



**POTENSI EKSTRAK DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz.)
TERHADAP PENURUNAN JUMLAH SEL RADANG KRONIS PADA
HATI TIKUS MODEL PERIODONTITIS**

SKRIPSI

Oleh

Sofinatur Rohibah

181610101102

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2022



**POTENSI EKSTRAK DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz.)
TERHADAP PENURUNAN JUMLAH SEL RADANG KRONIS PADA
HATI TIKUS MODEL PERIODONTITIS**

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:

Sofinatur Rohibah

181610101102

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

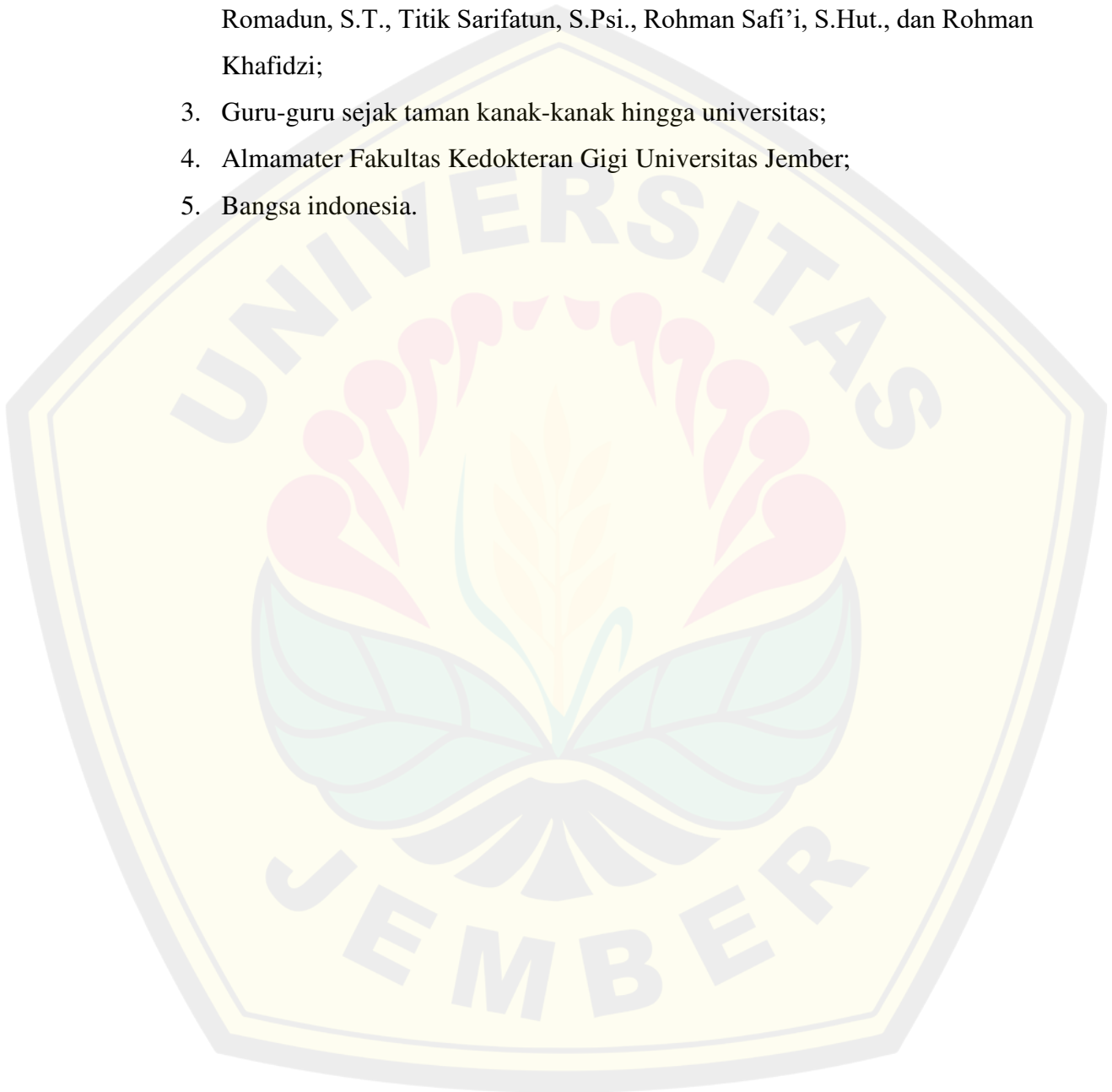
UNIVERSITAS JEMBER

2022

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Alm. Bapak Abdul Rosid dan Ibunda Rochatun;
2. Kakak-kakak saya Murniati, Siti Nur Janah, Wiji Lestari, S.E., Ahmad Romadun, S.T., Titik Sarifatun, S.Psi., Rohman Safi'i, S.Hut., dan Rohman Khafidzi;
3. Guru-guru sejak taman kanak-kanak hingga universitas;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. Bangsa Indonesia.



MOTTO

لَا يُكَلِّفُ اللَّهُ نَفْسًا إِلَّا وُسْعَهَا ۗ لَهَا مَا كَسَبَتْ وَعَلَيْهَا مَا اكْتَسَبَتْ ۗ رَبَّنَا لَا تُؤَاخِذْنَا إِنْ نَسِينَا أَوْ أَخْطَأْنَا ۗ رَبَّنَا وَلَا تَحْمِلْ عَلَيْنَا إصْرًا كَمَا حَمَلْتَهُ عَلَى الَّذِينَ مِنْ قَبْلِنَا ۗ رَبَّنَا وَلَا تُحَمِّلْنَا مَا لَا طَاقَةَ لَنَا بِهِ ۗ وَاعْفُ عَنَّا وَارْحَمْنَا ۗ أَنْتَ مَوْلَانَا فَانصُرْنَا عَلَى الْقَوْمِ الْكَافِرِينَ

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. Dia mendapat (pahala) dari (kebajikan) yang dikerjakannya dan dia mendapat (siksa) dari (kejahatan) yang diperbuatnya. (Mereka berdoa), “Ya Tuhan kami, janganlah Engkau hukum kami jika kami lupa atau kami melakukan kesalahan.

Ya Tuhan kami, janganlah Engkau bebani kami dengan beban yang berat sebagaimana Engkau bebani orang-orang sebelum kami. Ya Tuhan kami, janganlah Engkau pikulkan kepada kami apa yang tidak sanggup kami memikulnya. Maafkanlah kami, ampunilah kami, dan rahmatilah kami. Engkaulah pelindung kami, maka tolonglah kami menghadapi orang-orang kafir”

(Q.S Al Baqarah : 286)*

فَسَتَذْكُرُونَ مَا أَقُولُ لَكُمْ وَأَفَوضُ أَمْرِي إِلَى اللَّهِ إِنَّ اللَّهَ بَصِيرٌ بِالْعِبَادِ

“Maka kelak kamu akan ingat kepada apa yang kukatakan kepadamu. Dan aku menyerahkan urusanku kepada Allah. Sungguh, Allah Maha Melihat akan hamba-hamba-Nya.”

(Q.S Al Mukmin : 44)*

*) Kementerian Agama Republik Indonesia. 2014. *Al Qur'an dan Terjemahan untuk Wanita*. Jakarta: Wali

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Sofinatur Rohibah

NIM : 181610101102

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah dengan judul “Potensi Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) Terhadap Penurunan Jumlah Sel Radang Kronis Pada Hati Tikus Model Periodontitis” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sertakan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya tanpa ada unsur paksaan dan tekanan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika dikemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar.

Jember, 13 April 2022

Yang menyatakan,

Sofinatur Rohibah
NIM. 181610101102

SKRIPSI

**POTENSI EKSTRAK DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz.)
TERHADAP PENURUNAN JUMLAH SEL RADANG KRONIS PADA
HATI TIKUS MODEL PERIODONTITIS**

Oleh:

Sofinatur Rohibah

181610101102

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : drg. Zahara Meilawaty, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Agustin Wulan Suci. D., MDSc

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Potensi Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) Terhadap Penurunan Jumlah Sel Radang Kronis Pada Hati Tikus Model Periodontitis” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Rabu, 13 April 2022

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Utama

Penguji Anggota

drg. Budi Yuwono, M.Kes
NIP. 196709141999031002

drg. Tantin Ermawati, M.Kes
NIP. 198003222008122003

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

drg. Zahara Meilawaty, M.Kes
NIP. 198005272008122002

drg. Agustin Wulan Suci. D., MDSc
NIP. 197908142008122003

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember,

drg. R Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp. Pros.
NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Potensi Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) Terhadap Penurunan Jumlah Sel Radang Kronis Pada Hati Tikus Model Periodontitis; Sofinatur Rohibah; 181610101102; 2022: 81 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Periodontitis merupakan peradangan jaringan pendukung gigi dengan prevalensi yang masih tinggi di Indonesia. Selain itu, periodontitis mempunyai potensi yang besar sebagai pemicu kelainan sistemik. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa periodontitis dapat memicu penyakit jantung koroner, stroke, dan gangguan metabolik. Periodontitis sebagai faktor resiko kelainan sistemik dihubungkan dengan kemampuan penetrasi dan penyebaran bakteri periodontal patogen dan produknya ke sirkulasi sistemik.

Porphyromonas gingivalis (*P. gingivalis*) merupakan salah satu periodontal patogen yang paling sering dikaitkan dengan kelainan sistemik. *P. gingivalis* dan produknya akan menginvasi pembuluh darah jaringan periodontal kemudian beredar dalam sirkulasi sistemik dan mencapai organ-organ lain, salah satunya hati. *P. gingivalis* dan produknya yang terbawa sirkulasi sistemik dan masuk ke hati akan memicu proses inflamasi dan menyebabkan infiltrasi sel radang. Sumber dan jumlah bakteri yang persisten dalam menyebabkan bakteremia serta inflamasi secara terus menerus pada akhirnya mampu menyebabkan cedera hati kronis. Cedera hati kronis yang terus berlanjut dan tanpa penyembuhan dapat mengarah pada kondisi sirosis hati atau hepatoma yang diawali dengan fibrosis hati. Inflamasi hati yang dipicu periodontal patogen perlu dikendalikan terkait hubungannya dengan percepatan cedera hati sehingga perlu dilakukan pencegahan inflamasi sistemik dengan melakukan perawatan periodontitis.

Perawatan periodontitis dapat dilakukan dengan terapi antibiotik dan antiinflamasi. Salah satu tanaman yang memiliki potensi antibakteri dan antiinflamasi adalah daun singkong. Ekstrak daun singkong diketahui dapat memberikan efek antibakteri dan antiinflamasi, sehingga kemungkinan dapat menurunkan jumlah sel radang kronis pada hati tikus model periodontitis.

Jenis penelitian ini adalah penelitian *experimental laboratoris* dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design*. Ekstrak daun singkong dibuat dengan metode maserasi. Tikus model periodontitis diinduksi *P.gingivalis* pada distobukal dan distolingual gigi molar pertama kiri bawah selama 14 hari setiap 3 hari sekali.

Hasil hitung jumlah sel radang kronis, limfosit dan makrofag menunjukkan adanya pola yang sama, yaitu jumlah yang tertinggi terdapat pada kelompok kontrol negatif, sedangkan jumlah terendah terdapat pada kelompok baseline. Jumlah sel radang kronis pada kelompok kontrol positif dan kelompok ekstrak lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Pada kelompok kontrol negatif (periodontitis) jumlah sel radang kronis paling tinggi. Hal ini kemungkinan karena infeksi bakteri *P.gingivalis* sebagai etiologi utama periodontitis telah menyebar melalui peredaran darah sistemik dan mencapai hati sehingga memicu inflamasi dan infiltrasi sel radang di hati. Kelompok baseline (tanpa perlakuan) memiliki jumlah sel radang kronis paling sedikit. Hal ini dikarenakan kelompok baseline tidak terpapar oleh infeksi, selain itu adanya sel radang menunjukkan bahwa dalam keadaan normal sel radang tetap ada sebagai sistem pertahanan tubuh. Kelompok ekstrak daun singkong memiliki jumlah sel radang kronis lebih rendah daripada kelompok kontrol negatif namun lebih tinggi daripada kelompok positif. Hal ini kemungkinan karena ekstrak daun singkong memiliki senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri dan antiinflamasi sehingga mampu menurunkan jumlah sel radang kronis saat terjadi inflamasi. Kelompok kontrol positif memiliki jumlah sel radang kronis paling sedikit diantara kelompok perlakuan. Hal ini kemungkinan karena penggunaan metronidazole secara sistemik selama 7 hari mampu bekerja efektif dalam membunuh bakteri dan meregulasi sistem imun melalui proses inflamasi.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, karunia, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Potensi Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) Terhadap Penurunan Jumlah Sel Radang Kronis Pada Hati Tikus Model Periodontitis”. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan sarjana (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. drg. R. Rahardyan Parnaadji M.Kes.Sp.Pros., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Zahara Meilawaty, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU), dan drg. Agustin Wulan Suci D. MDSc., selaku Dosen Pembimbing Pendamping (DPP) yang telah meluangkan waktunya untuk berbagi ilmu serta memberi bimbingan, arahan, dan motivasi dalam penyusunan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik;
3. drg. Budi Yuwono, M.Kes., selaku Dosen Penguji Ketua, dan drg. Tantin Ermawati, M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota, yang telah meluangkan waktu memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi ini;
4. drg. Zainul Cholid Sp.BM., selaku Dosen Pembimbing Akademik (DPA) yang telah memberikan nasehat dan motivasi;
5. Bu Wahyu, Bu Indri, Mas Agus dan seluruh staff pengajar dan karyawan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah membantu dalam melancarkan penyusunan skripsi;
6. Kedua orangtua: Ayah Alm. Bapak Abdul Rosid dan Ibu Rochatun, yang tidak pernah lepas dalam memberikan doa dan dukungan semangat terbaiknya dalam penyusunan skripsi hingga selesai;
7. Kakak: Murniati, Siti Nur Janah, Wiji Lestari, S.E., Ahmad Romadun, S.T., Titik Sarifatun, S.Psi., Rohman Safi'i, S.Hut., dan Rohman Khafidzi yang telah memberikan doa dan dukungan terbaiknya;

8. Bima Satria Dirgantara sekeluarga, terimakasih selalu menemani dan memberi dukungan dalam proses penyelesaian skripsi ini;
9. Teman-teman satu tim penelitian singkong yang telah berjuang bersama dalam membantu kelancaran penelitian hingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
10. Teman-teman Eldentium FKG angkatan 2018 yang telah memberikan bantuan dan kerja samanya;
11. Semua pihak yang telah mendukung dan memberikan doa dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Jember, 13 April 2022

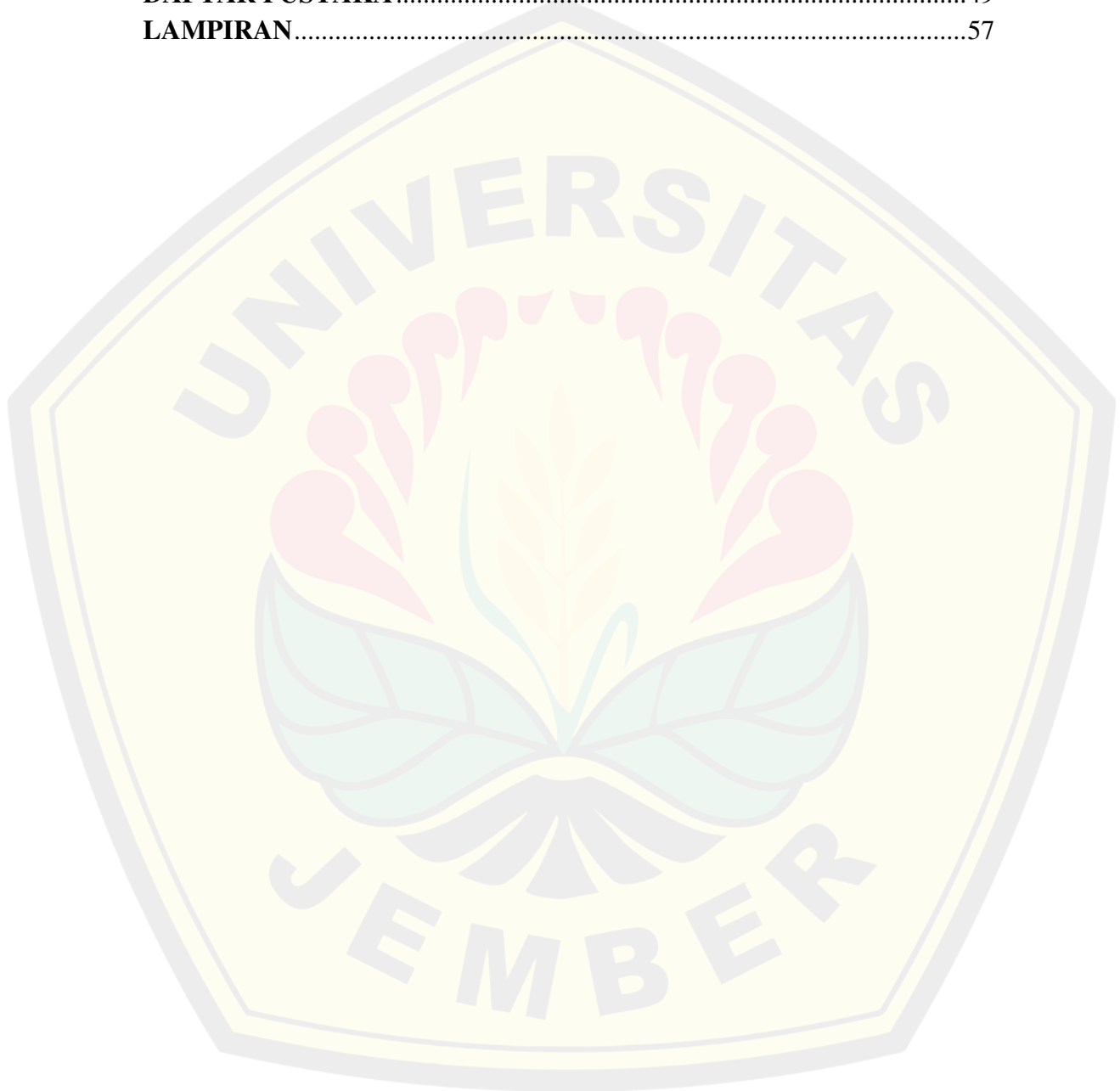
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Singkong	5
2.1.1 Senyawa Kimia Daun Singkong.....	6
2.2 Periodontitis.....	7
2.2.1 Definisi Periodontitis.....	7
2.2.2 Gambaran Klinis Periodontitis	7
2.2.3 Etiologi Periodontitis.....	8
2.2.4 Patogenesis Periodontitis.....	9
2.2.5 Perawatan Periodontitis	9
2.3 Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	10
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	10
2.3.2 Faktor Virulensi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	11
2.4 Hati	12
2.4.1 Anatomi Hati	12
2.4.2 Histologi Hati	13
2.5 Inflamasi Hati oleh <i>Porphyromonas gingivalis</i>	15
2.6 Metronidazole	16
2.7 Sel Radang Kronis	18
2.7.1 Jenis Sel Radang Kronis	18
2.8 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur Wistar.....	20
2.8.1 Klasifikasi dan Morfologi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	20
2.8.2 Hati Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	21
2.9 Kerangka Konsep.....	23

2.10 Hipotesis	25
BAB 3. METODE PENELITIAN	26
3.1 Jenis Penelitian	26
3.2 Rancangan Penelitian.....	26
3.3 Tempat Penelitian	26
3.4 Waktu Penelitian.....	26
3.5 Identifikasi Variabel Operasional	27
3.5.1 Variabel Bebas.....	27
3.5.2 Variabel Terikat.....	27
3.5.3 Variabel Terkendali	27
3.6 Definisi Operasional Penelitian	27
3.6.1 Ekstrak Daun Singkong	27
3.6.2 Metronidazole	28
3.6.3 Model Tikus Periodontitis	28
3.6.4 Jaringan Hati.....	28
3.6.5 Jenis Sel Radang Kronis	28
3.6.6 Jumlah Sel Radang Kronis	28
3.7 Populasi dan Sampel.....	29
3.7.1 Populasi Penelitian	29
3.7.2 Kriteria Sampel.....	29
3.7.3 Besar Sampel Penelitian	29
3.8 Alat dan Bahan Penelitian	30
3.8.1 Alat Penelitian	30
3.8.2 Bahan Penelitian	31
3.9 Prosedur Penelitian	31
3.9.1 Ethical Clearence	31
3.9.2 Persiapan Hewan Coba.....	31
3.9.3 Pembagian Kelompok Perlakuan	31
3.9.4 Pembuatan Suspensi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	32
3.9.5 Pembuatan Model Tikus Periodontitis	32
3.9.6 Pembuatan Ekstrak Daun Singkog	32
3.9.7 Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Singkong	33
3.9.8 Pemberian Metronidazole.....	34
3.9.9 Euthanasia.....	35
3.9.10 Pengambilan Jaringan Hati	36
3.9.11 Pemotongan Spesimen.....	36
3.9.12 Pembuatan Sediaan Histologis	36
3.10 Analisis Data.....	38
3.11 Alur Penelitian	39
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	40

4.1 Hasil Penelitian	40
4.1.1 Analisis Data	42
4.2 Pembahasan	44
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN.....	57



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Singkong.....	5
Gambar 2.2 Gambaran Klinis Periodontitis Kronis	8
Gambar 2.3 Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	11
Gambar 2.4 Anatomi Hati Manusia	13
Gambar 2.5 Histologi Hati Normal.....	14
Gambar 2.6 Zona Lobulus Hati.....	14
Gambar 2.7 Histopatologi Hati Tikus Putih.....	16
Gambar 2.8 Sel Monosit dan Makrofag.....	18
Gambar 2.9 Sel Limfosit.....	19
Gambar 2.10 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur Wistar	21
Gambar 2.11 Anatomi Hati Tikus.....	21
Gambar 2.12 Lobus Hati Tikus.....	22
Gambar 2.13 Skema Kerangka Konsep	23
Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian.....	39
Gambar 4.1 Gambaran Histologis Jaringan Hati Tikus Model.....	40
Gambar 4.2 Diagram Batang Hasil Penelitian	41

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Tabel Konversi Dosis.....	34
Tabel 4.1 Jumlah dan Jenis Sel Radang Kronis	42
Tabel 4.2 Hasil Uji LSD Data Jumlah Sel Radang Kronis	43
Tabel 4.3 Hasil Uji LSD Data Jumlah Limfosit.....	44



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Periodontitis merupakan peradangan jaringan pendukung gigi dengan prevalensi yang masih tinggi di Indonesia (Surya *et al.*, 2019). Data Riskesdas 2018 menunjukkan persentase periodontitis di Indonesia adalah 74,1%, yang berarti 7 dari 10 orang di Indonesia menderita periodontitis (Kemenkes, 2018). Angka kejadian periodontitis di Indonesia yang masih tinggi ini perlu mendapat perhatian. Selain itu, periodontitis mempunyai potensi yang besar sebagai pemicu kelainan sistemik (Santoso, 2019).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa periodontitis dapat memicu penyakit jantung koroner, stroke, dan gangguan metabolik (Alfakry *et al.*, 2016; Fagundes *et al.*, 2019; Han *et al.*, 2012). Periodontitis sebagai faktor resiko kelainan sistemik dihubungkan dengan kemampuan penetrasi dan penyebaran bakteri periodontal patogen dan produknya ke sirkulasi sistemik. Bakteri dan komponennya tersebut memicu inflamasi, dan bahkan injuri ke organ lain (Susilawati, 2015).

Porphyromonas gingivalis (*P. gingivalis*) merupakan salah satu periodontal patogen yang paling sering dikaitkan dengan kelainan sistemik (Souliissa, 2015). *P. gingivalis* ditemukan pada sampel plak subgingiva sebanyak 85,75% dari penderita periodontitis (How *et al.*, 2016). *P. gingivalis* memiliki faktor virulensi berupa fimbriae, gingipain, dan lipopolisakarida (LPS) yang memudahkan bakteri lolos dari respon imun serta masuk ke dalam sirkulasi darah dan menyebabkan bakteremia (Putri *et al.*, 2020). *P. gingivalis* dan produknya akan menginvasi pembuluh darah jaringan periodontal dan menyebabkan kerusakan sel endotel. Bakteri beserta produknya yang masuk ke dalam pembuluh darah jaringan periodontal kemudian beredar dalam sirkulasi sistemik dan mencapai organ-organ lain (Nafilah *et al.*, 2015). Bakteri dalam sirkulasi sistemik akan masuk ke dalam organ tubuh, salah satunya hati (Nurmansyah, 2020).

P. gingivalis dan produknya yang terbawa sirkulasi sistemik dan masuk ke hati akan memicu proses inflamasi dan menyebabkan infiltrasi sel radang yang

berperan dalam eliminasi jejas awal. Inflamasi dapat berlanjut menjadi kronis apabila proses eliminasi mengalami kegagalan. Inflamasi kronis ditandai dengan adanya infiltrasi sel radang kronis berupa makrofag dan limfosit (Susilahati, 2016). Sumber dan jumlah bakteri yang persisten dalam menyebabkan bakteremia serta inflamasi secara terus menerus pada akhirnya mampu menyebabkan cedera hati kronis (Han *et al.*, 2016). Cedera hati kronis yang terus berlanjut dan tanpa penyembuhan dapat mengarah pada kondisi sirosis hati atau hepatoma yang diawali dengan fibrosis hati (Wira *et al.*, 2018). Cedera hati akan berdampak pada gangguan detoksifikasi toksin dan metabolisme tubuh. Hal ini terkait dengan fungsi hati sebagai pertahanan tubuh paling utama dalam pembersihan zat toksin serta fungsi kompleks dalam proses metabolisme. (Murti *et al.*, 2016). Oleh karena itu, inflamasi hati yang dipicu periodontal patogen perlu dikendalikan terkait hubungannya dengan percepatan cedera hati (Grønkjær, 2015). Adanya potensi periodontitis sebagai faktor resiko dari perkembangan dan progresitas cedera hati, maka perlu dilakukan pencegahan inflamasi sistemik dengan melakukan perawatan periodontitis.

Perawatan periodontitis dilakukan dengan terapi mekanis *scaling root planning* (SRP) dan kombinasi antibiotik lokal maupun sistemik (Abdulkareem, 2018). Antibiotik sistemik yang umum digunakan yaitu tetrasiklin dan metronidazole, namun bakteri periodontal dapat menjadi resisten terhadap tetrasiklin karena mampu memproduksi *tetracycline-inactivating enzymes* (Soares *et al.*, 2012). Selain itu, antibiotik golongan tetrasiklin menimbulkan efek teratogenik (Santoso, 2018). Sejauh ini metronidazole merupakan *drug of choice* untuk terapi periodontitis (Soares *et al.*, 2012). Metronidazole memberikan efek antibakteri pada semua kokus anaerob dan basil Gram negatif anaerob dengan melakukan penghambatan sintesis asam nukleat bakteri. Pemberian metronidazole efektif terhadap *P. gingivalis*, namun memiliki efek samping seperti mual, mulut kering, gangguan pencernaan dan rasa logam di mulut (Kapoor *et al.*, 2012). Oleh karena itu, diperlukan solusi alternatif lain untuk menghindari adanya efek samping dari obat tersebut.

Salah satu alternatif untuk mengurangi efek samping dari obat sistemik adalah dengan pemanfaatan tanaman. Salah satu tanaman yang dapat digunakan adalah daun singkong. Daun singkong memiliki banyak kandungan senyawa berupa tannin, saponin, dan flavonoid yang dapat berperan sebagai antibakteri dan antiinflamasi (Mutia *et al.*, 2017). Flavonoid merupakan golongan senyawa fenolik yang memberikan efek antibakteri dengan merusak membran sel, mengganggu permeabilitas dan metabolisme sel. Flavonoid juga memberikan efek antiinflamasi melalui penghambatan pembentukan stikoin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, IL-1 β dan interferon- γ (Fitri, 2021). Saponin memiliki peran sebagai antiinflamasi melalui mekanisme pemblokiran prostaglandin (Rachman *et al.*, 2016). Saponin juga memberikan efek antibakteri dengan cara meminimalisir kontaminasi bakteri sehingga mempercepat proses penyembuhan luka. Tannin merupakan senyawa kompleks polifenol yang memberi efek antioksidan melalui pemberian elektron senyawanya kepada radikal bebas dalam tubuh sehingga mencegah timbulnya stress oksidatif (Meilawaty, 2013). Potensi ekstrak daun singkong dalam pencegahan kerusakan jaringan dapat diukur dengan melihat jumlah sel radang pada jaringan yang terinflamasi. Penelitian terdahulu oleh Sari., *et al* (2020) menunjukkan bahwa ekstrak daun singkong dengan dosis 179,2 mg/kgBB tikus memberikan efek antibakteri dan antiinflamasi yang mampu menurunkan profil leukosit darah tepi model tikus disfungsi ovarium dan periodontitis, sehingga peneliti menggunakan dosis yang sama pada penelitian ini. Sampai saat ini, potensi ekstrak daun singkong dalam menurunkan jumlah sel radang kronis di jaringan hati pada model tikus periodontitis masih belum diketahui.

1.2 Rumusan Masalah

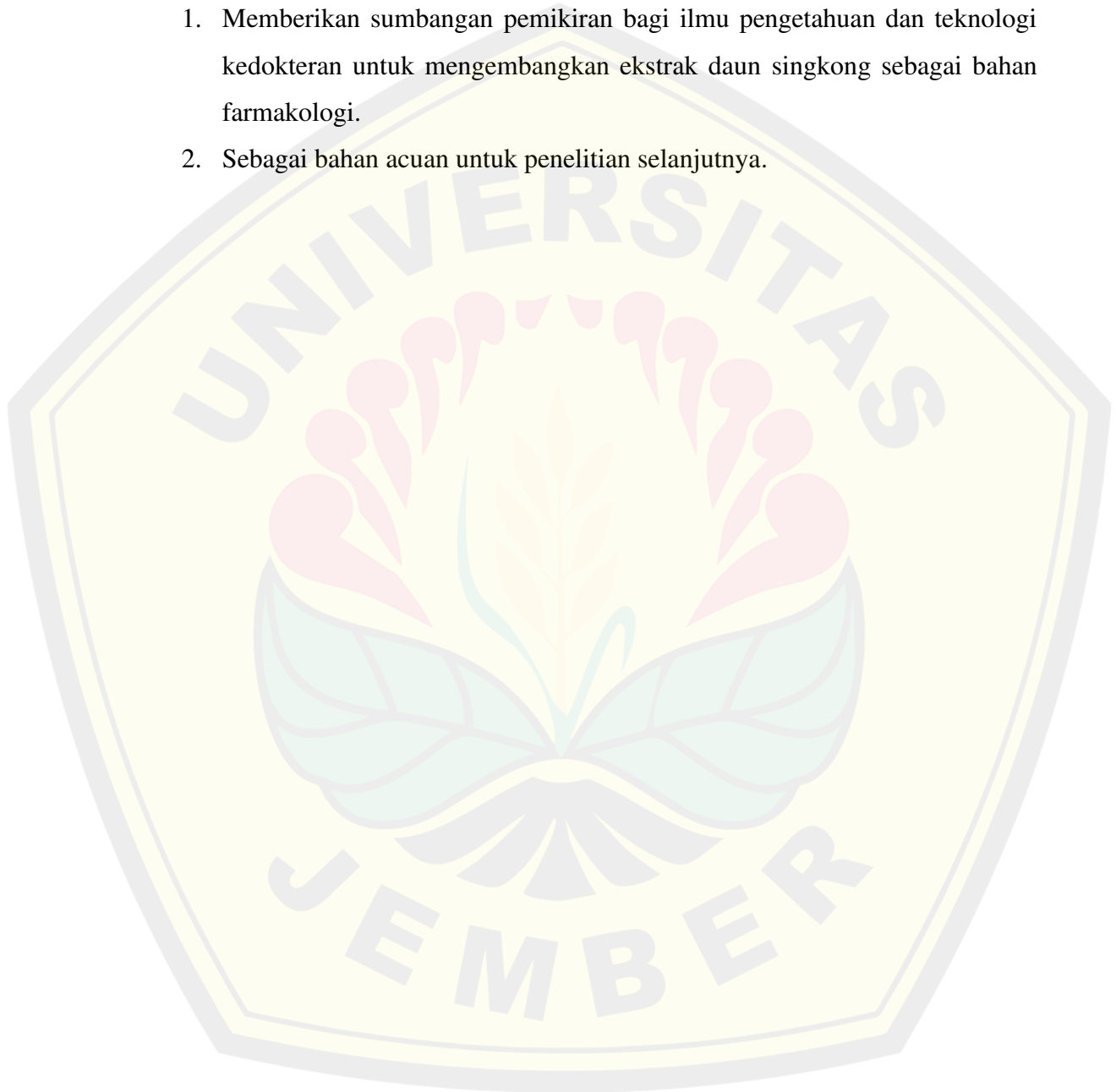
Berdasarkan uraian pada latar belakang, diketahui rumusan masalah pada penelitian ini yaitu apakah pemberian ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta Crantz*) berpotensi dalam penurunan jumlah sel radang kronis pada hati tikus model periodontitis?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta Crantz.*) dalam menurunkan jumlah sel radang kronis pada hati tikus model periodontitis.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan sumbangan pemikiran bagi ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran untuk mengembangkan ekstrak daun singkong sebagai bahan farmakologi.
2. Sebagai bahan acuan untuk penelitian selanjutnya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Singkong

Tanaman singkong (Gambar 2.1) tumbuh di daerah dataran tinggi maupun dataran rendah dengan ketinggian sekitar 10 m – 1.500 m di atas permukaan air laut (dpl) (Budianto, 2018). Taksonomi tanaman singkong adalah sebagai berikut (Thamrin *et al.*, 2015):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyte
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Euphorbiales
Family	: Euphorbiaceae
Genus	: Manihot
Spesies	: <i>Manihot esculenta</i> Crantz



Gambar 2.1 Tanaman singkong
(sumber: Putra *et al.*, 2019)

Bagian daun singkong terbagi menjadi tiga, yaitu helai daun, tulang daun dan tangkai daun. Daun singkong digolongkan sebagai daun tunggal karena setiap tangkai daun singkong memiliki satu helai daun. Bentuk daun singkong adalah menjari, jumlah daun berkisar 3-9 lembar dalam setiap tangkai dengan ukuran tangkai 10-20 cm. Warna dari setiap helai daun, tulang daun dan tangkai daun

sangat bervariasi. Helai daun dapat berwarna hijau gelap hingga muda, hijau keunguan dan kuning. Tulang daun dapat berwarna hijau atau ungu. Sedangkan tangkai daun dapat berwarna merah, hijau, ungu, atau kuning (Taufiq *et al.*, 2016)

Batang singkong memiliki karakteristik beruas-ruas dan panjang dengan ketinggian mencapai 3 m atau lebih. Batang singkong mengandung empulur yang berwarna putih, bertekstur lunak dan empuk seperti gabus. Warna batang bervariasi, namun batang tanaman singkong muda umumnya berwarna hijau dan setelah tua akan menjadi keputih-putihan, kelabu, hijau kelabu, atau coklat kelabu (Thamrin *et al.*, 2015).

2.1.1 Senyawa Kimia Daun Singkong

Daun singkong mengandung protein sekitar 23,3%, vitamin A 3.300 RE/100gram, vitamin C 275 mg/100gram, serat, kalsium, fosfor, lemak, mineral, hidrat arang, dan zat besi. Senyawa utama yang terdapat dalam daun singkong yaitu flavonoid dengan kisaran mencapai 881,33 mgRE/g (*Miligram Rutin Equivalen per gram*) (Dewi, 2014). Daun singkong juga memiliki beberapa senyawa lain diantaranya triterpenoid, tannin dan saponin (Hasim *et al.*, 2016).

Flavonoid adalah kelompok senyawa fenolik yang memberikan efek antiinflamasi melalui penghambatan pembentukan stikoin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, IL-1 β dan interferon- γ . Efek lain yang diberikan dari senyawa flavonoid diantaranya adalah antioksidatif, antimutagenik, dan antikarsinogenik (Fitri, 2021). Flavonoid menghambat kerusakan DNA dan menstimulasi terbentuknya antioksidan enzimatis berupa SOD, katalase, dan glutathion peroksidase, dan meningkatkan efektifitas vitamin C (Senet, 2018). Efek antioksidan yang berperan dalam mekanisme penghambatan reaksi oksidasi dapat mencegah terjadinya cedera hati. Antioksidan melindungi hati dari kerusakan dengan cara mencegah radikal bebas (Silvani, 2019).

Tannin merupakan golongan senyawa polifenol yang memberikan efek antioksidan melalui mekanisme pemberian elektron senyawanya kepada radikal bebas dalam tubuh sehingga mencegah timbulnya stress oksidatif yang berdampak pada kerusakan membran sel dan penurunan pelepasan mediator inflamasi.

Saponin memberikan efek antibakteri dengan cara meminimalisir kontaminasi bakteri sehingga mempercepat proses penyembuhan luka. Saponin berperan pula sebagai antiinflamasi melalui mekanisme pemblokiran prostaglandin (Meilawaty, 2013).

Kandungan vitamin C dalam daun singkong memberikan efek antioksidan. Aktivitas antioksidan vitamin C bekerja dengan cara memberikan elektronnya kepada radikal bebas sehingga menghambat kerusakan oksidatif terhadap molekul target. Vitamin C juga membantu mempercepat penyembuhan luka dengan mengaktifkan prolin dan lisin hidrosilase dalam pembentukan kolagen sehingga terjadi hidrosilasi prokolagen (Pakaya, 2016).

2.2 Periodontitis

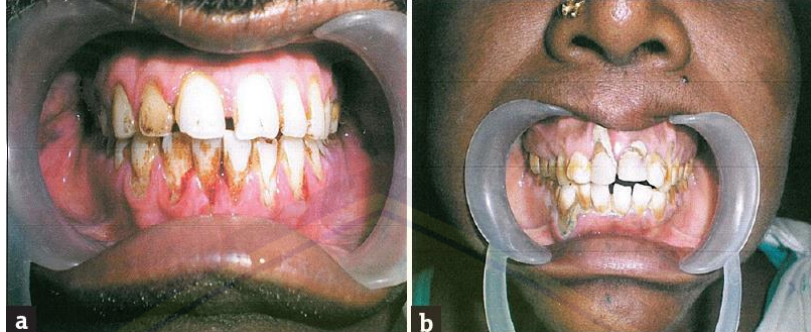
2.2.1 Definisi Periodontitis

Periodontitis merupakan peradangan kronis akibat bakteri plak dan kalkulus yang terjadi pada jaringan periodontal sebagai kelanjutan dari gingivitis yang tidak dilakukan perawatan (Kinane *et al.*, 2017). Periodontitis menyebabkan kerusakan yang progresif pada jaringan pendukung gigi seperti ligamen periodontal, tulang alveolar, dan pembentukan poket. Periodontitis dikarakteristikan dengan adanya inflamasi kronis, migrasi *junctional epithelium* ke apikal, kehilangan jaringan ikat, dan kehilangan tulang alveolar (Quamilla, 2016).

2.2.2 Gambaran Klinis Periodontitis

Secara klinis periodontitis ditandai dengan adanya perubahan warna gingiva menjadi merah terang yang disertai pembengkakan margin. Terjadi perdarahan ketika probing dengan kedalaman mencapai ≥ 4 mm yang disebabkan oleh adanya migrasi *junctional epithelium* ke apikal. Terjadi kegoyangan pada gigi geligi dan kehilangan tulang alveolar (Quamilla, 2016). Umumnya, kerusakan pada jaringan periodontal dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu plak gigi, respon pertahanan host, dan faktor risiko yang berhubungan dengan periodontitis. Gambaran klinis dari periodontitis kronis (Gambar 2.2) diantaranya kemerahan, perubahan tekstur dan terjadi pembengkakan margin gingiva, adanya *bleeding on probing* (BOP), penambahan kedalaman poket periodontal, kerusakan jaringan ligamen periodontal

dan tulang alveolar, adanya resesi gingiva, peningkatan mobilitas dan avulsi gigi geligi yang kemudian dapat menyebabkan kehilangan gigi. (Kinane *et al.*, 2017).



Gambar 2.2 Gambaran Klinis Periodontitis Kronis.
(Sumber: Kathiresan *et al.*, 2017).

2.2.3 Etiologi Periodontitis

Etiologi dari penyakit periodontal terbagi menjadi dua, yaitu etiologi primer dan etiologi sekunder. Etiologi primer adalah etiologi utama yang menyebabkan penyakit periodontal berupa plak/bakteri. Etiologi sekunder atau faktor predisposisi merupakan faktor yang memudahkan terjadinya penyakit periodontal. Etiologi sekunder dibedakan menjadi dua yaitu etiologi sekunder lokal dan etiologi sekunder sistemik. Etiologi sekunder lokal adalah faktor yang memudahkan retensi atau akumulasi plak, contohnya kalkulus dan faktor iatrogenik. Etiologi sekunder sistemik yaitu faktor yang mempengaruhi respon tubuh host terhadap plak, contohnya penyakit sistemik (Pujiastuti, 2015).

Plak mengandung berbagai jenis mikroorganisme, khususnya bakteri, dan sisanya berupa jamur, protozoa dan virus. Mikroorganisme patogenik yang terkandung dalam plak berperan penting dalam menyebabkan dan memperparah infeksi periodontal. Inisiasi infeksi periodontal disebabkan oleh peningkatan jumlah organisme Gram negatif didalam plak subgingiva seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* dan *Treponema denticola*. Selain adanya plak gigi, terdapat berbagai faktor yang mempengaruhi terjadinya periodontitis. *Host* memiliki suatu faktor kerentanan yang sangat berperan dalam proses terjadinya periodontitis. Faktor kerentanan tersebut meliputi genetik, pengaruh lingkungan, dan faktor dari tingkah laku *host* seperti merokok, stress, dan diabetes. Respon tubuh *host* yang tidak adekuat

terhadap penghancuran bakteri dapat menyebabkan destruksi jaringan periodontal (Quamilla, 2016).

2.2.4 Patogenesis Periodontitis

Kejadian periodontitis diawali oleh inflamasi pada gingiva (gingivitis) sebagai bentuk respon jaringan *host* terhadap serangan bakteri. Mikroorganisme dalam plak akan mengaktifkan respon imun terhadap patogen jaringan periodontal dan berbagai endotoksin dengan memberikan sinyal kepada neutrofil, makrofag, dan limfosit. Sel imun kemudian berinfiltrasi ke sulkus gingiva untuk menjaga jaringan *host* dan mengontrol perkembangan bakteri.

Stimulasi dari makrofag akan menghasilkan sitokin *matrix metalloproteinases* (MMPs) dan prostaglandin E2 (PGE2). Peningkatan konsentrasi dari MMPs di jaringan akan memediasi destruksi jaringan sel gingiva, perlekatan serat kolagen pada *junctional epithelium* dan ligamen periodontal. Sedangkan PGE2 berperan dalam memediasi destruksi tulang dan menyebabkan stimulasi osteoklas dalam jumlah besar yang berakibat pada resorpsi puncak tulang alveolar. Kehilangan kolagen berakibat pada hilangnya perlekatan *junctional epithelium* sehingga epitel bergerak ke arah apikal dan terjadi perubahan poket gingiva menjadi poket periodontal (Quamilla, 2016).

2.2.5 Perawatan Periodontitis

Secara garis besar, penatalaksanaan penyakit periodontal terdiri atas empat fase, diantaranya adalah fase sistemik, fase higienik, fase koreksi, dan fase penunjang /suportif. Fase sistemik adalah penatalaksanaan yang berkaitan dengan keadaan sistemik penderita yang memiliki potensi dalam mempengaruhi atau menyebabkan penyakit periodontal yang juga berdampak pada rencana perawatan. Fokus perawatan fase sistemik adalah pada masalah infeksi yang terus terjadi, sehingga diperlukan pemberian antibiotik dan antiseptik. Fase higienik adalah penatalaksanaan dengan menghilangkan faktor penyebab timbulnya penyakit periodontal berupa plak dan kalkulus dengan melakukan *scaling* dan *root planning* (SRP). Fase higienik berfokus pada pemulihan kebersihan gigi dan mulut secara optimal, oleh karena itu, selain dilakukan SRP pasien juga diberi intruksi untuk menjaga dan membersihkan mulutnya dengan benar. Fase koreksi adalah

penatalaksanaan perbaikan kerusakan akibat penyakit periodontal dengan melakukan penyesuaian oklusi dan tindakan bedah periodontal seperti gingivektomi dan kuretase (Tedjasulaksana, 2016). Fase penunjang /suportif bertujuan untuk mencegah rekurensi penyakit periodontal. Fase ini terdiri dari kunjungan berkala, kontrol plak dan kalkulus, pemeriksaan kondisi gingingiva, oklusi dan mobilitas gigi, serta perubahan patologis lainnya.

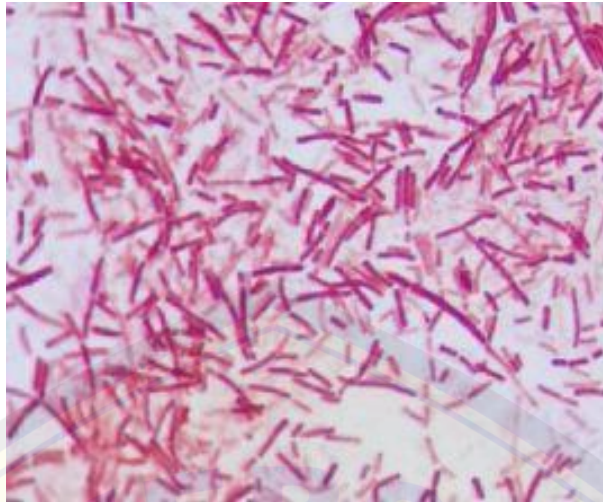
2.3 Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis tergolong sebagai etiologi utama penyebab periodontitis yang ditemukan pada sampel plak subgingiva sebanyak 85,75% dari penderita periodontitis. Bakteri Gram negatif ini merupakan obligat anaerob yang membentuk koloni berpigmen hitam pada *blood agar plates*. Sulkus gingiva merupakan tempat *P. gingivalis* dengan bergantung pada fermentasi asam amino untuk produksi energinya (How *et al.*, 2016). Secara mikroskopis gambaran *P. gingivalis* dapat dilihat pada gambar 2.3.

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* memiliki taksonomi dibawah ini:

Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Bacterioedetes
Kelas	: Bacterioedes
Ordo	: Bacteriodales
Familia	: Porphyromonadaceae
Genus	: Porphyromonas
Spesies	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>



Gambar 2.3 Bakteri *Porphyromonas gingivalis*
(Sumber: Fitriyana, 2013).

P. gingivalis adalah salah satu bakteri kelompok anaerob Gram negatif yang tidak memiliki spora, tidak mempunyai alat gerak, memiliki pigmen hitam kecoklatan, tumbuh pada media kultur dengan berkoloni, serta terlihat halus dan mengkilat dengan ukuran diameter sekitar 1-2 mm (Septiyani, 2019).

2.3.2 Faktor Virulensi *Porphyromonas gingivalis*

Faktor virulensi diartikan sebagai suatu metabolit bakteri yang berguna dalam siklus hidupnya. Faktor virulensi dikeluarkan ketika bakteri melakukan penetrasi terhadap *host* yang akan memudahkan bakteri berinvasi dan menyebabkan kerusakan jaringan *host* (How *et al.*, 2016). Faktor virulensi dari *P. gingivalis* secara umum dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan perannya. Kelompok pertama berupa adhesin, kapsul, LPS dan sejenisnya yang berperan dalam meningkatkan kolonisasi dan invasi bakteri. Kelompok kedua berupa endotoksin, enzim kolagenase, enzim proteolitik dan sejenisnya yang bersifat menyebabkan destruksi sel *host* (Pratiwi, 2015).

P. gingivalis memiliki faktor virulensi berupa fimbriae, gingipain, dan LPS yang memudahkan bakteri lolos dari respon imun dan masuk ke dalam sirkulasi darah yang pada akhirnya menyebabkan bakteremia (Putri *et al.*, 2020). Beberapa faktor virulensi dari *P. gingivalis* akan berperan secara langsung dalam proses kolonisasi, modulasi respon imun *host*, dan destruksi jaringan yang mengarah pada kejadian periodontitis. Kapsul *P. gingivalis* sebagai faktor virulensi menyebabkan

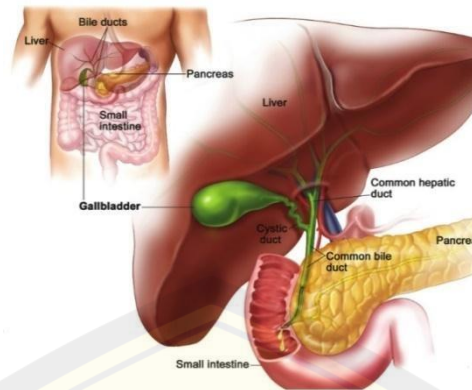
penekanan imun *host* dalam mekanisme fagositosis. Fimbrae dari *P. gingivalis* akan memfasilitasi proses adhesi dan invasi bakteri terhadap *host* sehingga menginisiasi kerusakan jaringan periodontal. Lipopolisakarida dari *P. gingivalis* menyebabkan gangguan distribusi sel imun disekitar kolonisasi bakteri sehingga bakteri mampu bertahan hidup dalam jaringan *host*. Gingipain dari *P. gingivalis* menyebabkan penekanan sitokin inflamasi melalui mekanisme manipulasi sistem komplemen dan gangguan respon sel T. (Septiwidyawati, 2020).

2.4 Hati

2.4.1 Anatomi Hati

Hati merupakan organ kelenjar yang terletak pada abdomen kuadran kanan atas, menyatu dengan saluran bilier dan kandung empedu. Hati memiliki berat sekitar 1200-1500 gram. Suplai darah hati berasal dari peredaran sistemik arteri hepatica dan sistem porta yang mengandung zat makanan yang diabsorpsi usus. Hati merupakan salah satu organ yang sangat penting karena sensitifitasnya dalam mendeteksi senyawa toksik dalam tubuh. Hati berfungsi dalam metabolisme glukosa dan lipid, membantu dalam proses pencernaan makanan, absorpsi lemak dan vitamin larut lemak, serta detoksifikasi zat toksik yang berada dalam tubuh (Rosida, 2016). Proses detoksifikasi zat toksik maupun obat-obatan dilakukan melalui mekanisme oksidasi, metilasi dan konjugasi. Oleh karena penting dan banyaknya fungsi hati, apabila terjadi kerusakan atau gangguan pada hati, maka akan berdampak pada fungsi jaringan tubuh lainnya (Fitmawati, 2018).

Hati terletak di sebelah atas rongga abdomen dan tepat dibawah diafragma (Mescher, 2013). Hati dilapisi simpai tipis jaringan ikat (kapsula *Glisson*) yang menebal di hilum, yaitu tempat keluar pembuluh limfe serta tempat vena porta dan arteri hepatica masuk ke hati dan duktus hepaticus dextra dan sinistra. Anatomi hati manusia (gambar 2.4) sisi cranial berbentuk cembung dan bersentuhan dengan otot diafragma, sedangkan sisi visceral berbentuk cekung dan bersentuhan dengan abdomen dari duodenum (Bredo, 2011).



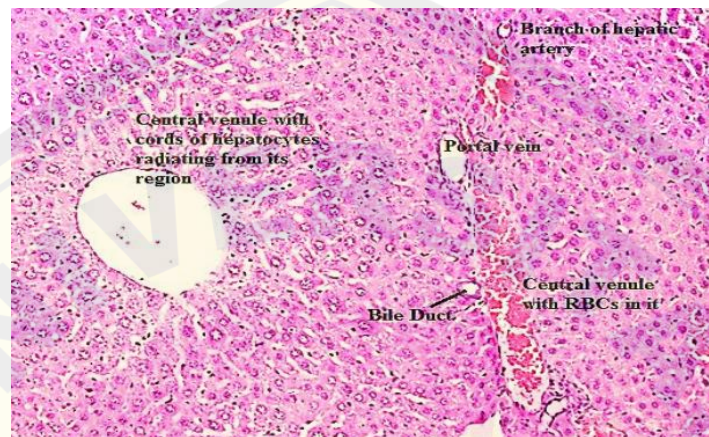
Gambar 2.4 Anatomi Hati Manusia
(Sumber: Vebrianto dan Zarkasi, 2018).

2.4.2 Histologi Hati

Hati tersusun atas lobulus-lobulus yang utamanya terdiri dari sel hepatosit, saluran sinusoid yang dikelilingi endotel vaskuler dan sel kupffer yang merupakan bagian dari sistem retikuloendotelial (Rosida, 2016). Struktur terbesar penyusun hati adalah sel hati yang dinamakan hepatosit. Hepatosit memiliki diameter 20-10 μm dengan bentuk poligonal. Pewarnaan HE pada hepatosit memperlihatkan sitoplasma sel berwarna eosinofilik dengan inti sel bulat. Hepatosit tersusun radier membentuk lapisan sebanyak 1-2 sel yang menyerupai susunan bata dan mengarah dari daerah tepi lobulus menuju pusat, kemudian bersatu (anastomosis) secara bebas membentuk susunan labirin. Diantara lempeng hepatosit terdapat celah yang berisi pembuluh kapiler, disebut sinusoid (Mescher, 2013).

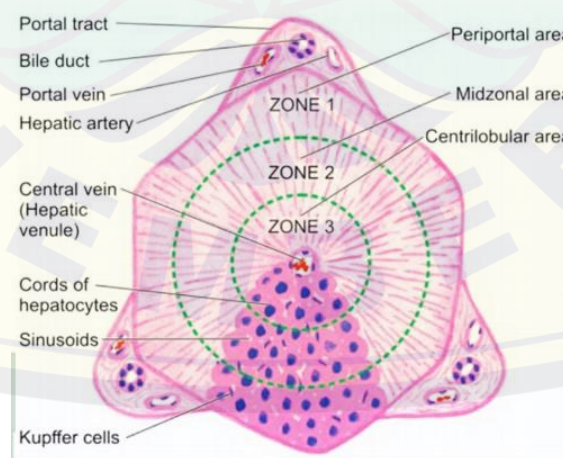
Sinusoid atau pembuluh kapiler pada hati terletak pada celah diantara lempeng-lempeng hepatosit. Sel endotel pada dinding sinusoid memiliki inti berbentuk pipih dengan warna gelap dan tersusun secara diskontinyu. Didalam lumen sinusoid terdapat sel kupffer, yaitu sel stellata khusus dengan inti berbentuk ovoid yang berfungsi sebagai makrofag. Peran dari sel kupffer diantaranya adalah menahan partikel atau patogen yang akan masuk kedalam jaringan, merombak eritrosit yang sudah tua, dan membebaskan heme agar bisa digunakan kembali. Terdapat pula sel stellata khusus penimbun lemak yang disebut sel ito yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan vitamin A serta produksi matriks ekstraseluler dan kolagen. Suplai darah pada sinusoid dibawa dari cabang terminal

vena porta dan arteri hepatikus. Darah yang dibawa menuju hati mengandung nutrisi dari saluran pencernaan dan oksigen dari jantung. Traktus portal berada di sudut-sudut heksagonal dan tersusun oleh tiga struktur yaitu venula porta terminal sebagai struktur yang paling besar, srteriola, dan duktus biliaris. Aliran darah dari vena porta dan arteri hepatikus dibawa menuju vena sentral (Mescher, 2013, Rogers and Dintzis, 2012). Secara histologis struktur hati dapat dilihat pada gambar 2.5.



Gambar 2.5 Histologi Hati Normal Perbesaran 20x
(Sumber: Khan *et al.*, 2019).

Lobulus hati dibagi atas tiga daerah (Gambar 2.6), yaitu centrilobular (daerah 3), midzonal (daerah 2), dan periportal (daerah 1). Daerah centrilobular atau perivenular terletak disekitar vena sentral, daerah midzonal adalah area pertengahan, dan daerah periportal terletak disekitar saluran portal (Kietzmann, 2017).



Gambar 2.6 Zona Lobulus Hati
(Sumber: Mohan, 2010).

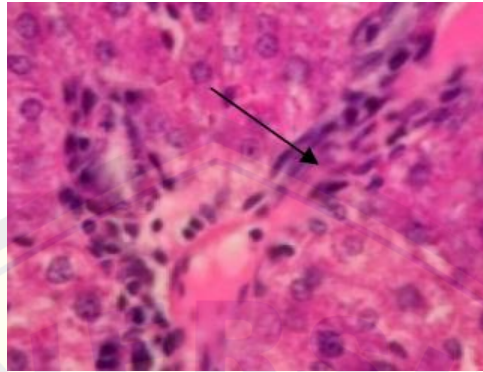
2.5 Inflamasi Hati oleh *Porphyromonas gingivalis*

Kerusakan hati dapat disebabkan dari adanya respon peradangan termasuk sinyal inflamasi dan sitokin. Inflamasi atau peradangan merupakan suatu respon sistem imun tubuh terhadap sinyal berbahaya seperti patogen, sel yang telah rusak, senyawa toksik, atau radiasi. Proses inflamasi merupakan mekanisme pertahanan tubuh dengan membentuk sitokin ataupun mediator proinflamasi. Namun aktivitas yang berlebihan dari sel imun pada proses peradangan akan menyebabkan efek imunopatologis pada jaringan disekitarnya (Bare *et al.*, 2019).

P. gingivalis memiliki berbagai faktor virulensi seperti fimbriae, gingipain dan LPS yang memudahkan bakteri lolos dari respon imun dan mampu merusak endotelial pembuluh darah jaringan periodontal sehingga menyebabkan bakteremia (Putri *et al.*, 2020). *P. gingivalis* akan menyerang sel endotel pembuluh darah (sel endotel teraktivasi) dan menyebabkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel terjadi karena penempelan monosit pada endotel yang diperantarai molekul adhesi pada permukaan sel. Molekul adhesi diatur oleh beberapa produk bakteri berupa LPS, prostaglandin, dan sitokin proinflamasi. Kerusakan sel endotel menyebabkan bakteri masuk kedalam pembuluh darah dan beredar dalam sirkulasi seluruh tubuh dan mencapai organ-organ lain, salah satunya adalah organ hati (Nafilah *et al.*, 2015). Kehadiran LPS di hati dapat terbawa melalui peredaran darah yang 70% disuplai melalui vena porta (Mei *et al.*, 2020).

Di hati, bakteri dan produknya akan memicu proses inflamasi, menyebabkan dilatasi dan kerusakan pada sel endotel sehingga vena sentralis dan sinusoidal melebar. Celah yang ada pada endotelial mengakibatkan sel radang masuk ke dalam jaringan sehingga terjadi infiltrasi sel radang (Gambar 2.7). Sel radang berperan mengeliminasi jejas pada jaringan hati terinflamasi. Apabila terjadi kegagalan eliminasi jejas, inflamasi berlanjut menjadi kronis yang ditandai infiltrasi sel radang kronis berupa makrofag dan limfosit. Inflamasi kronis dapat mengarah pada penyembuhan atau kerusakan yang lebih parah tergantung faktor imun, host, dan lingkungannya (Arifah, 2016). Keberadaan sumber dan jumlah *P. gingivalis* yang persisten dalam menyebabkan bakteremia serta inflamasi secara terus menerus dan berkelanjutan pada akhirnya mampu menyebabkan cedera hati kronis (Han *et al.*,

2016). Cedera hati kronis yang terus berlanjut dan tanpa penyembuhan dapat mengarah pada kondisi sirosis hati atau hepatoma yang diawali dengan fibrosis hati (Wira *et al.*, 2018).



Gambar 2.7 Histopatologi Hati Tikus Putih. Perbesaran 400x terlihat adanya infiltrasi sel radang (tanda panah) (Sumber: Adikara, 2013).

2.6 Metronidazole

Metronidazole merupakan antibiotik bakteriosid yang memberikan efek antibakteri terhadap semua bakteri kokus anaerob dan basil anaerob Gram negatif. Metronidazole sering digunakan dalam terapi periodontitis karena efeknya dalam menekan pertumbuhan bakteri anaerob penyebab periodontitis yaitu *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Brotella forsythus*, *Falsiferum nucleatum*, *Fusobacterium nucleatum*, dll. (Rams *et al.*, 2020). Metronidazole berpenetrasi dengan baik ke beberapa jaringan dan cairan tubuh seperti cairan vagina, cairan semen, saliva, dan air ASI. Metronidazole juga dideteksi dalam cairan sulkus gingiva. Metronidazole memiliki nilai berat molekul yang rendah yang akan berdifusi melewati membran sel mikroorganisme anaerob sebagai *prodrug* dan diaktifkan didalam sitoplasma bakteri serta organel tertentu. Metronidazole hanya aktif dalam metabolisme bakteri anaerob melalui reduksi intraseluler seperti transfer elektron yang mengakibatkan molekul dari metronidazole dikonversi membentuk nitroso radikal bebas. Hal ini menyebabkan bentuk obat menjadi sitotoksik dan memutus untai helix DNA. Putusnya untai DNA berdampak pada hambatan sintesis DNA dan berakhir kematian sel (Tedjasulaksana, 2016).

Penggunaan metronidazole dalam terapi periodontitis secara umum diberikan dengan dosis 250mg 3 kali sehari selama 8 hari. Metronidazole melalui pemberian oral umumnya akan diabsorpsi sekitar 90%. Metronidazole mempunyai waktu paruh dalam plasma sekitar 8 jam dan akan didistribusikan ke seluruh tubuh dengan volume yang hampir sama dengan volume distribusi air total dalam tubuh. Setelah pemberian dosis 250mg 3 kali sehari selama 5 hari, konsentrasi metronidazole dalam cairan sulkus gingiva terdeteksi lebih besar, dapat mencapai 50% lebih tinggi dari konsentrasi serum (Tedjasulaksana, 2016). Infeksi periodontitis disebabkan oleh berbagai macam bakteri patogen, sehingga penggunaan metronidazole sebagai terapi periodontitis juga dapat dikombinasikan dengan antibiotik lain seperti amoxicillin dan penisilin V yang bertujuan untuk mengatasi infeksi berspektrum luas (Dobija-Wolter *et al.*, 2017).

Penggunaan metronidazole memiliki beberapa efek samping utamanya pada saluran pencernaan. Efek samping yang umum ditemukan diantaranya adalah mual, diare, stomatitis, dan neutropenia. Ditemukan pula keluhan seperti pusing, mulut kering, kulit kemerahan, dan urin dengan warna kemerahan karena pigmen dari obat pada penggunaan metronidazole jangka panjang. Konsumsi metronidazole juga bisa memberikan rasa logam yang tidak enak pada lidah (Tedjasulaksana, 2016; Heta dan Robo, 2018).

2.7 Sel Radang Kronis

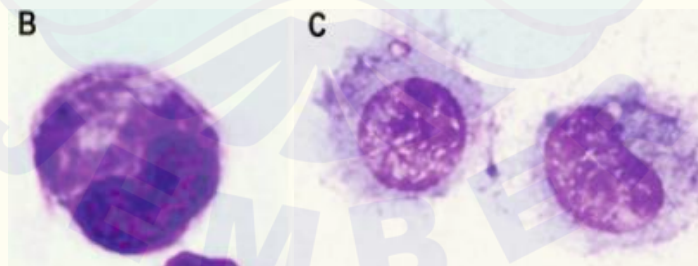
Radang merupakan respon alami pertahanan tubuh berupa reaksi vaskuler dan seluler dari jaringan terhadap adanya rangsang. Peradangan berperan sebagai respon pertahanan dalam proses perbaikan jaringan yang rusak akibat serangan mikroorganisme. Radang bertujuan untuk mengisolasi dan mengeliminasi jejas serta menginisiasi perbaikan jaringan. Proses peradangan yang melibatkan fase kerusakan dan perbaikan pada waktu yang bersamaan disebut sebagai radang kronis. Radang kronis terjadi apabila jejas telah menetap dalam jangka waktu yang lama akibat kegagalan dalam proses eliminasi awal jejas. Radang kronis dapat mengarah pada proses penyembuhan atau menuju kerusakan yang lebih luas. Hal ini tergantung pada jejas, sistem pertahanan tubuh host, dan lingkungannya. Radang

kronis ditandai oleh infiltrasi sel radang kronis berupa makrofag dan limfosit (Arifah, 2016 dan Susilahati, 2016).

2.7.1 Jenis Sel Radang Kronis

a. Monosit (Makrofag)

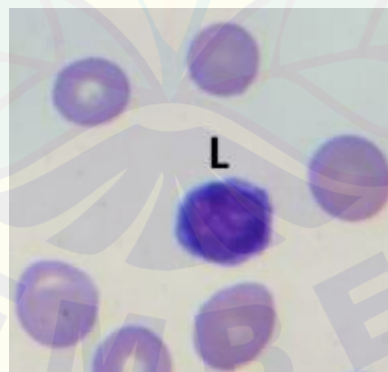
Monosit termasuk dalam jenis sel agranulosit yang terdeteksi pada kondisi radang kronis. Monosit berjumlah sekitar 3-8% dari jumlah leukosit total. Ukuran sel monosit adalah yang terbesar diantara jenis leukosit lainnya, yaitu berdiameter 9-10 μm . Pewarnaan HE pada monosit (Gambar 2.8) menunjukkan monosit memiliki inti dengan granula kromatin yang halus dan berbentuk menekuk seperti biji kacang. Fungsi dari monosit diantaranya adalah berperan dalam reaksi imun dan sebagai agen fagositik mikroorganisme seperti jamur dan bakteri, serta benda asing dalam tubuh (Mohan, 2010). Apabila terjadi proses peradangan, monosit akan bermigrasi ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Sistem monosit-makrofag atau dikenal dengan istilah retikuloendotelial merupakan sistem pertahanan yang penting karena fungsinya dalam pembersihan benda-benda asing dalam darah, limfe, dan ruang interstisial melalui mekanisme fagositosis. Makrofag bersama dengan fibroblas akan melepaskan faktor pertumbuhan dan substansi lainnya yang menginisiasi serta mempercepat pembentukan jaringan granulasi pada jaringan yang rusak. Selain itu, makrofag juga berperan sebagai APC serta memproduksi faktor pertumbuhan yang berperan dalam re-epitelisasi dan angiogenesis (Christina, 2016).



Gambar 2.8 Sel Monosit (B) dan Sel Makrofag (C).
(Sumber: Hřčková *et al.*, 2016).

b. Limfosit

Limfosit adalah salah satu jenis leukosit yang memiliki peran spesifik terhadap jejas dalam peradangan kronis. Radang kronis yang berjalan dalam waktu yang lama mampu menghasilkan respon imun spesifik. Respon imun spesifik yang dilakukan limfosit memiliki dua macam reseptor yaitu reseptor antigen sel-B dan reseptor antigen sel-T (Dimas *et al.*, 2014). Jumlah limfosit terbanyak kedua setelah neutrofil sekitar 20-30% dari jumlah total leukosit. Ukuran limfosit relatif lebih kecil dari makrofag dan neutrofil, yaitu berukuran 6-8 mikrometer. Pewarnaan HE pada limfosit (Gambar 2.9) menunjukkan inti limfosit relatif lebih besar, berbentuk bulat dan sedikit cekung pada satu sisinya. Limfosit terbagi atas dua jenis, yaitu limfosit B dan limfosit T. Limfosit B adalah limfosit yang berasal dari stem sumsum tulang dan tumbuh dewasa menjadi sel plasma. Sel plasma berperan dalam imunitas humoral dengan mensekresi antibodi spesifik terhadap suatu antigen. Antibodi yang dihasilkan akan berikatan silang, menahan pergerakan antigen, dan menetralkan jejas sehingga mengoptimalkan eliminasi jejas oleh sel fagosit. Limfosit T adalah limfosit yang berasal dari sumsum tulang sel batang yang pluripotensi. Limfosit T berfungsi dalam mekanisme imunitas seluler (Arifah, 2016 dan Mohan, 2010). Aktivasi limfosit T akan menghasilkan mediator inflamasi seperti $\text{INF-}\gamma$ yang merupakan stimulus utama dalam aktivasi monosit dan makrofag (Zayyan, 2016).



Gambar 2.9 Sel Limfosit (L).
(Sumber: Rose *et al.*, 2020).

2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar

Hewan coba merupakan hewan yang sengaja dipelihara dan dikembangkan sebagai model penelitian untuk mempelajari dan mengembangkan ilmu penelitian skala laboratoris, seperti uji keamanan dan kelayakan bahan obat atau penelitian terkait penyakit. (Widiartini *et al.*, 2013 dan Frianto, 2019). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan yang sering digunakan untuk hewan coba penelitian biomedis karena mewakili sistem biologis mamalia. Sejak tahun 1906 tikus Wistar mulai dikembangkan di Wistar Institute dan paling sering digunakan sebagai model penelitian tahap praklinik (Fitria *et al.*, 2015). Kriteria yang perlu diperhatikan peneliti dalam penentuan tikus sebagai hewan coba diantaranya kontrol pakan dan kesehatan, *recording* perkawinan, jenis (*strain*) tikus, umur, berat badan, jenis kelamin, dan genetika (Frianto, 2019). Umur biologis tikus perlu disesuaikan dengan tujuan dan arah penelitian. Penyesuaian dapat dilakukan dengan membandingkan berat lensa mata, pertumbuhan gigi molar, perhitungan lapisan endosteal tibia, pertumbuhan muskulo-skeletal dan penutupan epifisis, dan lain-lain (Fitria *et al.*, 2015).

2.8.1 Klasifikasi dan Morfologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Taksonomi tikus putih adalah sebagai berikut (Rejeki *et al.*, 2019):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Odontoceti
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Morfologi tikus putih diantaranya adalah memiliki kepala, badan, leher, dan tubuh yang tertutup rambut. Kepala tikus lebar, telinga panjang dengan daun telinga yang lentur, bibir lentur, dan ekor yang bersisik. Tikus putih termasuk binatang liar yang mampu bertahan hidup hingga 2-3 tahun. Reproduksi tikus putih aktif selama 1 tahun dengan lama kehamilan 20-22 hari. Tikus putih memasuki dewasa ketika

umur 40-60 hari dengan durasi umur kawin 14 hari. Berat badan tikus putih jantan dewasa berkisar antara 267-500 gram, sedangkan betina antara 225-325 gram (Rejeki *et al.*, 2019).

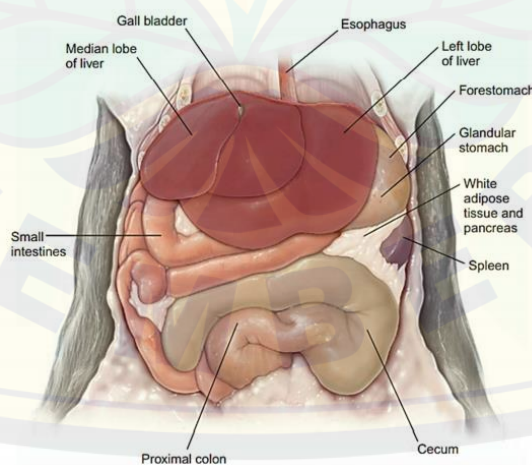
Beberapa kelebihan tikus putih sebagai hewan coba adalah perkembangbiakannya cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, dan pemeliharaan yang mudah. Ciri-ciri tikus putih (Gambar 2.10) secara umum yaitu memiliki kepala dengan ukuran yang kecil, albino, ukuran ekor lebih panjang dari badan tikus, tumbuh kembang cepat, memiliki kemampuan laktasi yang tinggi, tempramen baik dan tahan terhadap senyawa arsenik tiroksid (Frianto, 2019).



Gambar 2.10 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar (Sumber: Al-Hajj *et al.*, 2016).

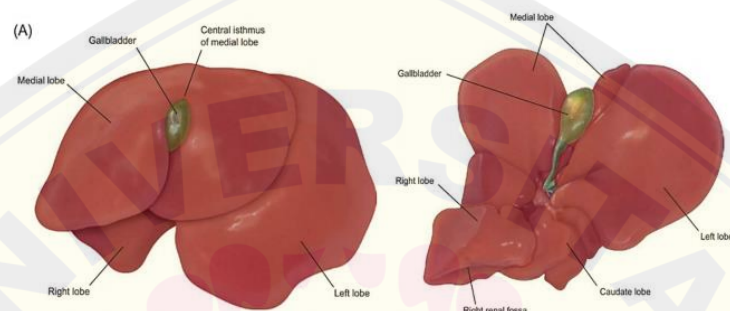
2.8.2 Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Hati tikus memiliki berat sekitar 6% dari total berat badannya dan terletak memenuhi rongga subdiafragmatik, sehingga abdomen tikus terlihat membesar (Gambar 2.11).



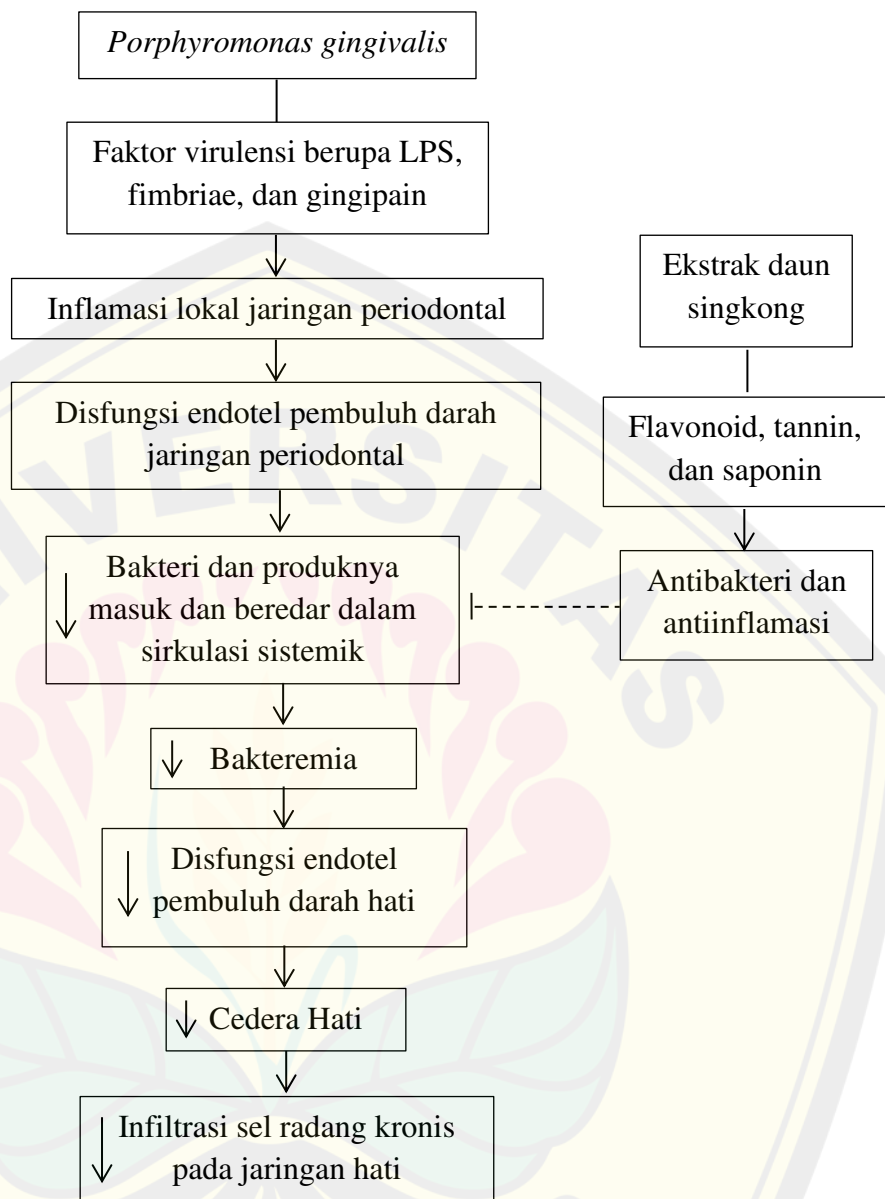
Gambar 2.11 Anatomi Hati Tikus (Sumber: Rogers and Dintzis, 2012).

Hati tikus terdiri dari empat lobus (Gambar 2.12), yaitu lobus dextra, lobus sinistra, lobus medial, dan lobus caudatus. Lobus kanan (dextra) mempunyai sekat yang hampir memisahkan lobus kranial dengan lobus caudatus. Lobus medial terletak di sisi paling atas, menonjol, dan mempunyai dua sayap pyriform yang dihubungkan oleh kantung empedu (Gall-blader). Lobus kiri (sinistra) adalah lobus dengan ukuran paling besar dan umumnya sering diambil sebagai pembuatan sampel histologi. Lobus caudatus merupakan lobus dengan ukuran kecil dan terbagi atas dua segmen yang tampak seperti bentuk telinga (Rogers and Dintzis, 2012).



Gambar 2.12 Lobus Hati Tikus
(Sumber: Rogers and Dintzis, 2012).

2.9 Kerangka Konsep



Keterangan: — : Mengandung —>: Menyebabkan - - - - -: Menghambat

Gambar 2.13 Skema kerangka konsep

Penjelasan Kerangka Konsep

Periodontitis merupakan proses inflamasi pada jaringan periodontal yang mampu menyebabkan kerusakan progresif pada ligamentum periodontal, tulang alveolar, dan pembentukan poket (Quamilla, 2016). Salah satu penyebab utama periodontitis adalah bakteri Gram negatif, yaitu *P. gingivalis* (How *et al.*, 2016). *P. gingivalis* memiliki berbagai faktor virulensi seperti fimbriae, gingipain dan LPS yang memudahkan bakteri lolos dari respon imun dan mampu merusak endotelial pembuluh darah jaringan periodontal sehingga menyebabkan bakteremia (Putri *et al.*, 2020). *P. gingivalis* menyerang sel endotel pembuluh darah (sel endotel teraktivasi) dan menyebabkan disfungsi endotel (Nafilah *et al.*, 2015).

Disfungsi endotel terjadi karena penempelan monosit pada endotel yang diperantarai molekul adhesi pada permukaan sel. Molekul adhesi diatur oleh beberapa produk bakteri berupa LPS, prostaglandin, dan sitokin proinflamasi (Nafilah *et al.*, 2015). Kerusakan sel endotel menyebabkan bakteri masuk ke dalam pembuluh darah dan beredar dalam sirkulasi seluruh tubuh dan mencapai organ-organ lain, salah satunya adalah organ hati (Nurmansyah, 2020). Di hati, bakteri dan produknya akan memicu proses inflamasi dan menyebabkan infiltrasi sel radang yang berperan mengeliminasi jejas pada jaringan hati terinflamasi. Apabila terjadi kegagalan eliminasi jejas, inflamasi berlanjut menjadi kronis yang ditandai infiltrasi sel radang kronis berupa makrofag dan limfosit (Susilahati, 2016). Keberadaan dari sumber dan jumlah bakteri *P. gingivalis* yang persisten dalam menyebabkan bakteremia serta inflamasi secara terus menerus dan berkelanjutan pada akhirnya mampu menyebabkan cedera hati kronis (Han *et al.*, 2016). Melihat adanya potensi periodontitis sebagai faktor resiko dari perkembangan dan progresitas cedera hati, maka diperlukan pencegahan terjadinya inflamasi sistemik yang disebabkan bakteri periodontitis dengan melakukan perawatan periodontitis.

Perawatan periodontitis dapat dilakukan dengan pemberian terapi antibiotik dan antiinflamasi menggunakan ekstrak daun singkong. Senyawa flavonoid, tannin, dan saponin pada ekstrak daun singkong diketahui memiliki efek antibakteri dan antiinflamasi (Mutia *et al.*, 2017). Pemberian ekstrak daun singkong pada model

tikus periodontitis diharapkan mampu menekan reaksi inflamasi yang ditandai dengan penurunan jumlah sel radang kronis di hati.

2.10 Hipotesis

Terdapat penurunan jumlah sel radang kronis pada hati tikus model periodontitis yang diinduksi bakteri *P. gingivalis* yang diterapi ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta C.*).



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan merupakan *the post test only control group design* yaitu melakukan pengamatan dan pengukuran pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada waktu yang telah ditentukan.

3.3 Tempat Penelitian

1. Pembuatan *etichal clearance* dilakukan di Sekretariat Komite Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada.
2. Identifikasi tanaman daun singkong dilakukan di UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember.
3. Pembuatan ekstrak daun singkong dilakukan di Laboratorium Bioscience, RSGM Universitas Jember.
4. Perlakuan pada hewan coba dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi, Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.
5. Identifikasi dan preparasi *P. gingivalis* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.
6. Pembuatan preparat histologi dan pengamatan jaringan secara mikroskopis dilakukan di Laboratorium Histologi, Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

3.4 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2021 – Januari 2022.

3.5 Identifikasi Variabel Operasional

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta C.*) 179,2 mg/kgBB.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu sel radang kronis pada jaringan hati tikus model periodontitis.

3.5.3 Variabel Terkendali

- a. Kriteria sampel penelitian hewan coba meliputi galur tikus, jenis kelamin, berat badan, dan kondisi fisik.
- b. *Phorphyromonas gingivalis* 0,05 ml (ATCC 33.277, Medimark, Perancis).
- c. Dosis ekstrak daun singkong diberikan 2 kali sehari selama 7 hari secara per oral sebanyak 179,2 mg/kgBB.
- d. Dosis Metronidazole diberikan 2 kali sehari selama 7 hari secara per oral sebanyak 2,25 mg/kgBB diberikan.
- e. Ukuran kandang 40cm x 60 cm x 15 cm dengan ventilasi yang cukup. Satu kandang di isi dengan 3 tikus dan kandang dibersihkan setiap 3 kali sehari.
- f. Tindakan atau perlakuan pada hewan coba.

3.6 Definisi Operasional Penelitian

3.6.1 Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta C.*)

Ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta C.*) adalah ekstrak kasar dari daun singkong yang berbentuk semi solid, didapatkan melalui metode maserasi kemudian diencerkan menggunakan propilen glikol sehingga dihasilkan larutan ekstrak daun singkong. Metode maserasi adalah prosedur ekstraksi dengan peralatan sederhana dan tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak terurai. Ekstrak daun singkong diberikan secara per oral pada kelompok penelitian KE dengan dosis sebanyak 179,2 mg/kgBB 2 kali sehari selama 7 hari.

3.6.2 Metronidazole

Metronidazole adalah antibiotik yang umum digunakan oleh masyarakat yang memberikan efek antibakteri pada semua kokus anaerob dan basil Gram negatif anaerob. Metronidazole diberikan pada kelompok K+ secara per oral sebanyak 2,25mg/kgBB.

3.6.3 Model Tikus Periodontitis

Model tikus periodontitis adalah model tikus yang diinduksi *P. gingivalis* (ATCC 33.277, Medimark, Perancis) dengan cara melakukan injeksi *P. gingivalis* (ATCC 33.277, Medimark, Perancis) sebanyak 0,05 ml setiap 3 hari sekali selama 2 minggu pada sulkus gingiva bagian distobukal dan distolingual molar pertama rahang bawah.

3.6.4 Jaringan Hati

Jaringan hati diambil dengan pemotongan arah melintang. Lobus sinistra hati tikus memiliki ukuran paling besar dan umum digunakan sebagai pembuatan sampel histologi. Pengamatan histologi jaringan hati dilakukan untuk mengetahui jumlah infiltrasi sel radang kronis yang ada pada jaringan hati. Dilatasi dan kerusakan pada sel endotel akan menyebabkan vena sentralis dan sinusoidal melebar. Celah yang ada pada endotelial mengakibatkan sel radang masuk ke dalam jaringan sehingga terjadi infiltrasi sel radang. Peradangan mungkin terbatas pada saluran porta atau meluas ke daerah parenkim.

3.6.5 Jenis Sel Radang Kronis

Peradangan kronis ditandai dengan adanya infiltrasi sel radang kronis berupa makrofag dan limfosit. Pada proses peradangan monosit akan bermigrasi ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag. Pewarnaan HE pada makrofag menunjukkan inti dengan granula kromatin yang halus dan berbentuk menekuk seperti biji kacang, sedangkan limfosit terlihat memiliki inti relatif lebih besar, berbentuk bulat dan sedikit cekung pada satu sisinya.

3.6.6 Jumlah Sel Radang Kronis

Jumlah sel radang kronis merupakan hasil perhitungan jumlah sel makrofag dan limfosit. Pengamatan mikroskopis dilakukan pada sediaan jaringan hati

terhadap 5 lapang pandang dengan pembesaran 1000x menggunakan mikroskop cahaya oleh tiga pengamat.

3.7 Populasi dan Sampel

3.7.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih dari galur Galur Wistar jantan dan belum pernah digunakan untuk penelitian.

3.7.2 Kriteria Sampel

- a. Tikus Galur Wistar.
- b. Umur 2-3 bulan.
- c. Berat badan \pm 200-250 gram.
- d. Jenis kelamin jantan.
- e. Tikus dalam keadaan sehat, ditandai dengan gerakan aktif oleh tikus.

3.7.3 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian dihitung menggunakan rumus berikut (Daniel, 2005) :

$$n \geq \frac{Z^2 \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan:

n = jumlah sampel minimum

σ = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang masih dapat ditoleransi, diasumsikan $d = \sigma$

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

Perhitungan:

$$n \geq \frac{Z^2 \sigma^2}{d^2}, \text{ diasumsikan } d = \sigma, \text{ maka } n = Z^2$$

$$n \geq (1,96)^2$$

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan diatas, didapatkan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian adalah minimal 4 ekor per kelompok penelitian, sehingga jumlah total sampel adalah 16 ekor tikus.

Peneliti mengantisipasi adanya sampel yang mati dengan perhitungan rumus koreksi berikut:

$$N = n/(1-f)$$

Keterangan:

N = Besar sampel koreksi

n = Besar sampel awal

f = Perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10%

Perhitungann:

$$N = n/(1-f)$$

$$N = 3,84/(1-10\%)$$

$$N = 3,84/0,9$$

$$N = 4,2 \approx 5$$

Setelah dilakukan perhitungan, jumlah sampel tiap kelompok yang digunakan adalah sebanyak 5 ekor tikus dengan *saving sample* 1 ekor, sehingga terdapat total 24 ekor tikus yang digunakan dalam penelitian.

3.8 Alat dan Bahan Penelitian

3.8.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kandang tikus termasuk tempat makan dan minum, neraca digital (O'haus), masker, gelas ukur, sarung tangan latex, sonde oral, potongan kayu kecil 2x2 cm, *syringe* 1 ml (Terumo, Jepang), tuberculine syringe, rat dental chair, *UV Light Portable*, saringan, tabung reaksi, pinset, needle 18 gauge (Terumo), needle 30 gauge, deepen glass, sentrifuge, inkubator, ayakan 80 maze, bejana, *rotary evaporator*, blender, oven, inkubator, petridish tidak bersekat, cawan porselen, mortal-pastle, gelas arloji, pipet, pengaduk kaca, cassette, freezer, scalpel blade no.11, lampu spiritus, microtom, tissue vip-tek (Tissue-Tek, Jepang), tempat jaringan, hotplate, *object glass*, *deck glass*, *waterbath*, kuas kecil, kompor listrik (Maspion Indonesia), *histology slide*, *tissue warmer*, wadah, mikroskop cahaya (Olympus, Jepang).

3.8.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 24 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur Galur Wistar, makanan tikus (turbo), bakteri *Phorphyromonas gingivalis* (ATCC 33.277, Medimark, Perancis), antibiotik metronidazole bubuk 22,5 mg, aquadest steril, media BHI-A, media BHI-B, eter, CMC-Na 0,5%, propilen glikol, NaCl 0,9% ketamin 120-150 mg/kgBB, ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta C.*) 172,9 mg/kgBB, *buffer neutral formalin* 10%, xylol, alkohol, embedding, paraffin (Paraplast Plus), *mayer egg albumin*, minyak emersi, pewarnaan hematoxilin-eosin (HE), entelan.

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Ethical Clearence

Pengajuan *ethical clearence* dilakukan sebelum melakukan penelitian. *Ethical clearence* dilakukan sebagai prosedur perlakuan terhadap hewan coba dan diajukan di Unit Etika dan Advokasi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gajah Mada dengan nomor 012/KKEP/FKG-UGM/EC/2022.

3.9.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba dilakukan aklimatisasi dalam kurun waktu satu minggu sebelum diberi perlakuan untuk adaptasi tikus dengan tempat dan makanan.

3.9.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

Hewan coba dalam penelitian dibagi menjadi empat kelompok, yaitu:

1. Kelompok kontrol (K) adalah kelompok tikus baseline, tikus tidak dilakukan induksi *P. gingivalis*, tidak diberi ekstrak daun singkong maupun metronidazole.
 2. Kelompok K- adalah kelompok kontrol negatif, tikus diinduksi *P. gingivalis* dan diberi aquades.
 3. Kelompok K+ adalah kelompok kontrol positif, tikus diinduksi *P. gingivalis* dan diberi metronidazole 2,25 mg/kgBB secara per oral.
 4. Kelompok KE adalah kelompok tikus yang diinduksi *P. gingivalis* dan diberi ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta C.*) 179,2 mg/kgBB.
- Semua hewan coba akan dilakukan euthanasia pada hari ke 8.

3.9.4 Pembuatan Suspensi *Porphyromonas gingivalis*

Suspensi *P. gingivalis* dibuat melalui beberapa tahap. Pertama dilakukan pembuatan media cair sebanyak 10 ml, diperoleh dari campuran 0,37 gram BHI-B, 1 µl vitamin K, 5 µl hemin dan 50 µl ekstrak *yeast*. Kemudian menambahkan satu ose *P. gingivalis* yang berasal dari pembiakan di media agar BHI-A kedalam media cair. Suspensi *P. gingivalis* yang didapat dimasukan *desiccator* dan diinkubasi selama 2x24 jam. Setelah diinkubasi, dilakukan pengukuran konsentrasi suspensi *P. gingivalis* hingga didapatkan 2×10^9 CFU/ml (Fitriyana *et al.*, 2013).

3.9.5 Pembuatan Model Tikus Periodontitis

Pembuatan model tikus periodontitis diawali dengan memasukan tikus Galur Wistar jantan kedalam ruangan yang disterilisasi dengan *UV Light Portable*. Induksi *P. gingivalis* dilakukan pada sulkus gingiva distobukal dan distolingual molar pertama rahang bawah dengan dosis 0,05 ml. Induksi diberikan setiap 3 hari sekali selama 2 minggu menggunakan *tuberculine syringe* ukuran jarum 30 gauge (Meilawaty *et al.*, 2020). Tikus yang mengalami periodontitis secara klinis ditandai dengan adanya peradangan pada gingiva dan terjadi resorpsi tulang alveolar jika dilihat dalam gambaran radiografi (Kurniawati, 2020).

3.9.6 Pembuatan Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta C.*)

Daun singkong (*Manihot esculenta C.*) yang digunakan dalam pembuatan ekstrak berasal dari daerah Kreongan, Kabupaten Jember. Daun singkong yang dipetik adalah daun urutan ke-5 dari pucuk dan diambil sebanyak 934 gram. Daun dicuci bersih dan dipotong ukuran kecil-kecil, lalu dikering-anginkan selama 2 hari pada suhu ruang dan tidak terkena cahaya matahari langsung. Setelah kering, daun di oven dengan suhu 40°C selama 24 jam. Daun singkong kemudian dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan 80 maze. Hasil pengayakan didapatkan serbuk daun singkong halus sebanyak 366 gram, kemudian dilakukan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menempatkan serbuk dalam wadah atau bejana yang telah diisi larutan etanol 96% dengan rasio antara simplisia dan pelarut adalah 1:6 (250 gram : 1,5 liter). Bejana kemudian ditutup rapat selama 3 hari dan diaduk tiap 24 jam. Selanjutnya, larutan yang dihasilkan dari proses maserasai dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C dan putaran

90 rpm, sehingga dihasilkan ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta crantz*) semi solid dengan dosis 179,2 mg/kgBB sebanyak 29 gram (Meilawaty *et al.*, 2020). Ekstrak daun singkong diberikan kepada kelompok KE 2 kali sehari selama 7 hari.

3.9.7 Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Singkong

Dosis yang dipakai dalam penelitian ini sesuai dengan dosis penelitian terdahulu oleh Meilawaty *et al.*, (2020) yaitu 179,2 mg/kgBB yang menunjukkan efek antibakteri dan antiinflamasi yang efektif.

Pembuatan dosis per 1 gram BB tikus

Dosis 179,2 mg/kgBB adalah dosis untuk tikus dengan BB 1000 gram, untuk dosis per 1 gram berat badan tikus adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} 179,2 \text{ mg} &= 1000 \text{ gram} \\ X &= 1 \text{ gram} \\ X &= \frac{179,2 \text{ mg} \times 1 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \\ X &= 0,1792 \text{ mg/grBB} \end{aligned}$$

Jadi, dosis pemberian ekstrak daun singkong per 1 gram berat badan tikus adalah 0,1792 mg/grBB

Volume pemberian untuk lambung tikus 2ml/100gBB tikus (Styawan, 2015).

$$\text{Volume pemberian} = 0,02 \text{ ml/gram} \times \text{BB tikus (gram)}$$

$$0,1792 \text{ mg/gram BB} = 0,02 \text{ ml/gram BB}$$

$$17,92 \text{ mg} = 2 \text{ ml}$$

$$8,96 \text{ mg} = 1 \text{ ml}$$

Perhitungan bahan pelarut ekstrak daun singkong

Propilen glikol 10% berarti terdapat 10 gram propilen glikol dalam 100 ml aquades, sehingga perhitungan untuk tiap ml aquades adalah:

$$1000 \text{ mg} = 100 \text{ ml}$$

$$10 \text{ mg} = 1 \text{ ml}$$

Bersadarkan perhitungan diatas, maka di setiap pembuatan ekstrak untuk 1 kali sondasi tikus akan mengandung : 1 ml aquades ~ 8,96 mg ekstrak daun

singkong ~ 10 mg propilen glikol. Pemberian ekstrak daun singkong dilakukan 2 kali sehari setiap jam 08.00 dan 18.00 selama 7 hari kepada kelompok KE.

3.9.8 Pemberian Metronidazole

Pemberian dosis metronidazole ditentukan berdasarkan perhitungan konversi dosis manusia ke dosis tikus. Dosis metronidazole untuk manusia sebesar 500 mg/kgBB. Perhitungan dosis didasarkan pada tabel (Tabel 3.1) konversi dosis oleh Laurence & Bacharach (1964) dalam Martina *et al.*, (2019) berikut:

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 1,5 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,23	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 1,5 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,43	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,1	0,22	1,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Tabel 3.1 Tabel Konversi Dosis
(Sumber : Laurence & Bacharach (1964) dalam Martina *et al.*, (2019)).

Perhitungan dosis metronidazole pada tikus

Konstanta konversi dosis manusia ke tikus dengan berat 200 gram adalah 0,018, sehingga:

$$= \text{Dosis pada manusia} \times \text{konstanta konversi (0,018)}$$

$$= 500 \text{ mg} \times 0,018$$

$$= 9 \text{ mg}$$

Dosis untuk 1 gram berat badan tikus adalah:

$$= \text{dosis untuk tikus berat badan} \frac{200 \text{ gram}}{200}$$

$$= 9 \text{ mg}/200$$

$$= 0,045 \text{ mg/grBB}$$

Volume pemberian untuk lambung tikus = 0,02 ml/grBB (Styawan, 2015)

Volume pemberian pada tikus :

$$= 0,045 \text{ mg/grBB} = 0,02 \text{ ml/grBB}$$

$$= 4,5 \text{ mg/grBB} = 2 \text{ ml/grBB}$$

$$= 2,25 \text{ mg} = 1 \text{ ml}$$

Sehingga didapatkan 2,25 mg metronidazole untuk 1 ml aquadest.

Pelarut metronidazole berupa CMC 0,5%

CMC 0,5 % berarti terdapat 0,5 gram dalam 100 ml air

$$500 \text{ mg} = 100 \text{ ml}$$

$$5 \text{ mg} = 1 \text{ ml}$$

Berdasarkan perhitungan diatas, maka di setiap pemberian metronidazole mengandung: 1 ml aquades ~ 2,25 mg metronidazole ~ 5 mg CMC 0,5%.

Metronidazole diberikan 2 kali sehari setiap jam 08.00 dan 18.00 selama 7 hari kepada kelompok K+.

3.9.9 Euthanasia

Pengamatan sel radang kronis dilakukan ketika peradangan dalam fase kronis. Radang kronis terjadi setelah fase radang akut yaitu sekitar 3-5 hari (Kusumawardhani, 2019). Perlakuan pada hewan coba dilakukan selama 7 hari dan prosedur euthanasia pada penelitian ini dilakukan pada hari ke 8 setelah pemberian perlakuan menggunakan cara kimia dengan memberikan ketamin pada dosis *lethal*. Tahap euthanasia adalah sebagai berikut (Ardana, 2015):

- a) Mempersiapkan dosis ketamin sebesar 120–150 mg/kgBB tikus dengan cara injeksi *intraperitoneum* (IP) menggunakan *syringe* 1 ml dan *needle* ukuran 5-8 inci.
- b) Mengambil tikus dari kandang dengan menarik bagian ekor secara perlahan.
- c) Tikus diposisikan menungging, yaitu kepala tikus lebih rendah dari abdomen.
- d) Menyuntikkan ketamin pada tikus dengan posisi jarum 45° terhadap abdomen. Posisi jarum sedikit menepi dari *linea alba* untuk menghindari jarum mengenai organ dalam peritoneum.
- e) Proses euthanasia ditunggu sekitar 2-5 menit setelah penyuntikkan. Lakukan pemeriksaan denyut jantung dan pernapasan pada tikus. Pembedahan untuk

pengambilan sampel jaringan dapat dilakukan apabila tikus sudah tidak bernapas.

3.9.10 Pengambilan Jaringan Hati

Sampel penelitian diambil dengan cara pembedahan setelah tikus dilakukan euthanasia. Pembedahan dilakukan dengan memotong dinding abdomen (kulit dan peritoneum) pada aksis median untuk membuka toraks hingga abdomen. Pembukaan abdomen kemudian diperluas ke arah lateral sehingga organ pada rongga abdomen terlihat. Organ hati diambil dengan pemotongan arah melintang. Setelahnya dilakukan pencucian dengan larutan NaCL 0,9% dan dilanjutkan fiksasi dengan merendam organ dalam larutan *buffer neutral formalin* 10% selama 24 jam. Fiksasi bertujuan untuk mempertahankan komponen sel pada jaringan/bahan supaya tidak mudah rusak dan tidak mengalami perubahan sesaat setelah jaringan kehabisan pasokan darah (Siregar *et al.*, 2018 dan Ravif, 2016).

3.9.11 Pemotongan Spesimen

Organ hati dipotong arah melintang dengan ketebalan 0,5 cm, kemudian dimasukkan ke dalam keranjang pemrosesan (*embedding cassette*) dan diberi label berisi nomor spesimen (Emelda, 2018).

3.9.12 Pembuatan Sediaan Histologis

Proses pembuatan sediaan histologis diawali dengan dehidrasi, *clearing*, dan impregnasi. Tahap dehidrasi dilakukan dengan merendam jaringan selama 1 jam menggunakan alkohol bertingkat, dimulai dari alkohol konsentrasi 70%, 80%, 90%, sampai ke tingkat alkohol absolut (100%) I, II, III. Dehidrasi bertujuan untuk mengeluarkan seluruh cairan dari jaringan agar jaringan nantinya dapat diisi dengan parafin dalam pembuatan blok preparat. Setelah jaringan di dehidrasi, dilanjutkan ke tahap *clearing*. *Clearing* dilakukan dengan merendam jaringan selama 1 jam dalam larutan *xylol* I, II, III. *Clearing* merupakan proses mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan larutan yang mampu berikatan dengan parafin berupa *xylol*, tahap ini bertujuan untuk membuat jaringan menjadi jernih, transparan, tembus sinar sehingga komponen jaringan mampu teramati dengan mikroskop cahaya. Selanjutnya, dilakukan tahap impregnasi dengan melakukan infiltrasi parafin secara bertahap dalam oven bersuhu 60°C. Sediaan jaringan dimasukkan ke

dalam parafin murni I, II, III, masing-masing selama 1 jam. Pembuatan sediaan histologis kemudian dilanjutkan dengan tahapan dibawah ini (Ravif, 2016 dan Larasati *et al.*, 2020).

a. Pembuatan blok (*embedding*)

Pembuatan blok dilakukan dengan mencairkan parafin pada suhu 56-58°C dan menuangkan sedikit ke dalam cetakan (*cassete*) yang sebelumnya telah diolesi gliserin agar nantinya blok parafin yang mengeras mudah dilepas. Selanjutnya memasukan potongan organ dengan perlahan dan memposisikan organ sedikit diatas dari parafin, kemudian menuang kembali parafin hingga organ terendam seluruhnya. Parafin dibiarkan mengeras, lalu melepas blok dari cetakan dan disimpan dalam *freezer* sebelum dilakukan pemotongan.

b. Pemotongan jaringan menggunakan mikrotom (*sectioning*)

Pemotongan dilakukan dengan menempatkan blok parafin pada mikrotom. Lakukan pemotongan jaringan dengan ketebalan 5 µm. Setelah dipotong, angkat potongan menggunakan kuas dan rendam dalam *water bath* dengan suhu 38-40°C untuk merenggangkan hasil potongan. Selanjutnya, pindahkan hasil potongan ke *object glass* yang sudah diolesi *mayer egg albumin*. Letakkan *object glass* pada *hotplate* bersuhu 40-45°C minimal selama 12 jam hingga sediaan kering dan melekat kuat pada *object glass*, kemudian lakukan tahap pewarnaan menggunakan pewarna HE.

c. Tahap pewarnaan jaringan menggunakan *Hematoxilin Eosin* (HE)

Pewarnaan dengan Hematoxylin-Eosin (HE) dilakukan dengan cara preparat dideparafinasi menggunakan larutan *xylol* I dan II, masing-masing selama 3 menit sampai bebas parafin. Selanjutnya preparat dimasukkan ke dalam alkohol 100% dan 95%, masing-masing selama 3 menit, dilanjutkan perendaman dengan aquades selama 10 menit. Kemudian preparat direndam ke dalam larutan *Hematoxylin* selama 15 menit dan diirigasi menggunakan air mengalir selama 20 menit. Selanjutnya, dilakukan pewarnaan Eosin selama 2 menit dan preparat didehidrasi kembali dengan merendam ke dalam alkohol konsentrasi absolut (100%) I, absolut (100%) II, alkohol 95% I dan alkohol 95% II, masing-masing selama 2-3 menit.

Tahap pewarnaan preparat diakhiri dengan *clearing* menggunakan xylol I, II, III selama 3 menit.

d. Tahap *Mounting* dengan entelan dan ditutup dengan *deckglass*

Tahap ini dilakukan ketika slide preparat telah mengering pada suhu ruang. Slide preparat yang telah kering ditetesi bahan *mouting* berupa entelan, kemudian ditutup dengan *deckglass*. Penutupan dilakukan tanpa menciptakan gelembung udara, kemudian memberi label pada preparat.

e. Pengamatan Histologis

Pengamatan terhadap jumlah sel radang kronis pada jaringan hati dilakukan menggunakan mikroskop cahaya secara sistematis dimulai dari pojok kiri kemudian digeser kekanan dan ditarik keatas demikian seterusnya (Aldelina et al., 2013). Pengamatan dilakukan dengan perbesaran 1000x dengan 5 lapang pandang oleh tiga pengamat.

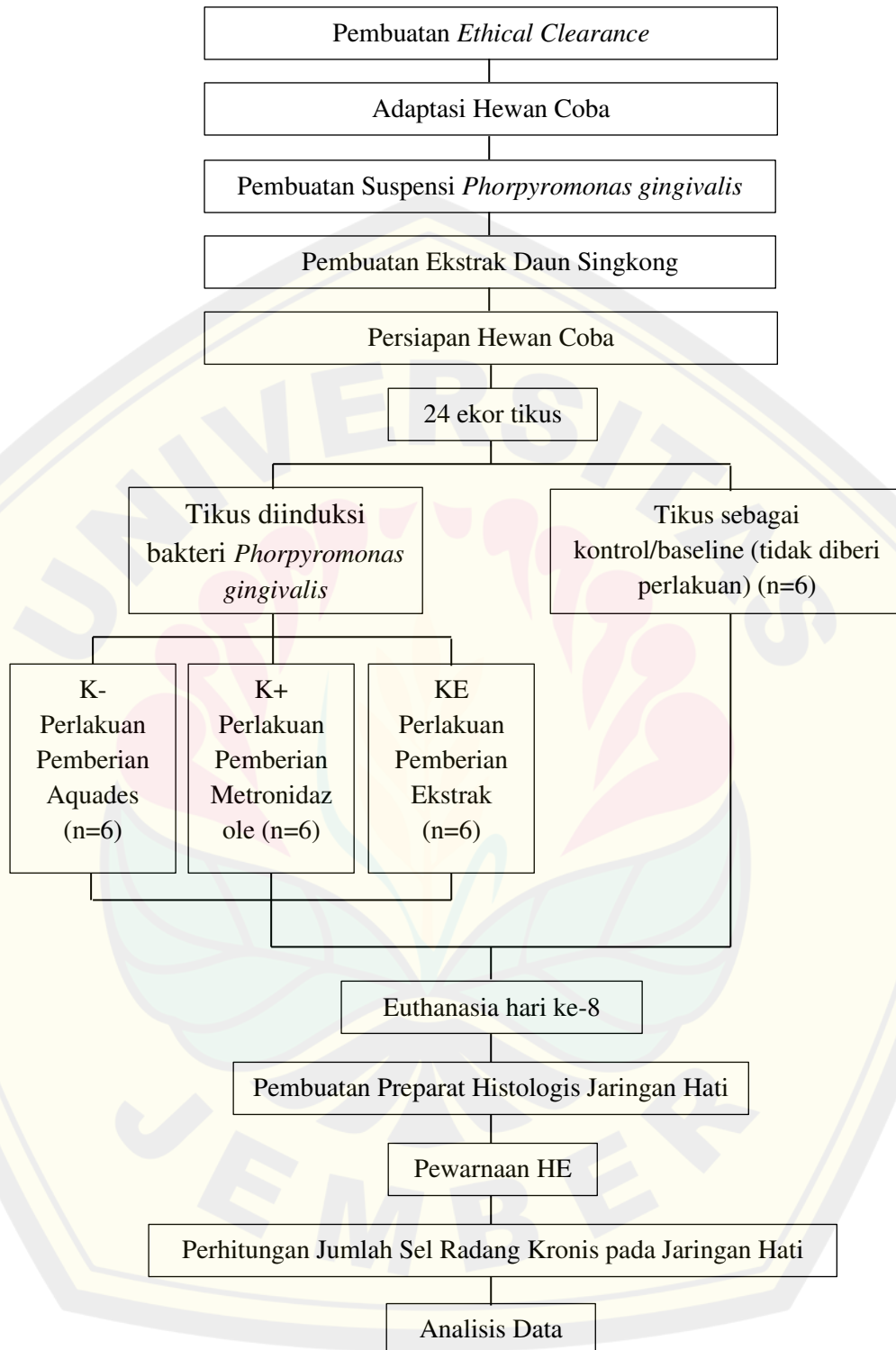
f. Perhitungan jumlah sel radang kronis pada jaringan hati tikus

Perhitungan jumlah sel radang kronis dilakukan dengan menghitung jumlah sel makrofag dan limfosit sesuai dengan karakteristiknya pada pewarnaan HE. Pengamatan dilakukan pada 5 lapang pandang perbesaran 1000x oleh 3 orang pengamat (Tamad et al., 2011).

3.10 Analisis Data

Data hasil pengamatan disajikan dalam bentuk rata-rata jumlah sel radang kronis. Pengujian normalitas data dilakukan dengan uji normalitas, yaitu uji *Shapiro Wilk*. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas data menggunakan uji *Levene Test*. Uji data yang menghasilkan data berdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,95$) dan dilanjutkan uji LSD (*Least Significance Different*). Uji data yang menghasilkan data berdistribusi tidak normal dan tidak homogen kemudian dilakukan uji *Kruskall Wallis* dan dilanjutkan uji *Mann Whitney*.

3.11 Alur Penelitian

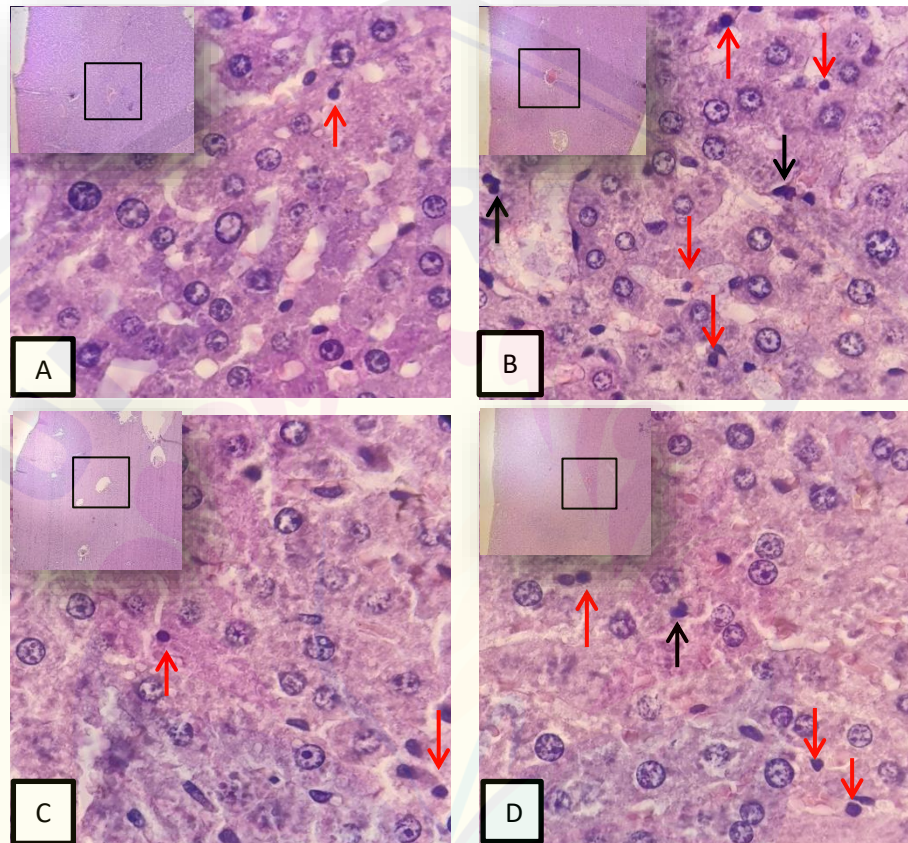


Gambar 3.1 Skema alur penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

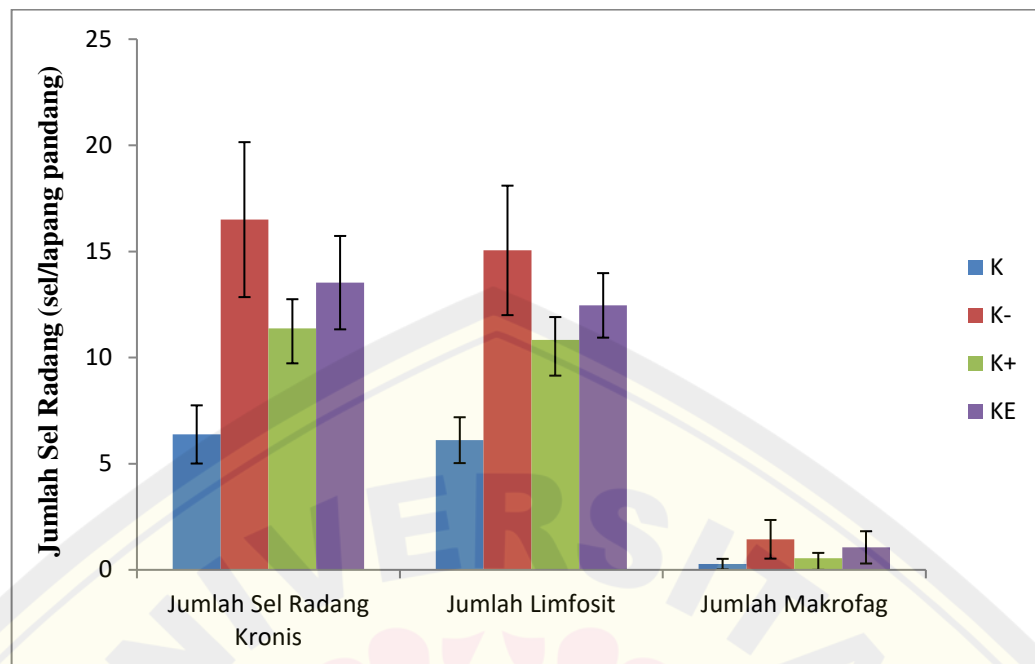
4.1 Hasil Penelitian

Perhitungan jumlah sel radang kronis pada jaringan hati tikus dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x pada 5 lapang pandang disekitar vena sentral. Gambaran histologis dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Gambaran histologis jaringan hati tikus (perbesaran 1000x dan 40x pada pojok kiri atas) kelompok baseline (tanpa perlakuan) (A), kelompok kontrol negatif (B), kelompok kontrol positif (C), kelompok ekstrak daun singkong (D) dengan infiltrasi sel limfosit (tanda panah merah) dan makrofag (tanda panah hitam).

Hasil pengamatan jumlah dan jenis sel radang kronis pada jaringan hati tikus yang telah dilakukan pada 5 lapang pandang oleh 3 orang pengamat diperoleh data sebagaimana tercantum pada Gambar 4.2



Gambar 4.2 Diagram batang jumlah sel radang kronis, limfosit, dan makrofag pada jaringan hati tikus model

Keterangan :

K : kelompok tanpa perlakuan (baseline)

K- : kelompok kontrol negatif (periodontitis + aquadest)

K+ : kelompok kontrol positif (periodontitis + metronidazole)

KE : kelompok ekstrak daun singkong (periodontitis + ekstrak daun singkong)

Jumlah sel radang kronis adalah jumlah sel limfosit dan makrofag disekitar vena sentral jaringan hati. Hasil penelitian menunjukkan jumlah sel radang kronis paling sedikit terdapat pada kelompok tikus tanpa perlakuan (K) yaitu sebesar $6,38 \pm 1,37$, sedangkan jumlah sel radang kronis paling tinggi terdapat pada kelompok tikus kontrol negatif (K-) yaitu sebesar $16,50 \pm 3,65$. Jumlah sel radang kronis kelompok kontrol positif (K+) lebih rendah dari kelompok kontrol negatif (K-) dan kelompok ekstrak (KE), sedangkan jumlah sel radang kelompok ekstrak (KE) lebih rendah dari dari kelompok kontrol negatif (K-) (Gambar 4.2).

Hitung jenis sel radang kronis adalah sel limfosit dan makrofag yang dihitung disekitar vena sentral jaringan hati. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa jumlah limfosit dan makrofag paling sedikit terdapat pada kelompok kontrol (K) dengan jumlah limfosit sebesar $6,11 \pm 1,08$ dan makrofag sebesar $0,27 \pm 0,32$, sedangkan jumlah limfosit dan makrofag paling banyak terdapat pada kelompok

kontrol negatif (K-) dengan jumlah limfosit sebesar $15,05 \pm 3,05$ dan makrofag sebesar $1,44 \pm 0,91$. Kelompok kontrol positif (K+) memiliki jumlah limfosit dan makrofag lebih rendah dari kelompok kontrol negatif (K-) dan kelompok ekstrak (KE), sedangkan kelompok ekstrak (KE) memiliki jumlah limfosit dan makrofag lebih rendah dari kelompok kontrol negatif (K-) (Gambar 4.2).

4.1.1 Analisis Data

Data pengamatan jumlah dan jenis sel radang kronis yang telah didapatkan kemudian diuji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene Test*. Hasil uji jumlah sel radang kronis dan jumlah limfosit menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$), sedangkan jumlah makrofag menunjukkan data terdistribusi tidak normal ($p < 0,05$) (Lampiran 6). Data jumlah sel radang kronis dan jumlah limfosit selanjutnya di uji parametrik *One Way Anova*, sedangkan data jumlah makrofag di uji non parametrik *Kruskal-Wallis* (Tabel 4.1)

Tabel 4.1 Jumlah dan Jenis Sel Radang Kronis pada Jaringan Hati Tikus Model

No	Kelompok	Jumlah Sel Radang Kronis	Jumlah Limfosit	Jumlah Makrofag
1	K	$6,38 \pm 1,37$	$6,11 \pm 1,08$	$0,27 \pm 0,32$
2	K-	$16,50 \pm 3,65$	$15,05 \pm 3,05$	$1,44 \pm 0,91$
3	K+	$11,38 \pm 1,65$	$10,83 \pm 1,68$	$0,55 \pm 0,62$
4	KE	$13,53 \pm 2,20$	$12,46 \pm 1,52$	$1,06 \pm 0,76$
	<i>p</i>	0,000 ^a	0,000 ^a	0,063 ^b

Keterangan : Data yang disajikan merupakan rata-rata dan SD yang dianalisis dengan uji *One Way Anova* dan *Kruskall Wallis*

p : Nilai signifikansi

^a : Uji *One Way Anova*

^b : *Kruskall Wallis*

K : kelompok tikus tanpa perlakuan (*baseline*)

K- : kelompok kontrol negatif (periodontitis + aquadest)

K+ : kelompok kontrol positif (periodontitis + metronidazole)

KE : kelompok ekstrak daun singkong (periodontitis + ekstrak daun singkong)

Hasil analisis pada jumlah dan jenis sel radang kronis menunjukkan adanya perbedaan dalam kelompok perlakuan kecuali pada jumlah sel makrofag. Hasil uji

One Way Anova pada jumlah sel radang kronis dan limfosit menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan dalam kelompok penelitian, sedangkan hasil uji *Kruskal-Wallis* pada jumlah makrofag menunjukkan nilai signifikansi 0,063 ($p > 0,05$) yang berarti tidak terdapat perbedaan dalam kelompok penelitian (Tabel 4.1). Selanjutnya jumlah sel radang kronis (Tabel 4.2) dan limfosit (Tabel 4.3) dilakukan uji LSD untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan, sedangkan jumlah makrofag tidak dilakukan uji beda.

Tabel 4.2 Hasil Uji LSD Data Jumlah Sel Radang Kronis

Jumlah Sel Radang Kronis				
Kelompok	K	K-	K+	KE
K	-	0,000*	0,002*	0,000*
K-		-	0,002*	0,055
K+			-	0,156
KE				-

Keterangan * = *mean difference* pada tingkat signifikan $p < 0,05$

Berdasarkan hasil uji LSD pada Tabel 4.2, data jumlah sel radang kronis menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok tanpa perlakuan (K). Selain itu, perbedaan signifikan terlihat antara kelompok kontrol negatif (K-) dan kelompok kontrol positif (K+). Kelompok kontrol positif (K+) dengan kelompok ekstrak (KE) serta kelompok kontrol negatif (K-) dan kelompok ekstrak (KE) tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.

Tabel 4.3 Hasil Uji LSD Data Jumlah Limfosit

Kelompok	Jumlah Limfosit			
	K	K-	K+	KE
K	-	0,000*	0,001*	0,000*
K-		-	0.002*	0.046*
K+			-	0.194
KE				-

Keterangan * = *mean difference* pada tingkat signifikan $p < 0,05$

Berdasarkan hasil uji LSD pada Tabel 4.3, data jumlah limfosit menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok tanpa perlakuan (KE). Selain itu, kelompok kontrol negatif (K-) dengan kelompok kontrol positif (K+) serta kelompok kontrol negatif (K-) dan kelompok ekstrak (KE) juga menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Kelompok kontrol positif (K+) dengan kelompok ekstrak (KE) tidak ada perbedaan yang signifikan.

4.2 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah sel radang kronis paling tinggi terdapat pada kelompok kontrol negatif (periodontitis). Hal ini kemungkinan karena infeksi bakteri *P.gingivalis* sebagai etiologi utama periodontitis telah menyebar melalui peredaran darah sistemik dan mencapai hati sehingga memicu inflamasi dan infiltrasi sel radang di hati. Furusho *et al.*, (2013) menyatakan bahwa *P.gingivalis* dapat merusak jaringan periodontal dan barrier endotelial sehingga dapat menyebar ke organ lain dan menyebabkan peradangan sistemik. Selain itu, faktor virulensi *P. gingivalis* berupa fimbriae, gingipain, dan lipopolisakarida (LPS) akan memfasilitasi bakteri untuk lolos dari respon imun host dan masuk kedalam sirkulasi darah (Putri *et al.*, 2020), sehingga infeksi *P.gingivalis* atau endotoksin yang dilepaskan dapat dengan mudah masuk ke peredaran darah dan diduga terlibat dalam mekanisme perkembangan penyakit hati kronis (NAFLD) (Nahakara *et al.*, 2017).

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa jumlah sel radang kronis paling sedikit terdapat pada kelompok baseline (tanpa perlakuan). Hal ini dikarenakan kelompok baseline tidak terpapar oleh infeksi. Selain itu, adanya sel radang menunjukkan bahwa dalam keadaan normal sel radang tetap ada sebagai sistem pertahanan tubuh (Sudiono, 2014). Sel radang mampu mendeteksi adanya infeksi dimana peningkatan sel radang mengindikasikan adanya suatu infeksi (Sitepu *et al.*, 2016)

Hasil hitung jumlah sel radang kronis, limfosit dan makrofag menunjukan adanya pola yang sama, yaitu jumlah yang tertinggi terdapat pada kelompok kontrol negatif, sedangkan jumlah terendah terdapat pada kelompok baseline. Jumlah sel radang kronis pada kelompok kontrol positif dan kelompok ekstrak lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif. Pada jumlah limfosit kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif serta kelompok ekstrak dan kelompok kontrol negatif menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Selain itu, jumlah sel radang kronis kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif juga terdapat perbedaan yang signifikan. Adanya perbedaan yang signifikan diduga karena efek senyawa aktif pada metronidazole dan ekstrak daun singkong yang bekerja terhadap infeksi *P. gingivalis*. Setiawan *et al.*, (2013) menyatakan bahwa metronidazole mempunyai sifat bakterisidal terhadap bakteri anaerob dan efektif terhadap *P. gingivalis*. Selain itu, ekstrak daun singkong memiliki senyawa flavonoid, tannin, dan saponin yang bekerja sebagai antibakteri dan antiinflamasi (Mutia *et al.*, 2017).

Akan tetapi, hasil penelitian juga menunjukkan bahwa jumlah sel radang kronis kelompok ekstrak tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif serta kelompok kontrol positif. Hal ini diduga karena senyawa aktif pada ekstrak daun singkong memiliki efektifitas kerja yang sama dengan metronidazole namun kurang poten dalam menurunkan proses peradangan di hati. Selain itu, waktu penyerapan senyawa aktif ekstrak daun singkong relatif lebih lama dibandingkan metronidazole. Senyawa aktif ekstrak daun singkong mencapai konsentrasi puncak plasma setelah 6 jam pemberian per oral, sedangkan metronidazole 1-2 jam setelah pemberian (Kanimozhi, 2016 dan Lo Fmark *et al.*, 2010).

Jumlah makrofag tidak menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok perlakuan. Hal ini kemungkinan telah terjadi penurunan jumlah makrofag pada inflamasi kronis hari ke-7. Enggardipta., *et al* (2019) menyatakan bahwa makrofag mulai muncul 48 jam pasca jejas dan mencapai puncak di hari ke-3, setelahnya menurun pada hari ke-7. Umur makrofag lebih panjang dari PMN dan ada hingga fase penyembuhan selesai sempurna. Penurunan makrofag diikuti dengan peningkatan limfosit yang mencapai puncak pada hari ke-7.

Kelompok kontrol positif memiliki jumlah sel radang kronis paling rendah diantara kelompok perlakuan. Hal ini diduga bahwa penggunaan metronidazole secara sistemik selama 7 hari mampu bekerja secara efektif terhadap *P.gingivalis* (Pratiwi, 2017). Metronidazole bersifat bakterisidal terhadap bakteri anaerob sehingga efektif untuk penyakit periodontal yang disebabkan oleh *P. gingivalis*. Metronidazole memberikan efek antibakteri dengan cara menghambat sintesis DNA bakteri (Setiawan *et al.*, 2013). Efek antibakteri akan mengurangi konsentrasi bakteri dan meminimalisir kerja sel fagositosis sehingga terjadi penurunan jumlah leukosit (Puspaningrum *et al.*, 2015)

Kelompok ekstrak daun singkong memiliki jumlah sel radang kronis lebih rendah daripada kelompok kontrol negatif. Hal ini kemungkinan karena ekstrak daun singkong memiliki senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri dan antiinflamasi sehingga mampu menurunkan jumlah sel radang kronis saat terjadi inflamasi. Hasil penelitian Sari., *et al* (2021) menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah leukosit darah perifer pada model tikus periodontitis dan disfungsi ovarium yang diterapi ekstrak daun singkong. Mutia., *et al* (2017) menyatakan bahwa kandungan senyawa pada daun singkong berupa tannin, saponin, dan flavonoid dapat memberikan efek antibakteri dan antiinflamasi. Flavonoid memberikan efek antibakteri dengan merusak membran sel, mengganggu permeabilitas dan metabolisme sel. Flavonoid juga memberikan efek antiinflamasi melalui penghambatan pembentukan stikoin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, IL-1 β dan interferon- γ (Fitri, 2021). Selain itu, flavonoid mampu menghambat pembentukan prostaglandin dan leukotrien melalui penghambatan enzim COX dan lipooksigenase. Akibatnya kemotaktik leukosit akan berkurang dan menekan proses

inflamasi (Nasution *et al.*, 2017). Saponin sebagai antiinflamasi bekerja dengan cara pemblokiran prostaglandin (Rachman *et al.*, 2016). Saponin juga memberikan efek antibakteri dengan cara meminimalisir kontaminasi bakteri sehingga mempercepat proses penyembuhan luka. Tannin memberi efek antioksidan melalui pemberian elektron senyawanya kepada radikal bebas dalam tubuh sehingga mencegah timbulnya stress oksidatif (Meilawaty, 2013).



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terjadi penurunan jumlah sel radang kronis pada hati tikus model periodontitis yang di terapi menggunakan ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta Crantz*).

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai jumlah sel radang kronis pada hati tikus model periodontitis dengan waktu perlakuan yang lebih lama.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai proses peradangan di hati dengan waktu induksi bakteri *P.gingivalis* yang lebih lama.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta C.*) yang mempengaruhi jumlah sel radang kronis di hati.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis lain ekstrak daun singkong (*Manihot esculenta C.*).

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulkareem, A.A., 2018. Antibiotics in periodontal therapy: to use or not to use. *J Dent Sci*, 3(9): 000206.
- Aldelina *et al.*, 2013. Efek Pemberian Ekstrak Daun Pepaya Muda (*Carica papaya*) Terhadap Jumlah Sel Makrofag Pada Gingiva Tikus Wistar Yang Diinduksi *Porphyromonas gingivalis* (*The effect of papaya leaf extract (Carica papaya) to the number of cells macrophages in gingival of wistar rats which induced Porphyromonas gingivalis*). *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa: 2-5*
- Al-Doaiss, Amin. 2020. Hepatotoxicity-Induced by the Therapeutic Dose of Acetaminophen and the Ameliorative Effect of Oral Co-administration of Selenium/ *Tribulus terrestris* Extract in Rats. *Int. J. Morphol.* 38(5): 1444-1454.
- Alfakry, H., Malle, E., Koyani, C.N., Pussinen, P.J. and Sorsa, T., 2016. Neutrophil proteolytic activation cascades: a possible mechanistic link between chronic periodontitis and coronary heart disease. *Innate Immunity*, 22(1): 85-99.
- Al-Hajj, N.Q.M., Sharif, H.R., Aboshora, W. and Wang, H., 2016. In vitro and in vivo evaluation of antidiabetic activity of leaf essential oil of *Pulicaria inuloides*-Asteraceae. *Journal of Food and Nutrition Research*, 4(7): 461-470.
- Andriani, I., 2012. Efektivitas Antara Scaling Root Planing (SRP) dengan dan Tanpa Pemberian Ciprofloxacin Per Oral Pada Penderita Periodontitis. *Insisiva Dental Journal: Majalah Kedokteran Gigi Insisiva*, 1(2): 81-89
- Arifah, Ratih Ayu., *et al.* 2016. Pemberian Air Minum Alkali terhadap Peningkatan Jumlah Sel Plasma pada Radang Kronis. *Oral and Maxillofacial Pathology Journal*. 3(1):6-10.
- Ayu, K.V., 2018. Efek Induksi LPS Terhadap Jumlah Osteoblas pada Resorpsi Tulang Alveolar Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) Galur Galur Wistar. *Interdental: Jurnal Kedokteran Gigi*. 14(1):13-17.
- Bare, Y., Kuki, A.D., Rophi, A.H., Krisnamurti, G.C., Lorenza, M.R.W.G. and Sari, D.R.T., 2019. Prediksi Asam Kuinat sebagai Anti-inflamasi terhadap COX-2 secara Virtual. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 4(3):124-129.
- Bathla S. 2017. *Textbook of Periodontics*. New Delhi: Jaypee Brother Medical Publishers: 129, 145, 330-1.
- Budianto, B.H., 2018. Kelimpahan Tungau Predator Dan Hama Pada Tanaman Singkong (*Manihot esculenta*). *Prosiding*. 8(1): 30-40.

- Campo, Joe A Del., *et al.* 2018. Role of inflammatory response in liver diseases: Therapeutic strategies. *World Journal of Hepatology*. 10(1): 1-7.
- Christina, B.B.H., Fransisca, C., Kristin, K. and Sudiono, J., 2016, April. Peran monosit (Makrofag) pada proses angiogenesis dan fibrosis. *In Prosiding Seminar Nasional Cendekiawan*: 254-259.
- Dewi, L.K. 2014. *Kadar Total Senyawa Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Daun Singkong (Manihot esculenta Crantz)*. Bogor: Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor: 83-85.
- Dimas, U.B.S., Arina, Y.M.D.A. and Amin, M.N., 2014. Pengaruh Ekstrak Daun Pepaya terhadap Jumlah Sel Limfosit pada Gingiva Tikus Wistar Jantan yang Mengalami Periodontitis (The effect of papaya leaves extract to the number of lymphocytes cells to the male-wistar rat's gingiva that undergo periodontitis). *Pustaka Kesehatan*. 2(1):.50-57.
- Dobija-Wolter, G., S. S. Al-Zubaydi, M. M. A. Mohammed, V. Bakken, dan A. I. Bolstad. 2017. The Effect of Metronidazole Plus Amoxicillin or Metronidazole Plus Penicillin V on Periodontal Patogens in an In Vitro Biofilm Model. *Clinical and Experimental Dental Research*. 4: 4-12.
- Emelda, E., 2018. Efek Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) Terhadap Ekspresi Caspase-3 pada Organ Hati Tikus Galur Sd Yang Diberikan Doxorubicin. *Inpharmed Journal (Indonesian Pharmacy and Natural Medicine Journal)*. 1(1): 10-20.
- Enggardipta, R.A., Haniastuti, T. and Handajani, J., 2016. Efek eugenol terhadap jumlah sel inflamasi pada pulpa gigi molar tikus Sprague Dawley. *Majalah kedokteran gigi Indonesia*, 2(2): 66-73.
- Fang, Fang., *et al.* 2018. The Severity of LPS Induced Inflammatory injury is negatively associated with the functional liver mass after LPS injection in rat model. *Journal of Inflammation*. 15(21): 2-9.
- Fitri, Wiya Elsa dan Adewirli Putra. 2021 Review: Peranan Senyawa Flavonoid dalam Meningkatkan Sistem imun di Masa Pandemi Covid-19. *Prosiding Seminar Nasional STIKES Syedza Saintika*. 1(1): 61-72.
- Fitria, L., Lukitowati, F. and Kristiawati, D., 2019. Nilai Rujukan untuk Evaluasi Fungsi Hati dan Ginjal pada Tikus (*Rattus norvegicus Berkenhout, 1769*) Galur Wistar. *Jurnal Pendidikan Matematika dan IPA*. 10(2): 243-258.
- Fitria, L., Muyati, M., Tiraya, C.M. and Budi, A.S., 2015. Profil reproduksi jantan tikus (*Rattus norvegicus Berkenhout, 1769*) galur wistar stadia muda, pradewasa, dan dewasa. *Jurnal Biologi Papua*, 7(1): 29-36.

- Fitriyana N., Arina D.M.Y., Harmono, H., Susilawati, I.D.A. 2013. Pemaparan Bakteri Porphyromonas gingivalis Mempengaruhi Produksi Superoksida Neutrofil. *12(3)*: 152-158.
- Frianto, F., 2019. Evaluasi Faktor Yang Mempengaruhi Jumlah Perkawinan Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Secara Kualitatif. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran Untan*, 3(1): 1-4.
- Furusho, H., Miyauchi, M., Hyogo, H., Inubushi, T., Ao, M., Ouhara, K., Hisatune, J., Kurihara, H., Sugai, M., Hayes, C.N. and Nakahara, T., 2013. Dental infection of Porphyromonas gingivalis exacerbates high fat diet-induced steatohepatitis in mice. *Journal of gastroenterology*, 48(11): 1259-1270.
- Grønkjær, L. L. 2015. Periodontal disease and liver cirrhosis: A systematic review. *Sage open medicine*, 3, 2050312115601122.
- Han, D.H., Lim, S., Paek, D. and Kim, H.D., 2012. Periodontitis could be related factors on metabolic syndrome among Koreans: a case-control study. *Journal of clinical periodontology*, 39(1): 30-37.
- Han, P., Sun, D. and Yang, J., 2016. Interaction between periodontitis and liver diseases. *Biomedical reports*. 5(3): 267-276.
- Hasim, H., Falah, S. and Dewi, L.K., 2016. Effect of boiled cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) on total phenolic, flavonoid and its antioxidant activity. *Current Biochemistry*, 3(3): 116-127.
- Heta, S. dan I. Robo. 2018. The Side Effects of the Most Commonly Used Group of Antibiotics in Periodontal Treatments. *Medical Sciences*. 6(6): 1-6.
- How, K.Y., K.P. Song, K.G. Chan. 2016. Porphyromonas gingivalis : An Overview Periodontopathic Patogen Below the Gum Line. *Journal Frontiers in Microbiology*.7(53):1-14.
- Hrčková, G., Vendelova, E. and Velebný, S., 2016. Phagocytosis in Mesocostoides vogae-induced peritoneal monocytes/macrophages via opsonin-dependent or independent pathways. *Helminthologia*. 53(1): 3-13.
- Kanimozhi, S. 2016. Oral administration of a flavonoid quercetin in rat plasma on bioavailability study analysis by HPLC. *Life Science Archives* 2(2): 508-513.
- Kapoor, A., Malhotra, R., Grover, V. and Grover, D., 2012. Systemic antibiotic therapy in periodontics. *Dental research journal*, 9(5): 505.
- Kathiresan, T.S., Masthan, K.M.K., Sarangarajan, R., Babu, N.A. and Kumar, P., 2017. A study of diabetes associated oral manifestations. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 9(1): S211.
- Kementerian Kesehatan RI. Pokok Pokok Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riset Kesehatan Dasar) 2018. Jakarta : Kementerian Kesehatan RI; 2019.

- Khan, A., Afzal, A., Butt, H.A. and Waheed, A., 2019. Adequacy of phosphodiesterase inhibitor in prevention and treatment of LPS induced organ failure in BALB/c mice. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*. 8(3): 549.
- Kinane, D.F., Stathopoulou, P.G. and Papapanou, P.N., 2017. Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1): 1-14.
- Kurniawati, A., Wahyukundari, M.A. and Astuti, S.D., 2020. Potensi Ekstrak Daun Ungu dalam Menurunkan Jumlah Sel Osteoklas Tikus yang Diinduksi Porphyromonas Gingivalis. *Cakradonya Dental Journal*, 12(2): 75-82.
- Kusumawardhani, Banun dan Merry Christmarini. 2019. *Penyakit Dentomaksilofasial*. Malang: Intimedia: 57-67.
- Larasati, S., Rahman, H. and Wigati, S., 2020. Gambaran Histologis Jantung pada Pemberian Monosodium Glutamate (MSG). *Jurnal Endurance: Kajian Ilmiah Problema Kesehatan*, 5(2): 259-270.
- Lo Fmark, S., Edlund, C. & Nord, C. E., 2010. Metronidazole Is Still The Drug of Choice for Treatment of Anaerobic Infections. *CID*, 50(1): 16-23
- Martina, S.J., Ramar, L.A., Silaban, M.R., Luthfi, M. and Govindan, P.A., 2019. Antiplatelet effectivity between aspirin with honey on cardiovascular disease based on bleeding time taken on mice. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 7(20): 3416.
- Mei, Wenqing *et al.*, 2020. Hepatic inflammatory response to exogenous LPS challenge is exacerbated in broilers with Fatty Liver Disesae. *Animals journal*. 10 (154): 2-12.
- Meilawaty, Z. 2013. Efek ekstrak daun singkong (Manihot utilissima) terhadap ekspresi COX-2 pada monosit yang dipapar LPS E.coli. *Dental Journal*. 46(4) :196-201.
- Meilawaty, Z., Shita, A. D. P., Kuncaraningtyas, P. L., Dharmayanti, A. W. S., & Hamzah, Z. 2020. Potensi ekstrak daun singkong (Manihot esculenta Crantz) terhadap ekspresi MMP-8 fibroblas gingiva pada model tikus dengan disfungsi ovarium dan periodontitis Potential of cassava (Manihot esculenta Crantz) leaf extract on the MMP-8 expression of gingival fibroblast in rats model with ovarian dysfunction and periodontitis. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*. 32(2): 105-112.
- Mescher, Anthony. 2013. Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, Thirteenth Edition. United States, McGraw-Hill Education: 329
- Mohan, H. 2010. *Textbook of Pathology (Sixth)*. India: Jaypee Brothers Medical Publishers (P) LTD: 592.

- Murti, F.K., Amarwati, S. and Wijayahadi, N., 2016. Pengaruh ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura*) terhadap gambaran mikroskopis hepar tikus wistar jantan yang diinduksi etanol dan soft drink. *Diponegoro Medical Journal (Jurnal Kedokteran Diponegoro)*, 5(4): 871-883.
- Mutia, C., S. P. Fitriyaningsih, dan R. Choesrina. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Prosiding Farmasi*. 3(1): 14-19.
- Nafilah, R., Prasetya, R.C. and Susilawati, I.D.A., 2015. Deteksi Lesi Aterosklerosis Koroner pada Model Tikus Periodontitis (*Detection of Coronary Atherosclerotic Lesions in Periodontitis Rat Model*). *Pustaka Kesehatan*. 3(2): 217-223.
- Nakahara, T., Hyogo, H., Ono, A., Nagaoki, Y., Kawaoka, T., Miki, D., Tsuge, M., Hiraga, N., Hayes, C.N., Hiramatsu, A. and Imamura, M., 2018. Involvement of Porphyromonas gingivalis in the progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Gastroenterology*, 53(2): 269-280.
- Nasution, A.M., Kamaluddin, M.T. and Theodorus, T., 2017. Efek Antiinflamasi Ekstrak Air Daun Mali-mali (*Leea indica*) Terhadap Jumlah Leukosit Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*, 49(3): 110-117.
- Navegantes, K.C., de Souza Gomes, R., Pereira, P.A.T., Czaikoski, P.G., Azevedo, C.H.M. and Monteiro, M.C., 2017. Immune modulation of some autoimmune diseases: the critical role of macrophages and neutrophils in the innate and adaptive immunity. *Journal of translational medicine*. 15(1):1-21.
- Nurmansyah, D. and Nurmaidah, N., 2020. Patogenesis dan Diagnosa Laboratorium Demam Tifoid. *Klinikal Sains: Jurnal Analisis Kesehatan*. 8(2):51-61.
- Pratiwi, E.W., Praharani, D. and Arina, Y.M.D.A., 2015. Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Adhesi Bakteri Porphyromonas gingivalis pada Neutrofil (Inhibition of Papaya (*Carica papaya L.*) Leaves Extract on Adhesion of *Porphyromonas gingivalis* Bacteria to Neutrophils). *Pustaka Kesehatan*. 3(2): 193-198.
- Pujiastuti, P., 2015. Obesitas dan Penyakit Periodontal. *Stomatognathic-Jurnal Kedokteran Gigi*. 9(2): 82-85.
- Puspaningrum, E.F., Hendari, R. and Mujayanto, R., 2015. Ekstrak Cymbopogon Citratus Dan Eugenia Aromaticum Efektif Untuk Penyembuhan Gingivitis. *ODONTO: Dental Journal*, 2(2): 47-51.

- Putra, P.D., Lisyanto, L., Azis, A.C.K. and Zainal, A., 2019. Rekayasa Bahan Makanan dari Singkong Dalam Mensejahterakan Perekonomian Masyarakat di Kabupaten Labuhan Batu Utara. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 25(3): 172-175.
- Putri, C.F. and Bachtiar, E.W., 2020. *Porphyromonas Gingivalis* Dan Patogenesis Disfungsi Kognitif: Analisis Peran Sitokin Neuroinflamasi. *Cakradonya Dental Journal*. 12(1): 15-23.
- Quamilla, N. 2016. Stres dan Kejadian Periodontitis (Kajian Literatur). *Dent Soc*. 1 (2): 161 – 168.
- Rachman, F., Hartati, S., Sudarmonowati, E. and Simanjuntak, P., 2016. Aktivitas Antioksidan Daun Dan Umbi Dari Enam Jenis Singkong (Manihot utilissima Pohl)-(Antioxidant Activity of Leaves and Tuber from Six Types of Cassava (Manihot utilissima Pohl). *Biopropal Industri*, 7(2): 47-52.
- Rams, T. E., J. D. Sautter, dan A. J. V. Winkelhoff. 2020. Comparative In Vitro Resistance of Human Periodontal Bacterial Patogens to Tinidazole and Four Other Antibiotics. *Antibiotics*. 9(68): 1-11.
- Ravif, F. 2016. *Gambaran Histologi Organ Hepar, Pankreas, Dan Ginjal Tikus Jantan Strain Galur Wistar Dengan Teknik Perfusi PBS*. Bachelor's thesis, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan: 10-11.
- Rejeki, P.S., Putri, E.A.C. and Prasetya, R.E., 2019. Ovariektomi pada Tikus dan Mencit: 7-8.
- Rogers, A. B., & Dintzis, R. Z. 2012. *Liver and Gallbladder. In Comparative Anatomy and Histology*. First Edit:193–201.
- Rosida, A., 2016. Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati. *Berkala Kedokteran Unlam*. 12(1): 123-131.
- Santoso, H.B. and Nurliani, A., 2018. Efek Doksisisiklin Selama Masa Organogenesis Pada Struktur Histologi Organ Hati dan Ginjal Fetus mencit. *Bioscientiae*, 3(1). 15-27.
- Santoso, Oedijani. 2019. Infeksi Periodontal sebagai Faktor Risiko Kondisi Sistemik. *Odonto Dental Journal*. 6(1): 141-152.
- Sari, L.M., Meilawaty, Z., Astuti, P., Shita, A.D.P., Dharmayanti, A.W.S. and Hamzah, Z., 2021. Potensi ekstrak daun singkong (Manihot esculenta Crantz.) terhadap profil leukosit darah tepi model tikus disfungsi ovarium dan periodontitis Potential of cassava leaves (Manihot esculenta Crantz.) extract on peripheral blood leukocyte profile in ovary dysfunction and periodontitis rat model. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 33(1): 44-52.

- Senet, M.R.M., Raharja, I.G.M.A.P., Darma, I.K.T., Prastakarini, K.T., Dewi, N.M.A. and Parwata, I.M.O.A., 2018. Penentuan kandungan total flavonoid dan total fenol dari akar kersen (*Muntingia calabura*) serta aktivitasnya sebagai antioksidan. *Jurnal Kimia*, 12(1): 13-8.
- Septiyani, R.I., 2019. *Efektivitas Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera L.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Porphyromonas gingivalis* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Semarang). 14-15.
- Setiawan, A., Lastianny, S.P., & Herawati, D. (2013). Efektivitas Aplikasi Madu Murni Terhadap Penyembuhan Jaringan Periodontal pada Perawatan Periodontitis Penderita Hipertensi. *J Ked Gi*. 4(4): 228.
- Silvani, F.N., Sukohar, A. and Rudiyanto, W., 2019. Pengaruh Ekstrak Etanol Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) Sebagai Antioksidan Terhadap Histopatologi Hepar Tikus Galur Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol. *Jurnal Majority*, 8(1): 95-101.
- Sitepu, A.M., Djafar, D.U. and Panda, A.L., 2016. Gambaran jumlah leukosit pada pasien infark miokard akut di RSUP Prof. Dr. RD Kandou Manado periode Januari-Desember 2015. *Jurnal e-CliniC*, 4(2): 1-7.
- Soares, G.M.S., Figueiredo, L.C., Faveri, M., Cortelli, S.C., Duarte, P.M. and Feres, M., 2012. Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. *Journal of applied oral science*, 20: 295-309.
- Soulissa, A.G., 2015. Potential link between periodontal disease and alzheimer's disease. *Makassar Dental Journal*, 4(4): 114-119.
- Styawan, A.A. and Budiman, H., 2015. Pengaruh Penurunan Dosis Dari Ekstrak Etanol Batang Brotowali (*Tinospora crispa, L*) Terhadap Efek Antipiretik Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*. 1(1): 29-40.
- Sudiono, J., 2014. Sistem kekebalan tubuh. *Jakarta: EGC*: 12-13.
- Surya, L.S., 2019. Hubungan faktor lokal, faktor sistemik dan faktor perilaku terhadap kejadian penyakit periodontal di Indonesia (Analisis Riskesdas). *Makassar Dental Journal*, 8(2): 57-66.
- Susilahati, N.L.D.A. and Jularso, E., 2016. Pemberian Air Minum Alkali terhadap Peningkatan Ekspresi VEGF pada Radang Kronis. *Oral and Maxillofacial Pathology Journal*. 3(2): 43-48.
- Susilawati, I.D.A., 2015. Periodontal infection is a "Silent Killer". *Stomatognathic-Jurnal Kedokteran Gigi*. 8(1): 21-26.

- Tedjasulaksana, R., 2016. Metronidasol Sebagai Salah Satu Obat Pilihan Untuk Periodontitis Marginalis. *Denpasar: Jurnal Kesehatan Gigi*. 4(1): 19-23.
- Thamrin, M., Mardhiyah, A. and Marpaung, S.E., 2015. Analisis usahatani ubi kayu (*Manihot utilissima*). *Agrium: Jurnal Ilmu Pertanian*. 18(1): 57-64.
- Vebrianto, Rian dan Zarkasih. 2018. *Tafsir Tematik Sains: Makanan dalam Islam dan Sains*. Pekanbaru: Kreasi Edukasi: 88-89.
- Widiartini, W., Siswati, E., Setiyawati, A., Rohmah, I.M. and Prastyo, E., 2013. Pengembangan usaha produksi tikus putih (*Rattus norvegicus*) tersertifikas dalam upaya memenuhi kebutuhan hewan laboratorium. *Program Kreativitas Mahasiswa-Kewirausahaan*: 2-5.
- Wira, W., Lopa, A.T. and Samad, I.A., 2018. Analisis King's Score Di Penyakit Hati Kronis Berdasarkan Fibroscan. *Indonesian Journal Of Clinical Pathology And Medical Laboratory*. 22(2): 163-167.
- Zayyan, A.B., Nahzi, M.Y.I. and Kustiyah, I. 2016. Pengaruh Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Terhadap Jumlah Sel Limfosit Pada Inflamasi Pulpa Studi In Vivo pada Gigi Molar Rahang Atas Tikus Putih Wistar Jantan. *Dentino: Jurnal Kedokteran Gigi*. 1(2): 33-38.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat *Ethical Clearance*



SURAT KETERANGAN

No.012/KKEP/FGK-UGM/EC/2022

Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:

Judul : **POTENSI EKSTRAK DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta Crantz.*) dalam PENURUNAN JUMLAH SEL RADANG KRONIS pada HATI TIKUS MODEL PERIODONTITIS**

Peneliti Utama : Sofinatur Rohibah

Penanggung Jawab Medis : drg. Zahara Meilawaty, M.Kes

Unit/Lembaga : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tempat Penelitian : 1. Balai Konservasi Tumbuhan (BKT) Kebun Raya Purwodadi, Kota Pasuruan, Jawa Timur.
2. Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember.
3. Laboratorium Mikrobiologi, Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.
4. Laboratorium Farmakologi, Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.
5. Laboratorium Histologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

Maka dengan ini menyatakan bahwa proposal penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik. Akan tetapi mengingat saat ini baru kondisi pandemi COVID-19, maka surat laik etik akan kami terbitkan setelah kondisi dinyatakan aman oleh Pemerintah.

Yogyakarta, 17 Januari 2022

Wakil Dekan Bidang Penelitian, Pengabdian
Kepada Masyarakat dan Kerjasama

Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM



drg. Trianna Wahyu Utami, MDSc., Ph.D

Prof. Dr.drg. Pinandi Sri Pudyani, SU., Sp.Ort(K)

Lampiran 2. Surat Identifikasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064 Revisi : 0
 KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI POLITEKNIK NEGERI JEMBER UPT. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531 E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : http://www.Polije.ac.id
<u>SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN</u> No: 160/PL17.8/PG/2021
Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember No: 4883/UN25.8/PG/2021 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:
Nama : Sofinatur Rohibah NIM : 181610101102 Jur/Fak/PT : Fakultas Kedokteran Gigi/ Universitas Jember
maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah: <i>Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Euphorbiales; Famili: Euphorbiaceae; Genus: Manihot; Spesies: Manihot esculenta, Crantz</i>
Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.
Jember, 15 Nopember 2021 K. UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu  Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM NIP. 197106212001121001

Lampiran 3. Surat Ijin Penelitian

3.1 Laboratorium Biomedik Hewan Coba Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

FORM 01 SURAT IJIN KERJA PENELITIAN



**BAGIAN BIOMEDIK FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**
Jl. Kalimantan no. 37-Kampus Bumi Tegal Boto Jember 68121
Telp. (0331) 333536

Form 01

Yang bertanda tangan di bawah ini bermaksud mengajukan permohonan ijin melakukan penelitian di Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember :

1. Nama lengkap (beserta gelar) : Sofinatur Rohibah
2. NIM/NIP : 181610101102
3. Alamat domisili : Perumahan Mastrup F7, Sumbersari, Jember
4. Telp/HP : 085608729741
5. Fakultas/Prodi : Fakultas Kedokteran Gigi
6. Universitas/Instansi : Universitas Jember
7. Lama Penelitian : 3 bulan
8. Judul Penelitian : Potensi Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) dalam Penurunan Jumlah Sel Radang Kronis pada Hati Tikus Model Periodontitis
9. Pembimbing : 1. drg. Zahara Meilawaty, M.Kes
2. drg. Agustin Wulan Suci D., MDSc
10. Ijin penelitian di Lab : Laboratorium Hewan Coba FKG Universitas Jember

Demikian permohonan ijin saya sampaikan dan saya bersedia mentaati semua peraturan dan ketentuan dari Bagian Biomedik FKG Universitas Jember.

Jember, 01 November 2021

Menyetujui,
Ketua Bagian Biomedik
FKG Universitas Jember

(drg. Zahara Meilawaty, M.Kes)

Pemohon

(Sofinatur Rohibah)

3.2 Laboratorium Biomedik Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jalan Kalimantan 37, Kampus Tegal Boto Jember 68121
Telepon (0331) 333536, 331743 Faksimili (0331) 331991
Laman fkg.unej.ac.id; email: fkg@unej.ac.id

Nomor : 5952 /UN25.8/PG/2021
Perihal : Ijin Penelitian

23 DEC 2021

Kepada Yth.
Kepala Laboratorium Biomedik Kedokteran Gigi
FKG Universitas Jember
Di -
Jember

Dalam rangka penelitian, maka dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan Ijin Penelitian bagi Mahasiswa kami:

- 1 Nama : Sofinatur Rohibah
- 2 NIM : 181610101102
- 3 Semester/Tahun Akademik : VII - 2021/2022
- 4 Fakultas : Kedokteran Gigi
- 5 Alamat : Perumahan Mastrip F7, Sumbersari, Jember
- 6 Lokasi Penelitian : Laboratorium Biomedik Kedokteran Gigi
FKG Universitas Jember
- 7 Judul Penelitian : Potensi Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta*
Crantz.) dalam Penurunan Jumlah Sel Radang Kronis
pada Hati Tikus Model Periodontitis
- 8 Dosen Pembimbing : drg. Zahara Meilawaty, M.Kes
drg. Agustin Wulan Suci D., MDSc
- 9 Tujuan Penelitian : Pembuatan dan pengamatan preparat jaringan
- 10 Alat yang digunakan : Peralatan pembuatan dan pengamatan preparat jaringan
(Pot jaringan, mesin processing jaringan, tissue cassette,
waterbath, base mould paraffin, microtom blade, deck
glass dan object glass, wadah baskom, staining jar,
mikroskop cahaya, kamera mikroskop optilab, slide
warmer)
- 11 Waktu : Januari - Maret 2022

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Dr. drg. Masniari Novita, M.Kes., Sp.OF (K)
NIP.196811251999032001

Sofinatur Rohibah 7 of 7

3.3 Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember



The image shows an official letter on a white background with a large, faint watermark of the Universitas Jember logo in the center. At the top left is the RSGM logo, which consists of a green heart shape with a red cross and the letters 'RSGM' below it. To the right of the logo is the text: 'KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS JEMBER RUMAH SAKIT GIGI DAN MULUT Jl. Kalimantan 37 Jember, Telp. 0331-325041'. Below this is a horizontal line. The main title of the letter is 'SURAT KETERANGAN' followed by the number 'Nomor. 2021112600027'. The text 'Yang bertanda tangan dibawah ini :' is followed by a list of personal details for Mulyaningsih, A.Md.: 'N a m a : Mulyaningsih, A.Md.', 'N I P : 197501092003122001', and 'Pangkat/Gol. : Penata Muda Tk. I / III-a'. Below this is the text 'Menerangkan dengan sesungguhnya bahwa :', followed by details for Sofinatur Rohibah: 'N a m a : Sofinatur Rohibah', 'N I M : 18161010102', and 'Asal Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember'. The next line states 'Telah melaksanakan penelitian di Laboratorium Bioscience Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember'. The final line of the letter reads 'Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.'. At the bottom right, there is a date 'Jember, 26 November 2021', the title 'Analis Medis', a blue ink signature, a blue circular stamp with the RSGM logo, and the name and NIP of the signatory: 'Mulyaningsih, A.Md. NIP. 197501092003122001'.

KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
RUMAH SAKIT GIGI DAN MULUT
Jl. Kalimantan 37 Jember, Telp. 0331-325041

SURAT KETERANGAN
Nomor. 2021112600027

Yang bertanda tangan dibawah ini :

N a m a : Mulyaningsih, A.Md.
N I P : 197501092003122001
Pangkat/Gol. : Penata Muda Tk. I / III-a

Menerangkan dengan sesungguhnya bahwa :

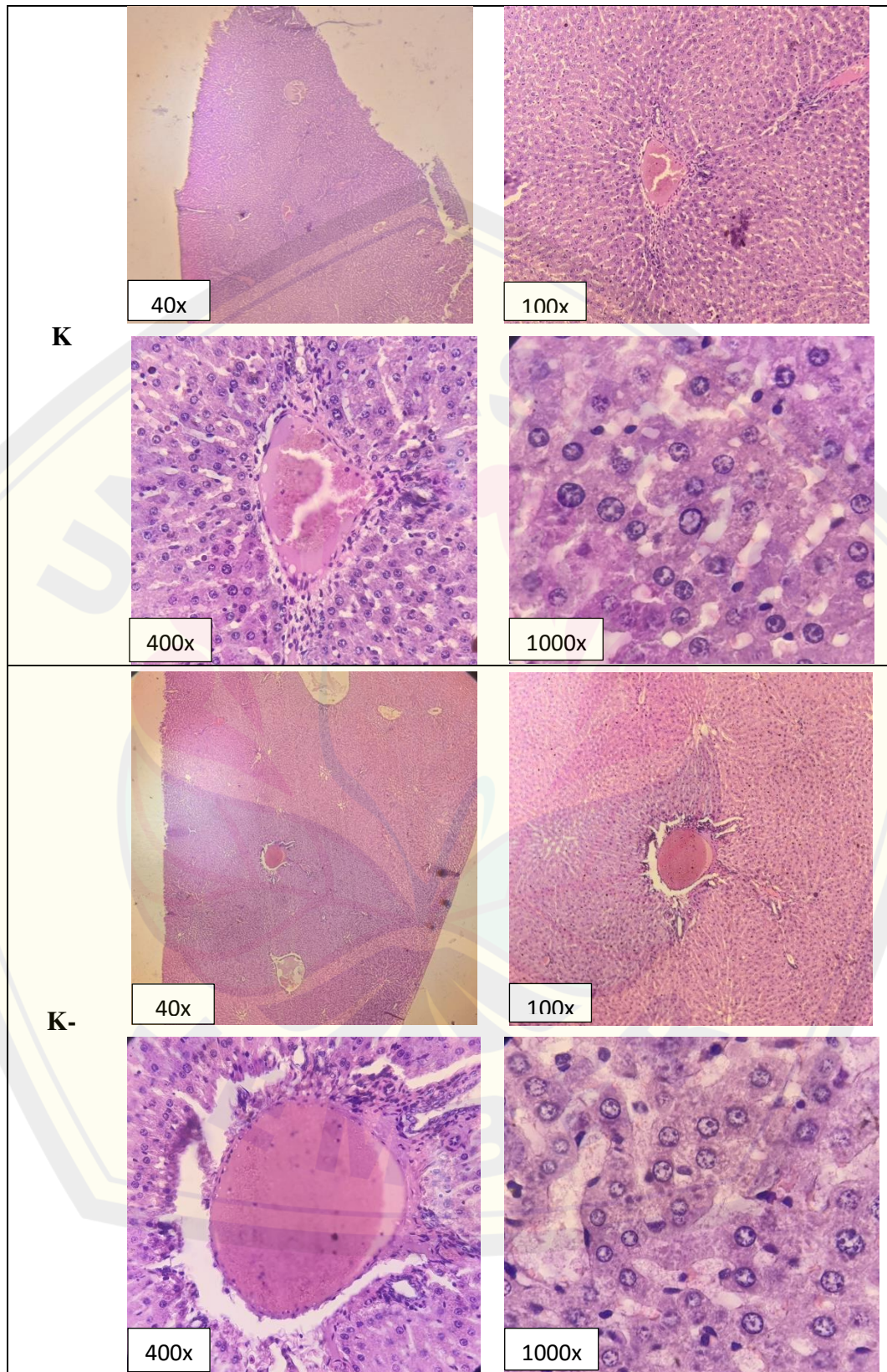
N a m a : Sofinatur Rohibah
N I M : 18161010102
Asal Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

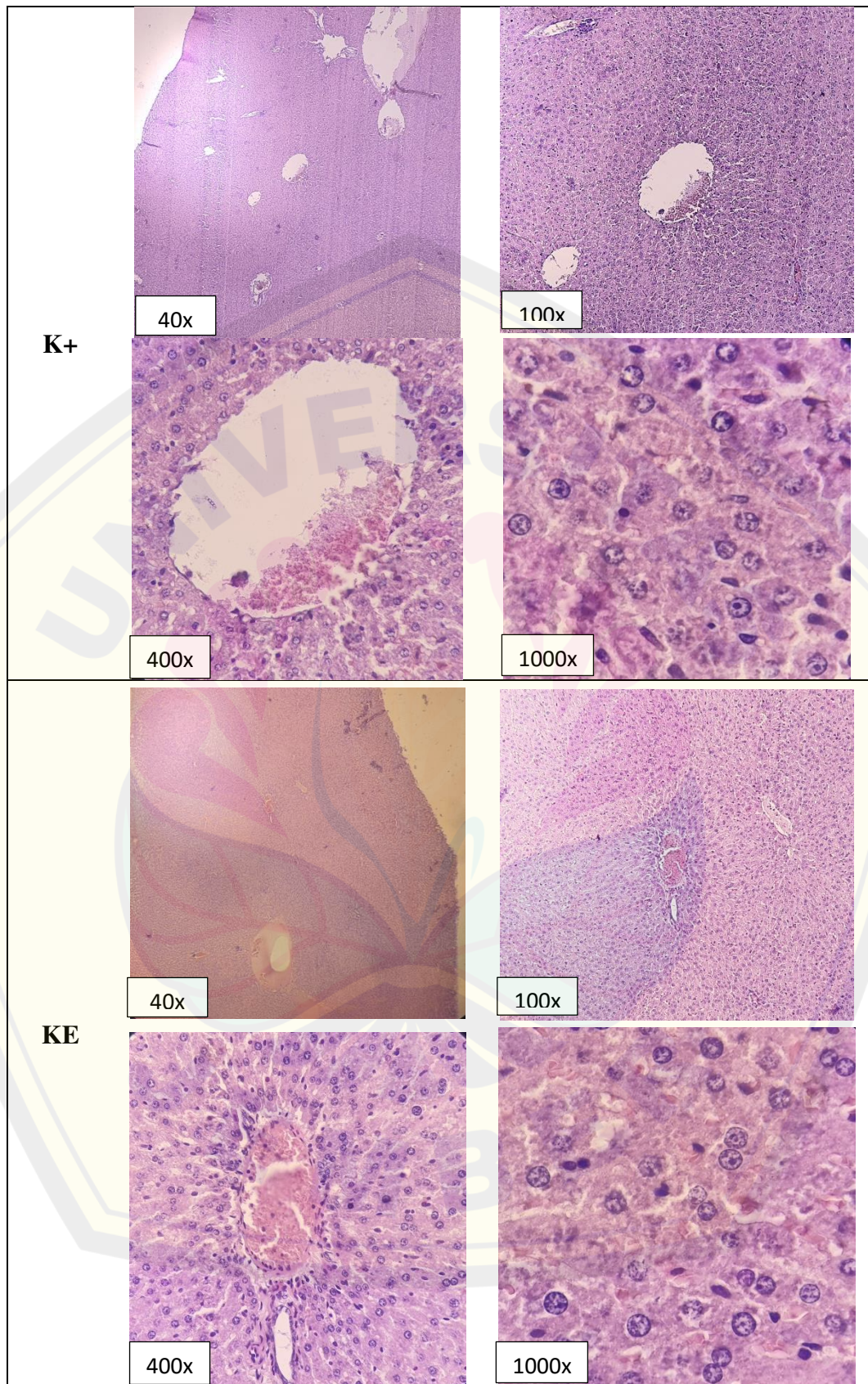
Telah melaksanakan penelitian di Laboratorium Bioscience Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 26 November 2021
Analis Medis
Mulyaningsih, A.Md.
NIP. 197501092003122001

Lampiran 4. Tabel Hasil Pengamatan





Lampiran 5. Tabel Hasil Perhitungan

K	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata-rata total	Rata-rata L	Rata-rata M
	L	M	Total	L	M	Total	L	M	Total			
K1	6	0	6	5	0	5	5	0	5	5,33	5,33	0
K2	5	0	5	5	0	5	5	0	5	5	5	0
K3	8	1	9	8	0	8	8	1	9	8,667	8	0,67
K4	7	0	7	6	1	7	7	1	8	7,33	6,67	0,67
K5	6	1	7	5	0	5	6	0	6	6	5,67	0,33
K6	6	0	6	6	0	6	6	0	6	6	6	0

K-	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata-rata total	Rata-rata L	Rata-rata M
	L	M	Total	L	M	Total	L	M	Total			
K-1	18	3	21	17	3	20	17	2	19	20	17,33	2,67
K-2	14	0	14	14	0	14	14	0	14	14	14	0
K-3	9	1	10	9	2	11	10	0	10	10,33	9,33	1
K-4	16	1	17	15	1	16	17	2	19	17,33	16	1,33
K-5	17	2	19	18	1	19	17	2	19	19	17,33	1,67
K-6	17	2	19	16	2	18	16	2	18	18,33	16,33	2

K+	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata-rata total	Rata-rata L	Rata-rata M
	L	M	Total	L	M	Total	L	M	Total			
K+1	10	0	10	9	0	9	8	0	8	9	9	0
K+2	11	1	12	9	1	10	10	1	11	11	10	1
K+3	15	0	15	13	0	13	14	0	14	14	14	0
K+4	11	2	13	10	1	11	11	1	12	12	10,67	1,33
K+5	11	1	12	10	1	11	11	1	12	11,67	10,67	1
K+6	11	0	11	10	0	10	11	0	11	10,67	10,67	0

KE	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata-rata total	Rata-rata L	Rata-rata M
	L	M	Total	L	M	Total	L	M	Total			
KE1	12	0	12	11	0	11	11	0	11	11,33	11,33	0
KE2	16	2	18	14	2	16	15	2	17	17	15	2
KE3	11	1	12	12	0	12	11	1	12	12	11,33	0,67
KE4	13	1	14	11	1	12	12	2	14	13,33	12	1,33
KE5	12	2	14	13	1	14	13	1	14	14	12,67	1,33

Lampiran 6. Hasil Uji Statistik

Tabel 6.1 Uji Statistik Deskriptif Jumlah Sel Radang Kronis
Descriptives

hasil

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					K	6		
K-	6	16,5000	3,65605	1,49257	12,6632	20,3368	10,33	20,00
K+	6	11,3889	1,65216	,67449	9,6551	13,1227	9,00	14,00
KE	5	13,5327	2,20613	,98661	10,7934	16,2719	11,33	17,00

Tabel 6.2 Uji Normalitas Jumlah Sel Radang Kronis

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
hasil	K	,278	6	,162	,904	6	,398
	K-	,257	6	,200*	,889	6	,312
	K+	,189	6	,200*	,975	6	,925
	KE	,216	5	,200*	,927	5	,579

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 6.3 Uji Homogenitas Jumlah Sel Radang Kronis

Test of Homogeneity of Variances

hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,509	3	19	,090

Tabel 6.4 Uji Statistik *One Way Anova* Jumlah Sel Radang Kronis

ANOVA

hasil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	324,084	3	108,028	18,766	,000
Within Groups	109,375	19	5,757		
Total	433,459	22			

Tabel 6.5 Uji LSD Jumlah Sel Radang Kronis

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hasil

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	K-	-10,11111*	1,38523	,000	-13,0104	-7,2118
	K+	-5,00000*	1,38523	,002	-7,8993	-2,1007
	KE	-7,14378*	1,45284	,000	-10,1846	-4,1029
K-	K	10,11111*	1,38523	,000	7,2118	13,0104
	K+	5,11111*	1,38523	,002	2,2118	8,0104
	KE	2,96733	1,45284	,055	-,0735	6,0082
K+	K	5,00000*	1,38523	,002	2,1007	7,8993
	K-	-5,11111*	1,38523	,002	-8,0104	-2,2118
	KE	-2,14378	1,45284	,156	-5,1846	,8971
KE	K	7,14378*	1,45284	,000	4,1029	10,1846
	K-	-2,96733	1,45284	,055	-6,0082	,0735
	K+	2,14378	1,45284	,156	-,8971	5,1846

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

Tabel 6.6 Uji Statistika Jumlah Limfosit

Descriptives

hasil

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					K	6		
K-	6	15,0556	3,05808	1,24846	11,8463	18,2648	9,33	17,33
K+	6	10,8333	1,68325	,68718	9,0669	12,5998	9,00	14,00
KE	5	12,4667	1,52023	,67987	10,5790	14,3543	11,33	15,00

Tabel 6.7 Uji Normalitas Jumlah Limfosit

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
hasil	K	,207	6	,200*	,918	6	,492
	K-	,288	6	,131	,798	6	,057
	K+	,373	6	,009	,817	6	,083
	KE	,248	5	,200*	,823	5	,124

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 6.8 Uji Homogenitas Jumlah Limfosit

Test of Homogeneity of Variances

hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,648	3	19	,212

Tabel 6.9 Uji Statistik *One Way Anova* Jumlah Limfosit

ANOVA

hasil					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	252,938	3	84,313	21,051	,000
Within Groups	76,096	19	4,005		
Total	329,034	22			

Tabel 6.10 Uji LSD Jumlah Limfosit

Multiple Comparisons

Dependent Variable: hasil

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	K-	-8,94444*	1,15543	,000	-11,3628	-6,5261
	K+	-4,72222*	1,15543	,001	-7,1406	-2,3039
	KE	-6,35556*	1,21183	,000	-8,8919	-3,8192
K-	K	8,94444*	1,15543	,000	6,5261	11,3628
	K+	4,22222*	1,15543	,002	1,8039	6,6406
	KE	2,58889*	1,21183	,046	,0525	5,1253
K+	K	4,72222*	1,15543	,001	2,3039	7,1406
	K-	-4,22222*	1,15543	,002	-6,6406	-1,8039
	KE	-1,63333	1,21183	,194	-4,1697	,9031
KE	K	6,35556*	1,21183	,000	3,8192	8,8919
	K-	-2,58889*	1,21183	,046	-5,1253	-,0525
	K+	1,63333	1,21183	,194	-,9031	4,1697

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

Tabel 6.11 Uji Statistik Deskriptif Jumlah Makrofag
Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					hasil			
K	6	,2778	,32773	,13380	-,0662	,6217	,00	,67
K-	6	1,4444	,91084	,37185	,4886	2,4003	,00	2,67
K+	6	,5556	,62063	,25337	-,0958	1,2069	,00	1,33
KE	5	1,0667	,76012	,33993	,1229	2,0105	,00	2,00

Tabel 6.12 Uji Normalitas Jumlah Makrofag

		Tests of Normality					
	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
hasil	K	,302	6	,094	,775	6	,035
	K-	,146	6	,200*	,988	6	,985
	K+	,315	6	,064	,781	6	,039
	KE	,237	5	,200*	,961	5	,814

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction






Tabel 6.13 Uji Kruskal-Wallis Jumlah Makrofag

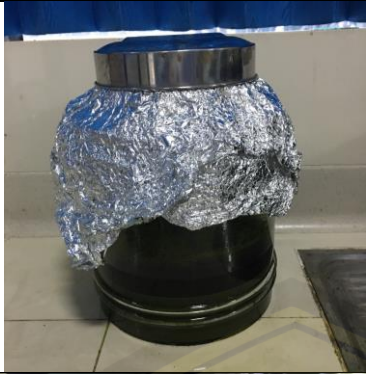



Test Statistics ^{a,b}		
Kruskal-Wallis H	df	Asymp. Sig.
hasil		
7,292	3	,063



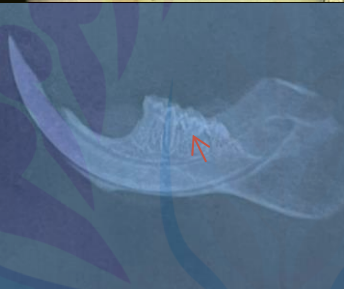
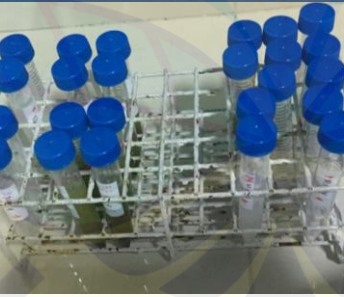

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: KELOMPOK

Lampiran 7. Foto Penelitian






	Gambar	Keterangan
		<p>Adaptasi tikus</p>
		<p>Daun singkong (<i>Manihot esculenta crantz</i>)</p>
		<p>Pengeringan daun singkong (<i>Manihot esculenta Crantz.</i>)</p>
		<p>Penghalusan dan pengayakan daun singkong</p>
		<p>Hasil serbuk kering daun singkong</p>


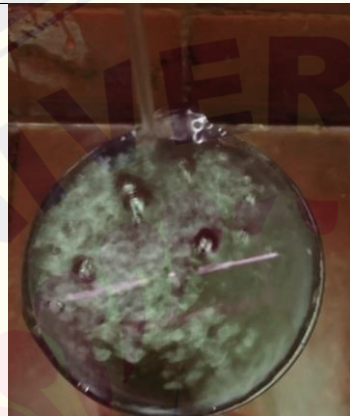


		<p>Pencampuran serbuk daun singkong dengan etanol 96%</p>
		<p>Hasil pencampuran serbuk kering dengan etanol 96%</p>
		<p>Proses evaporasi ekstrak daun singkong</p>
		<p>Hasil ekstrak daun singkong</p>




		<p>Induksi bakteri <i>P. gingivalis</i> pada tikus</p>
		<p>Gambaran klinis pasca induksi <i>P. gingivalis</i> pada tikus</p>
		<p>Gambaran radiografi pada tikus pasca induksi <i>P.gingivalis</i></p>
		<p>Pengenceran ekstrak daun singkong dengan propilen glikol dan metronidazole dengan CMC Na 0,5%</p>
		<p>Sondase ekstrak daun singkong pada tikus</p>

		<p>Sondase aquades pada tikus</p>
		<p>Sondase Metronidazole pada tikus</p>
		<p>Proses <i>euthanasia</i> pada tikus</p>
		<p>Pengambilan organ hati tikus</p>


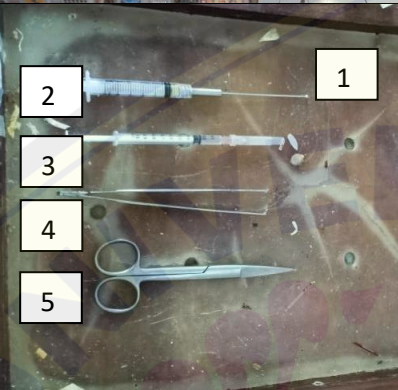


		<p>Pemotongan jaringan dan peletakan pada <i>cassete</i></p>
		<p><i>Processing</i> jaringan</p>
		<p>Proses <i>embedding</i> jaringan</p>
		<p>Pemotongan jaringan menggunakan mikrotom</p>

	Hasil pemotongan diletakan di <i>waterbath</i>
	Jaringan diletakan di <i>slide warmer</i>
	<i>Deparafinisasi</i> dengan <i>xylol</i>
	Perendaman dengan alkohol
	Perendaman dengan aquadest





		<p>Pewarnaan dengan <i>hematoxylin</i></p>
		<p>Irigasi dengan air mengalir</p>
		<p>Pewarnaan dengan eosin</p>
		<p>Dehidrasi dengan alkohol</p>



		<p><i>Clearing dengan xylol</i></p>
		<p><i>Mounting dengan entelan</i></p>
		<p>Preparat</p>

Lampiran 8. Alat dan Bahan Penelitian

Gambar	Keterangan
	<p>Kandang dan tabung tikus</p>
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Papan Fiksasi 2. Sonde lambung 3. <i>Tuberculine syringe</i> dan jarum 30 gauge 4. Pinset 5. Gunting Jaringan
	<p><i>Rat Dental Chair</i></p>
	<p>Suspensi <i>P. gingivalis</i></p>

	<p>Blender</p>
	<p>Wadah jaringan</p>
	<p>Kompor Listrik</p>
	<p>Mikrotom</p>

	<p>Mikroskop</p>
	<p>Waterbath</p>
	<p>Slide Warmer</p>
	<p>Alkohol 70 %</p>

	<p>Tube ekstrak daun singkong dan metronidazole</p>
	<ol style="list-style-type: none">1. <i>Xylol</i>2. Alkohol 95% dan 100 %3. Pewarna HE4. Alkohol 95% dan 100%5. <i>Xylol</i>