya Pengolahan dan Pemasaran Cokelat*. Jakarta: Penebar Suwadaya.
- Sitanaya, R. I. 2016. *Exodontia (Dasar-dasar Ilmu Pencabutan Gigi)*. Edisi Pertama, Cetakan 1. Yogyakarta : Deepublish.
- Sjamsuhidajat R, Wim DJ. 2005. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta: EGC.

- Suardita, I.W., D.C., Mufida dan Miswani. 2014. Efek Imunomodulasi Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao* L) terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum Mencit yang Diinfeksi Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*. Jember: Fakultas Kedokteran, Universitas Jember
- Subandi, I.K. Rini, dan L. Maslahatun. 2014. Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* L. Miers) terhadap Peningkatan Reepitelisasi Luka Bakar Derajat IIB pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar. *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Sugiaman, V.K. 2011. Peningkatan penyembuhan luka di mukosa oral melalui pemberian *Aloe Vera* (Linn.) secara topikal. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 11(1): 70-79.
- Susilawati, Y. 2007. *Flavonoid Tanin-Polifenol*. Universitas Padjadjaran: Jatinangor-Indonesia.
- Syamsuni. 2006. *Ilmu Resep*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Tjitrosoepomo, Gembong. 1988. *Taksonomi Tumbuhan (Sperma thopyta)*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.
- Tohawa, Juniaty. 2014. Kandungan senyawa polifenol pada biji kakao dan kontribusinya terhadap kesehatan. *SIRINOV*. 2(1): 1-16.
- Valko, M., Mario I., Milan M., Christopher J.R. and Joshua T. 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 266 : 36- 37
- Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Wirya, M. 2015. Petroganik Tingkatkan Efisiensi Pupuk Anorganik. <http://tabloidsahabatpetani.com/petroganik-tingkatkan-efisiensi-pupuk-anorganik> [Diakses pada 4 Agustus 2018].
- Werner S, Richard G. 2003. Regulation of wound healing by growth factor and cytokines. *Physiol Rev*. 83:835-70.
- Yanhendri, S.W.Y. 2012. Berbagai bentuk sediaan topikal dalam dermatologi. *CDK-194*. 39(6): 426
- Zhang X, Goncalves R, Mosser D. 2008. The isolation and characterization of murine macrophages. *Curr Protoc Immunol*. 14(1): 8.

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



LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Besar Sampel

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

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

Keterangan :

n = besar sampel tiap kelompok

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

σ = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang dapat ditoleransi

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:

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

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

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

$$n = 3,84$$

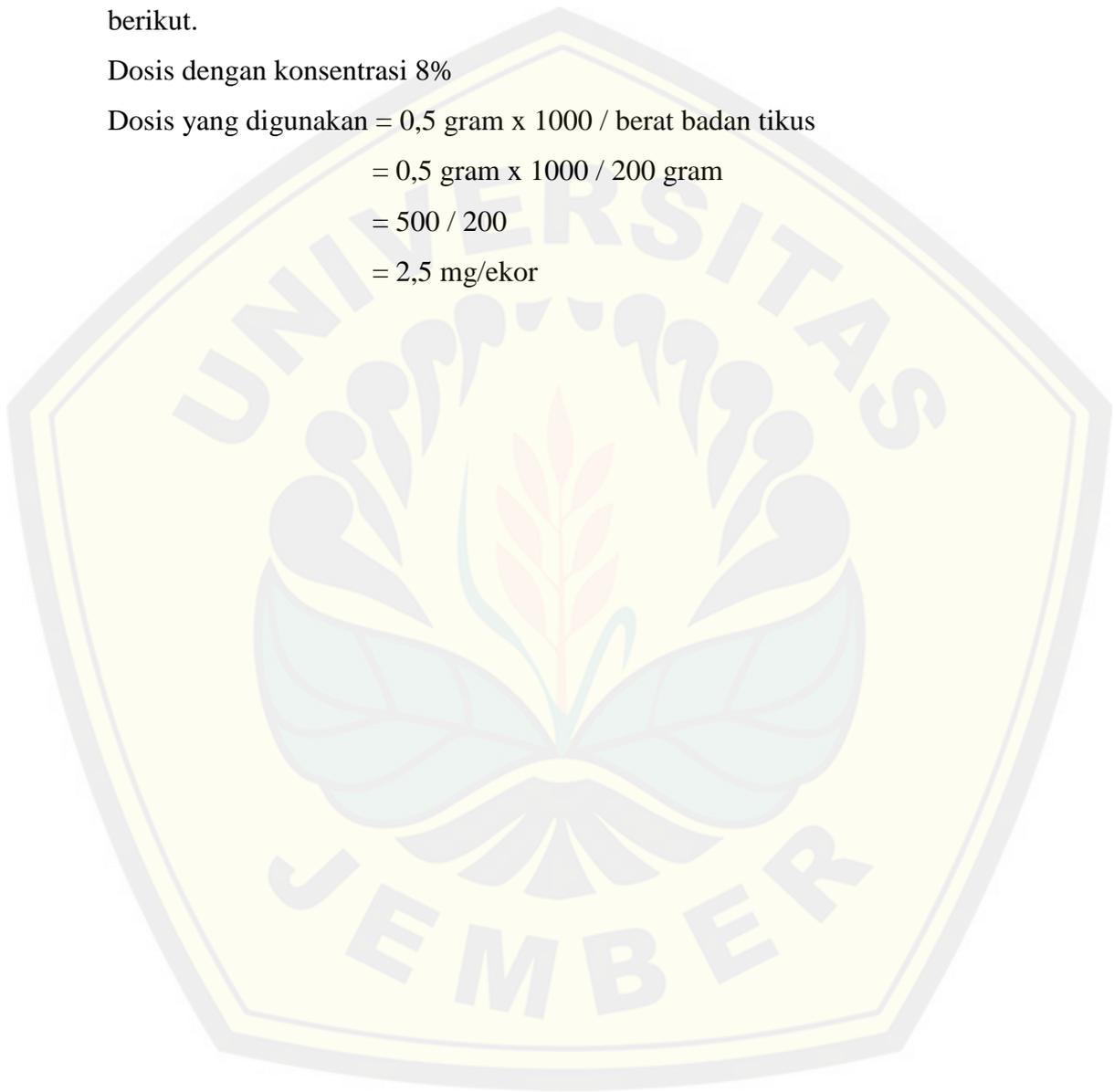
$$= 4$$

Lampiran 2. Perhitungan Dosis Gel Ekstrak Biji Kakao

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

Dosis dengan konsentrasi 8%

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



Lampiran 3. Perhitungan Dosis Ketamin

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

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

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

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

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

Lampiran 4. 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. 152/UN25.8/KEPK/DL/2018

Title of research protocol	: "The Effect of Cocoa Bean Extract (<i>Theobroma cacao L.</i>) on the Amount of Macrophage Cells in Sockets Post Tooth Extraction of Male Wistar Rats"
Document approved	: Research Protocol
Principal investigator	: Melati Harum Pertiwi
Member of research	: -
Responsible Physician	: Melati Harum Pertiwi
Date of approval	: August 3 rd , 2018
Place of research	: Laboratory of Physiology 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.

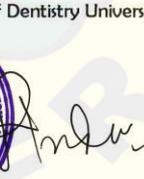
Jember, August 6th, 2018

Dean of Faculty of Dentistry Universitas
Jember



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

Chairperson of Research Ethics Committee
Faculty of Dentistry Universitas Jember



(arg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si)

Lampiran 5. 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 : 4113/UN25.8.TL/2018
Perihal : Pembuatan Gel

23 OCT 2018

Kepada Yth
Kepala Laboratorium Farmasetika
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Di
Jember

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

- | | | |
|----|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Melati Harum Pertiwi |
| 2 | NIM | : 151610101053 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip No. 47 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Kakao (<i>Theobroma cacao L</i>) terhadap Jumlah Sel Makrofag Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar Jantan |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : - |
| 9 | Waktu | : September 2018 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kakao |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr.drg. Atik Kurniawati, M.Kes
2. drg. Zainul Cholid, Sp.BM |

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terimakasih

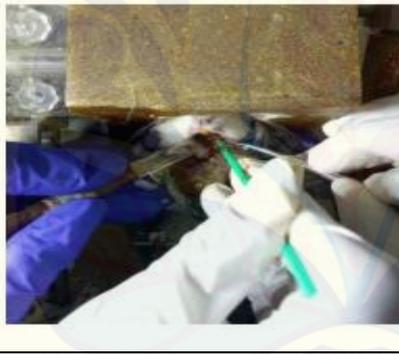


an, Dekan
Wakil Dekan I,

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

Lampiran 6. Prosedur Penelitian

No	Gambar	Keterangan
1.		Ekstrak biji kakao
2.		CMC-Na sebagai bahan pembawa
3.		Gel ekstrak biji kakao 8%
4.		Adaptasi hewan coba

5.		Anestesi hewan coba menggunakan ketamin
6.		Pencabutan gigi tikus wistar jantan
7.		Pemberian gel ekstrak biji kakao 8%
8.		Pengorbanan hewan coba

9.		Pemotongan rahang bawah kiri pada region posterior
10.		Dekalsifikasi jaringan
11.		Pemrosesan jaringan
12		Embedding jaringan

13.		Pemasangan pada blok kayu
14.		Pemotongan jaringan
15.		Pewarnaan jaringan
16.		Pengamatan jaringan

Lampiran 7. Sertifikat Pengujian Ekstrak Biji Kakao



LABORATORIUM ANALISIS TERPADU
JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER

Kampus Tegalboto Jl. Kalimantan 37 – Jember 68121
 Telp/Fax.: 0331-321786/0331-321784 - Email: labat_unej@yahoo.com

SERTIFIKAT PENGUJIAN
TEST CERTIFICATE
 15/LHU/LAT/2018

Nomor Analisa : 15/10/2018
Analyze number

Contoh : Pasta Ekstrak Biji Kakao
Sample

Dibuat untuk : Dr. drg. Atik Kurniawati, M. Kes., Reizy Abdillah,
 Hendito K. Putra, Melati Harum Pertiwi,
 Karin Pinta Aulia
Executed for

Alamat : Fakultas Kedokteran Gigi UNEJ, Jl .Kalimantan 37
 Jember
Address

Jenis Usaha : -
Type of Business

Diterima Tanggal : 26 - Oktober - 2018
Date of Acceptance

Metode Uji : Slinkard dan Singleton, 1977
 Radikal DPPH
 Chang et al, 2002
 (AOAC, 2005) - pH-Differential
Testing Method

Metode Pengambilan Contoh : -
Sampling Method

Hasil Pengujian : Terlampir
Test Result

Uraian contoh : Masing-masing sampel 40g dalam kemasan
 botol kaca
Detail of Sample

Diterbitkan Tanggal 20 - Maret - 2019
Date of Issue

Kepala Laboratorium
Analisis Terpadu

M. Puspa Sari
 Dr. Puspita Sari, S.TP, M.Agr
 NIP. 197203011998022001

Perhatian :
 Laporan Hasil Uji hanya berlaku untuk contoh diatas dan berlaku 90 hari sejak tanggal diterbitkan
 Laporan Hasil Uji ini tidak boleh digandakan

Hal 1 dari 2 (Page 1 of 2)



LABORATORIUM ANALISIS TERPADU
JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER

Kampus Tegalboto Jl. Kalimantan 37 – Jember 68121
 Telp/Fax : 0331-321786/0331-321784 - Email: labat_unej@yahoo.com

LAPORAN HASIL UJI

No. 15/LHU/LAT/2018

Nomor Analisa : 15/10/2018

Nama : Dr. drg. Atik Kurniawati, M. Kes.,
 Pengirim : Reizy Abdillah,
 Hendito K. Putra,
 Melati Harum Pertiwi, Karin Pinta
 Aulia

Contoh : Pasta Ekstrak Biji Kakao
 Metode Uji : Slinkard dan Singleton, 1977
 Radikal DPPH
 Chang et al, 2002
 (AOAC, 2005) - pH-Differential

Alamat : Fakultas Kedokteran Gigi UNEJ,
 Jl. Kalimantan 37- Jember

Diterima Tanggal : 26 - Oktober - 2018

Catatan Contoh : Masing-masing sampel 40g dalam kemasan botol kaca

No.	Kode Sampel	Parameter Uji	Satuan	Hasil Uji	Metode Uji
1.	Pasta Ekstrak Biji Kakao	Kadar Polifenol	%	11,8398	Slinkard dan Singleton, 1977
2.	Pasta Ekstrak Biji Kakao	Kadar Anti Oksidan	%	43,5907	Radikal DPPH
3.	Pasta Ekstrak Biji Kakao	Kadar Flavanoid	%	10,9157	Chang et al, 2002
4.	Pasta Ekstrak Biji Kakao	Kadar Antosianin	MAP (mg/ml)	-	(AOAC, 2005) - pH-Differential

Catatan : Parameter uji sesuai permintaan

Jember, 20-Maret -2019

Kepala Laboratorium
 Analisis Terpadu

Dr. Puspita Sari, S.TP, M.Agr
 NIP. 197203011998022001

Lampiran 8. Surat Izin Laboratorium Biomedik (Fisiologi)



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

Nomor : /UN25.8.TL/2018
Perihal : Ijin Penelitian

19 JUL 2018

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 : Melati Harum Pertiwi
- 2 NIM : 151610101053
- 3 Semester/Tahun : 2017/2018
- 4 Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- 5 Alamat : Jl. Mastrip No. 47 Jember
- 6 Judul Penelitian : Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L*) terhadap Jumlah Sel Makrofag Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar Jantan
- 7 Lokasi Penelitian : Laboratorium Fisiologi FKG Universitas Jember
- 8 Data/alat yang dipinjam : -
- 9 Waktu : September 2018 s/d Selesai
- 10 Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Pengaruh Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L*) terhadap Jumlah Sel Makrofag Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar Jantan
- 11 Dosen Pembimbing : 1. Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes
2. drg. Zainul Cholid, Sp.BM

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an Dekan
Wakil Dekan I,

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

NIP. 196109031986022001

Lampiran 9. Alat dan Bahan Penelitian

9.1 Alat Penelitian



Keterangan :

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



1. Incubator



4. Slide warmer



2. Mikroskop binokuler



5. Mikrotom



3. Water bath



6. Optilab



7. Filing cabinet



8. Almari es



9.2 Bahan Penelitian



Keterangan:

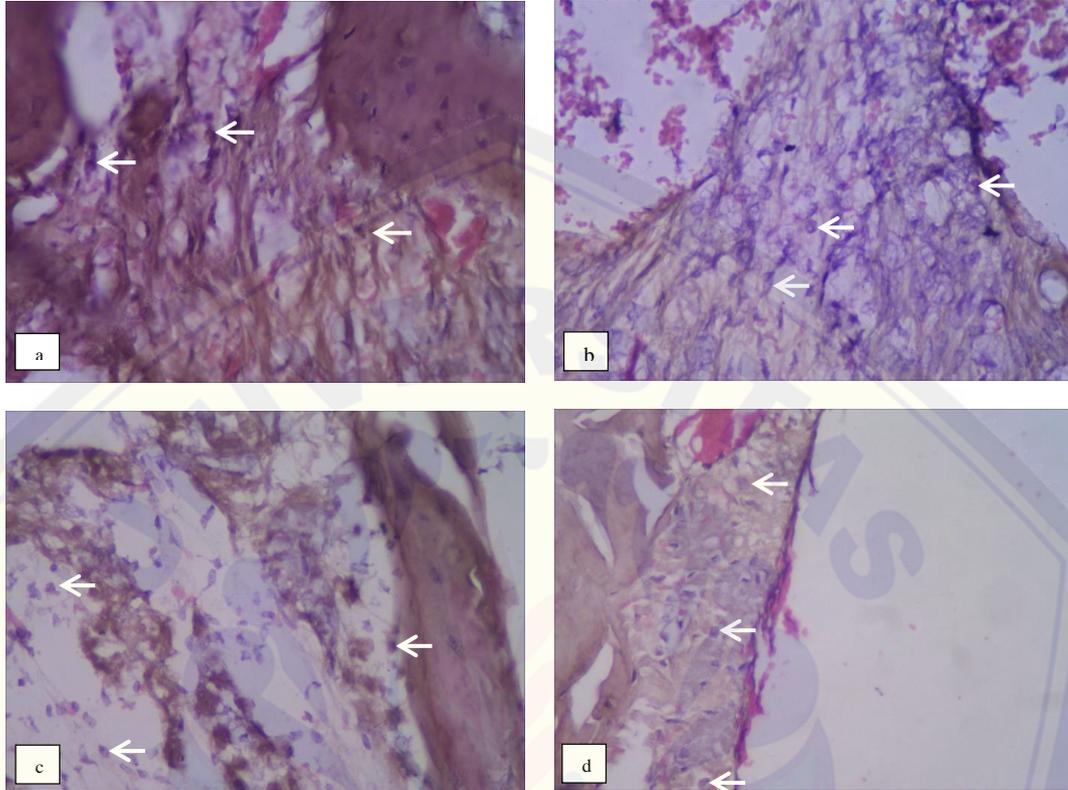
- | | |
|----------------------|--------------------------|
| 1. Parafin Pastilles | 6. Alkohol 95% |
| 2. EDTA | 7. Alkohol 70% |
| 3. Entellan | 8. Xylol |
| 4. Alkohol 80% | 9. Objek glass dan cover |
| 5. Alkohol 100% | 10. Mayer's Hematoxylin |
| | 11. Eosin |

Lampiran 10. Surat Izin Laboratorium Biomedik (Histologi)

	KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI UNIVERSITAS JEMBER FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991	
Nomor	: 4117/UN25.8.TL/2018	23 OCT 2018
Perihal	: Ijin Penelitian	
Kepada Yth Kepala Bagian Laboratorium Biomedik 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	: Melati Harum Pertiwi
2	NIM	: 151610101053
3	Semester/Tahun	: 2017/2018
4	Fakultas	: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5	Alamat	: Jl. Mastrip No. 47 Jember
6	Judul Penelitian	: Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Kakao (<i>Theobroma cacao L</i>) terhadap Jumlah Sel Makrofag Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar Jantan
7	Lokasi Penelitian	: Laboratorium Histologi FKG Universitas Jember
8	Data/alat yang dipinjam	: -
9	Waktu	: September 2018 s/d Selesai
10	Tujuan Penelitian	: Untuk Mengetahui Pengaruh Ekstrak Biji Kakao (<i>Theobroma cacao L</i>) terhadap Jumlah Sel Makrofag Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar Jantan
11	Dosen Pembimbing	: 1. Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes 2. drg. Zainul Cholid, Sp.BM
Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terimakasih		
		 Dekan I, Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes NIP. 196109031986022001

Lampiran 11. Hasil Gambaran Histologis Makrofag

Gambar 1

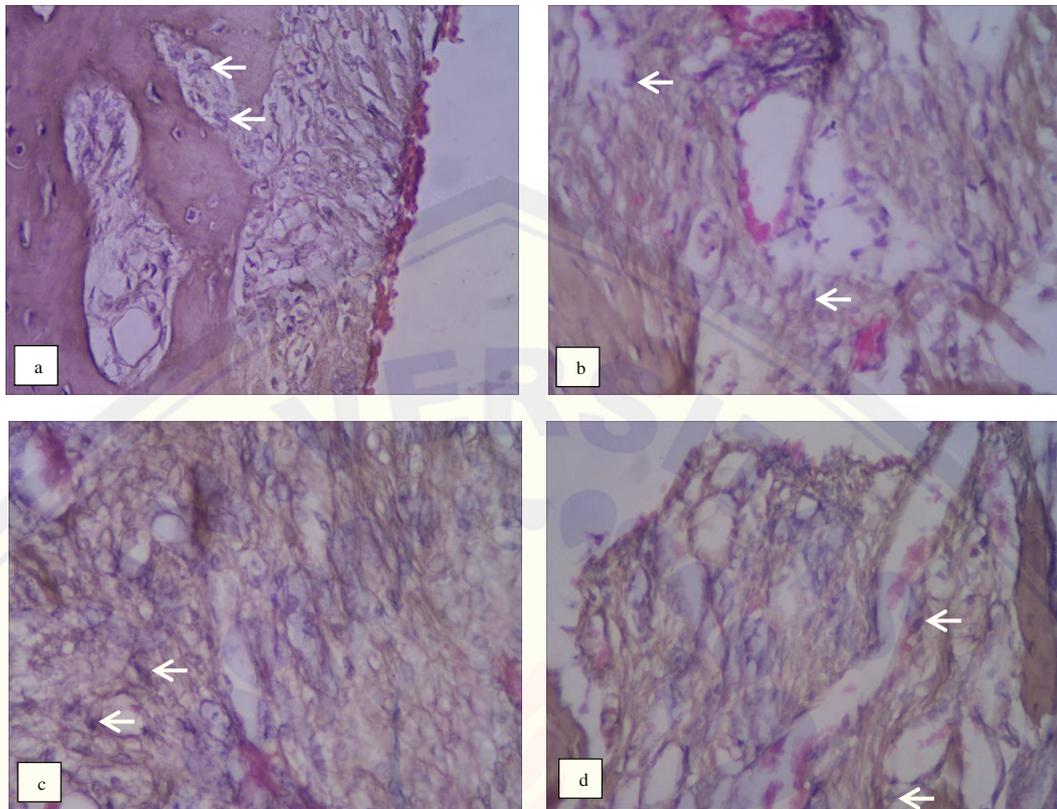


Gambaran histologis sel makrofag (panah putih) kelompok tanpa perlakuan hari ke-1 pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan dengan pewarnaan *Hematoxylin-eosin* dengan pembesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.

Keterangan :

- a. Sediaan sampel 1
- b. Sediaan sampel 2
- c. Sediaan sampel 3
- d. Sediaan sampel 4

Gambar 2

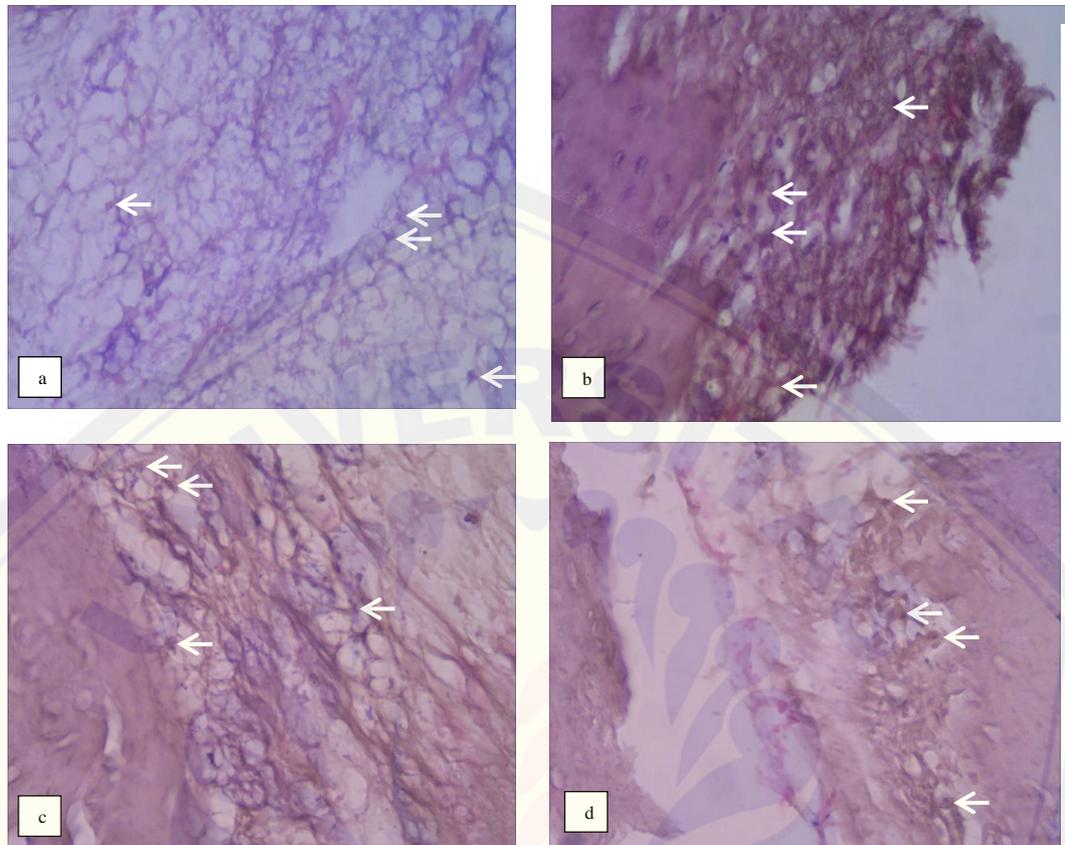


Gambaran histologis sel makrofag (panah putih) kelompok perlakuan hari ke-1 dengan pemberian gel ekstrak biji kakao sebesar 8% pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan dengan pewarnaan *Hematoxylin-eosin* dengan pembesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.

Keterangan :

- a. Sediaan sampel 1
- b. Sediaan sampel 2
- c. Sediaan sampel 3
- d. Sediaan sampel 4

Gambar 3

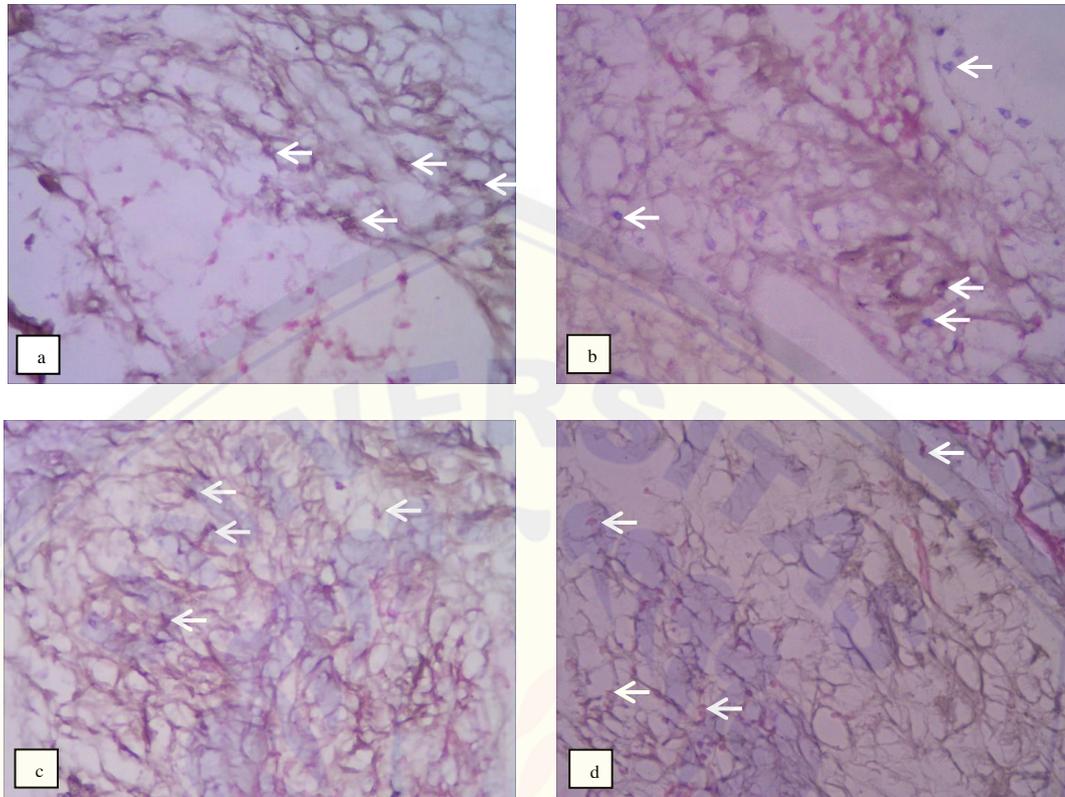


Gambaran histologis sel makrofag (panah putih) kelompok tanpa perlakuan hari ke-3 pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan dengan pewarnaan *Hematoxilin-eosin* dengan pembesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.

Keterangan :

- a. Sediaan sampel 1
- b. Sediaan sampel 2
- c. Sediaan sampel 3
- d. Sediaan sampel 4

Gambar 4

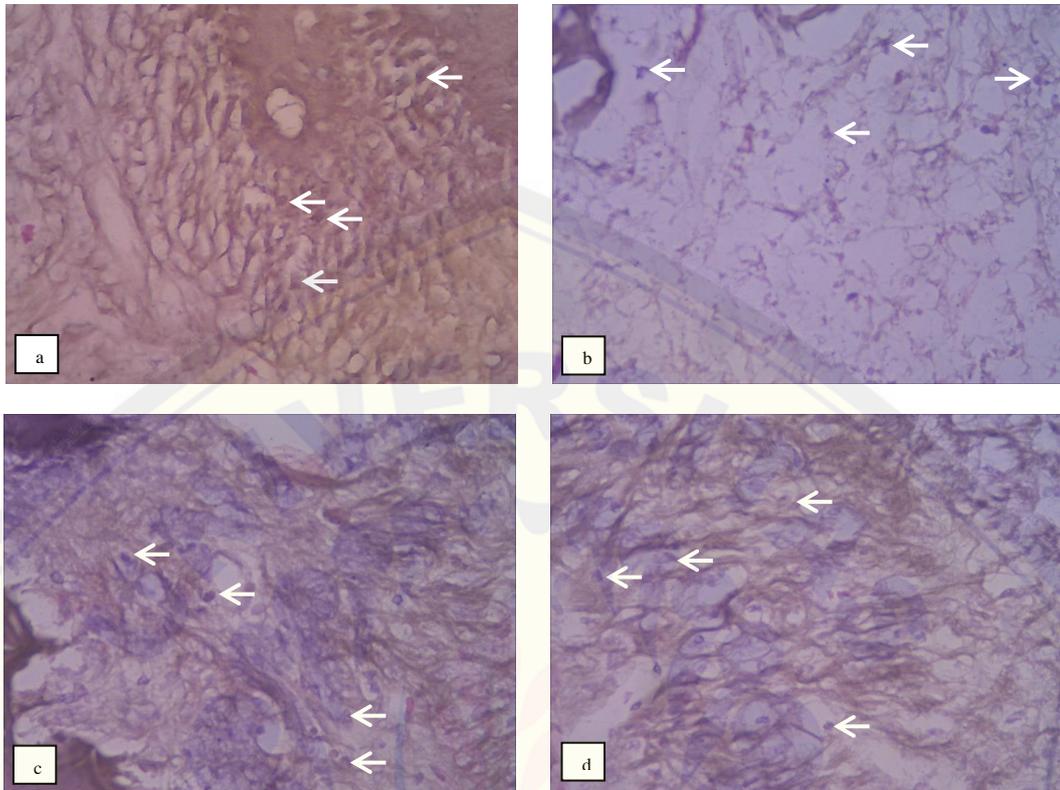


Gambaran histologis sel makrofag (panah putih) kelompok perlakuan hari ke-3 dengan pemberian gel ekstrak biji kakao sebesar 8% pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan dengan pewarnaan *Hematoxylin-eosin* dengan pembesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.

Keterangan :

- a. Sediaan sampel 1
- b. Sediaan sampel 2
- c. Sediaan sampel 3
- d. Sediaan sampel 4

Gambar 5

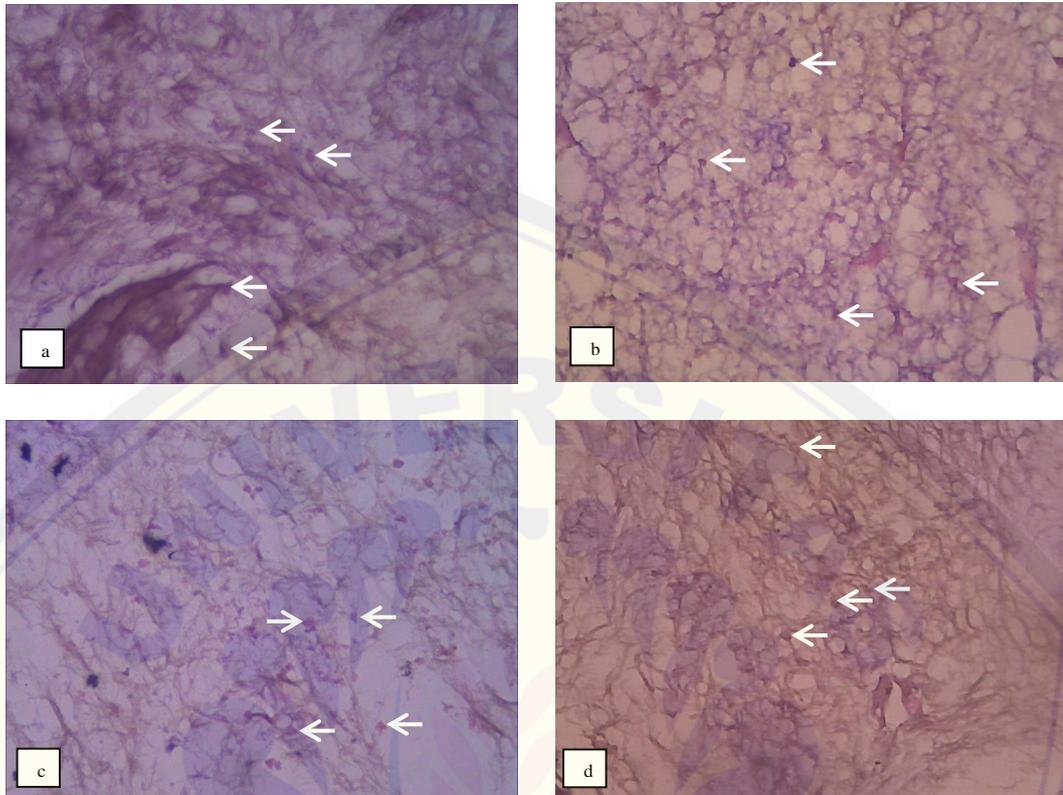


Gambaran histologis sel makrofag (panah putih) kelompok tanpa perlakuan hari ke-5 pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan dengan pewarnaan *Hematoxilin-eosin* dengan pembesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.

Keterangan :

- a. Sediaan sampel 1
- b. Sediaan sampel 2
- c. Sediaan sampel 3
- d. Sediaan sampel 4

Gambar 6



Gambaran histologis sel makrofag (panah putih) kelompok perlakuan hari ke-5 dengan pemberian gel ekstrak biji kakao sebesar 8% pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan dengan pewarnaan *Hematoxylin-eosin* dengan pembesaran 400x menggunakan mikroskop binokuler.

Keterangan :

- a. Sediaan sampel 1
- b. Sediaan sampel 2
- c. Sediaan sampel 3
- d. Sediaan sampel 4

Lampiran 12. Rerata Hasil Perhitungan Jumlah Sel Makrofag

Preparat	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata-rata
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
1K	3	3	4	3	4	3	3	3	3	3,22
1K	4	3	3	3	4	3	3	3	2	3,11
1K	3	3	2	3	4	3	3	3	3	3,00
1K	3	4	3	3	3	4	3	4	3	3,30
1P	2	1	2	1	2	2	2	1	1	1,56
1P	0	2	1	1	2	2	1	2	2	1,44
1P	1	2	2	1	2	2	1	1	1	1,45
1P	0	2	2	1	2	2	1	1	1	1,33
3K	14	13	13	14	13	14	13	12	14	13,33
3K	13	12	13	13	14	13	13	14	13	13,25
3K	14	13	14	14	14	14	14	14	13	13,62
3K	14	14	13	13	14	14	14	14	13	13,67
3P	11	11	10	11	10	10	10	11	10	10,44
3P	12	10	10	11	11	10	11	10	10	10,56
3P	11	10	10	12	10	10	11	10	10	10,44
3P	10	11	11	11	10	11	10	11	11	10,67
5K	8	9	8	8	9	7	8	8	8	8,11
5K	9	9	8	9	9	9	8	8	8	8,40
5K	9	8	8	8	8	9	8	9	8	8,33
5K	8	8	9	8	9	9	8	9	9	8,56
5P	6	7	6	6	7	6	6	8	6	6,56
5P	8	6	6	8	6	6	7	6	6	6,56
5P	8	6	6	7	6	7	8	6	6	6,66
5P	7	6	6	7	6	6	7	6	7	6,63

Lampiran 13. Hasil Analisis Data

Jumlah Makrofag		Statistic	Std. Error	
Kontrol Hari ke-1	Mean		3.1583	.06548
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2.9499	
		Upper Bound	3.3667	
	5% Trimmed Mean		3.1593	
	Median		3.1667	
	Variance		.017	
	Std. Deviation		.13096	
	Minimum		3.00	
	Maximum		3.30	
	Range		.30	
	Interquartile Range		.25	
	Skewness		-.288	1.014
	Kurtosis		-1.568	2.619
Perlakuan Hari ke-1	Mean		1.4458	.04538
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1.3014	
		Upper Bound	1.5903	
	5% Trimmed Mean		1.4460	
	Median		1.4472	
	Variance		.008	
	Std. Deviation		.09076	
	Minimum		1.33	
	Maximum		1.56	
	Range		.22	
	Interquartile Range		.17	
	Skewness		-.092	1.014
	Kurtosis		1.486	2.619
Kontrol Hari ke-3	Mean		13.4675	.10337
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	13.1385	
		Upper Bound	13.7965	
	5% Trimmed Mean		13.4685	
	Median		13.4767	
	Variance		.043	
	Std. Deviation		.20675	

	Minimum		13.25	
	Maximum		13.67	
	Range		.42	
	Interquartile Range		.38	
	Skewness		-.095	1.014
	Kurtosis		-4.968	2.619
Perlakuan Hari ke-3	Mean		10.5267	.05378
	95% Confidence	Lower Bound	10.3555	
	Interval for Mean	Upper Bound	10.6978	
	5% Trimmed Mean		10.5237	
	Median		10.5000	
	Variance		.012	
	Std. Deviation		.10756	
	Minimum		10.44	
	Maximum		10.67	
	Range		.23	
	Interquartile Range		.20	
	Skewness		.836	1.014
	Kurtosis		-1.371	2.619
	Kontrol Hari ke-5	Mean		8.3900
95% Confidence		Lower Bound	8.0496	
Interval for Mean		Upper Bound	8.7304	
5% Trimmed Mean			8.3960	
Median			8.4444	
Variance			.046	
Std. Deviation			.21393	
Minimum			8.11	
Maximum			8.56	
Range			.45	
Interquartile Range			.39	
Skewness			-.846	1.014
Kurtosis			-1.331	2.619
Perlakuan Hari ke-5		Mean		6.5272
	95% Confidence	Lower Bound	6.3077	
	Interval for Mean	Upper Bound	6.7467	
	5% Trimmed Mean		6.5306	

Median		6.5578	
Variance		.019	
Std. Deviation		.13796	
Minimum		6.33	
Maximum		6.66	
Range		.33	
Interquartile Range		.25	
Skewness		-1.242	1.014
Kurtosis		2.380	2.619

13.1 Uji Normalitas Shapiro-Wilk Perhitungan Sel Makrofag

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df.	Sig.	Statistic	Df.	Sig.
Jumlah Makrofag	Kontrol hari ke-1	.187	4	.	.981	4	.908
	Perlakuan hari ke-1	.244	4	.	.955	4	.749
	Kontrol hari ke-3	.270	4	.	.870	4	.298
	Perlakuan hari ke-3	.278	4	.	.875	4	.318
	Kontrol hari ke-5	.280	4	.	.869	4	.295
	Perlakuan hari ke-5	.331	4	.	.889	4	.376

13.2 Uji Homogenitas Levene-Test Perhitungan Sel Makrofag

Test of Homogeneity of Variance			
Jumlah Makrofag			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.137	5	18	.108

13.3 Uji One Way Anova Perhitungan Sel Makrofag

ANOVA

Jumlah Makrofag	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	406.584	5	81.3	3376.4	.000
Within Groups	.434	18	.024		
Total	407.017	23			

13.4 Uji LSD (*Least Significant Different*) Perhitungan Sel Makrofag

Dependent Variable : Jumlah

Sampel Berdasar Kelompok	Sampel Berdasar Kelompok	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Hari ke-1	Perlakuan Hari ke-1	1.71250*	.10973	.000	1.4820	1.9430
	Kontrol Hari ke-1	-	.10973	.000	-	-
	Perlakuan Hari ke-3	-7.36833*	.10973	.000	-7.5989	-7.1378
	Kontrol Hari ke-3	-5.23167*	.10973	.000	-5.4622	-5.0011
	Perlakuan Hari ke-5	-3.36889*	.10973	.000	-3.5994	-3.1383
	Kontrol Hari ke-5	-1.71250*	.10973	.000	-1.9430	-1.4820
Perlakuan Hari ke-1	Perlakuan Hari ke-1	-	.10973	.000	-	-
	Kontrol Hari ke-1	12.02167*	.10973	.000	12.2522	11.7911
	Perlakuan Hari ke-3	-9.08083*	.10973	.000	-9.3114	-8.8503
	Kontrol Hari ke-3	-6.94417*	.10973	.000	-7.1747	-6.7136
	Perlakuan Hari ke-5	-5.08139*	.10973	.000	-5.3119	-4.8508
	Kontrol Hari ke-5	10.30917*	.10973	.000	10.0786	10.5397
Kontrol Hari ke-3	Perlakuan Hari ke-1	12.02167*	.10973	.000	11.7911	12.2522
	Kontrol Hari ke-1	2.94083*	.10973	.000	2.7103	3.1714
	Perlakuan Hari ke-3	5.07750*	.10973	.000	4.8470	5.3080
	Kontrol Hari ke-3	6.94028*	.10973	.000	6.7097	7.1708
	Perlakuan Hari ke-5	7.36833*	.10973	.000	7.1378	7.5989
	Kontrol Hari ke-5	9.08083*	.10973	.000	8.8503	9.3114
Perlakuan Hari ke-3	Perlakuan Hari ke-1	-2.94083*	.10973	.000	-3.1714	-2.7103
	Kontrol Hari ke-1	2.13667*	.10973	.000	1.9061	2.3672
	Perlakuan Hari ke-3	3.99944*	.10973	.000	3.7689	4.2300
	Kontrol Hari ke-3	5.23167*	.10973	.000	5.0011	5.4622
	Perlakuan Hari ke-5	6.94417*	.10973	.000	6.7136	7.1747
	Kontrol Hari ke-5	-5.07750*	.10973	.000	-5.3080	-4.8470
Kontrol Hari ke-5	Perlakuan Hari ke-1	-2.13667*	.10973	.000	-2.3672	-1.9061
	Kontrol Hari ke-1	1.86278*	.10973	.000	1.6322	2.0933
	Perlakuan Hari ke-3	3.36889*	.10973	.000	3.1383	3.5994
	Kontrol Hari ke-3	5.08139*	.10973	.000	4.8508	5.3119
	Perlakuan Hari ke-5	-6.94028*	.10973	.000	-7.1708	-6.7097
	Perlakuan Hari ke-5	-3.99944*	.10973	.000	-4.2300	-3.7689

	Kontrol Hari ke-5	-1.86278*	.10973	.000	-2.0933	-1.6322
Perlakuan Hari ke-5	Perlakuan Hari ke-4	1.71250*	.10973	.000	1.4820	1.9430
		-	.10973	.000	-	-
	Kontrol Hari ke-5	10.30917*			10.5397	10.0786
	Perlakuan Hari ke-7	-7.36833*	.10973	.000	-7.5989	-7.1378
	Kontrol Hari ke-7	-5.23167*	.10973	.000	-5.4622	-5.0011
	Perlakuan Hari ke-9	-3.36889*	.10973	.000	-3.5994	-3.1383
	Kontrol Hari ke-9	-1.71250*	.10973	.000	-1.9430	-1.4820

