

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Luka pada mukosa oral sering dijumpai sebagai masalah klinis dalam kedokteran gigi termasuk pada perawatan prostodontik. Penggunaan gigi tiruan lepasan maupun cekat bertujuan memulihkan fungsi mastikasi dan estetika, tetapi berpotensi menimbulkan trauma pada jaringan lunak rongga mulut (Utama et al., 2020). Luka mukosa oral dibidang prostodonsia meliputi lesi terkait dengan penggunaan gigi tiruan, trauma mekanis, atau intervensi bedah seperti ekstraksi gigi pada perawatan gigi tiruan immediate dan prosedur bedah implant (Bogdan-Andreescu et al., 2024). Gigi tiruan lepasan, baik sebagian (*partial*) maupun lengkap (*complete*), cenderung membuat lingkungan rongga mulut lebih rentan terhadap perkembangan lesi mukosa oral. Frekuensi lesi mukosa oral lebih tinggi pada pasien yang menggunakan gigi tiruan lepasan dibandingkan yang tidak menggunakan. Luas area mukosa oral yang tertutup gigi tiruan, trauma mekanis, ketidaksesuaian gigi tiruan, kebersihan rongga mulut yang tidak adekuat, penggunaan gigi tiruan secara terus-menerus, dan durasi penggunaan gigi tiruan merupakan faktor risiko terjadinya lesi mukosa oral. Faktor-faktor risiko ini dapat memicu lesi mukosa oral yang khas antara lain *denture stomatitis*, *angular cheilitis*, *epulis fissuratum*, dan ulkus traumatik (Özkan et al., 2020).

Trauma fisik dapat menyebabkan ulkus traumatik dan epulis fissuratum. Reaksi alergi dapat memicu dermatitis kontak pada basis gigi tiruan, sedangkan faktor mikroba berperan dalam *denture stomatitis* dan *angular cheilitis*. *Denture-associated erythematous candidiasis* merupakan lesi inflamasi mukosa mulut yang umum terjadi pada area yang bersentuhan dengan permukaan dalam gigi tiruan. Lesi ini biasanya berkaitan dengan infeksi *Candida*, meskipun faktor lain seperti kebersihan mulut dan gigi tiruan yang buruk, pemakaian gigi tiruan saat tidur, serta gigi tiruan yang tidak pas juga berperan. *Angular cheilitis* adalah kondisi kronis berupa fisura eritematosa di sudut mulut. Kerutan di area komisura dapat menyebabkan penumpukan saliva, menciptakan kelembapan kronis yang memicu *angular cheilitis*. Kondisi ini sering terjadi akibat hilangnya dimensi vertikal pada pasien pemakai gigi tiruan (Al-Johani, 2019). Ulkus traumatik akibat penggunaan gigi tiruan lengkap lepasan merupakan salah satu komplikasi yang paling sering dialami pasien. Ulkus traumatik lebih sering ditemukan pada jaringan di bawah gigi tiruan lengkap mandibula dibandingkan dengan gigi tiruan lengkap rahang atas. Lokasi ulkus yang paling umum pada rahang atas mencakup frenulum labialis, frenulum bukalis, tuberositas maksilaris, ridge edentulous, sulkus vestibulum di antara frenulum labialis dan bukalis, serta sulkus vestibulum antara tuberositas maksilaris. Sementara pada rahang bawah, daerah yang mengalami iritasi meliputi area retromilohioid, retromolar pas, sulkus alingualis, ridge edentulous, sulkus vestibulum antara frenulum labialis dan bukalis, serta sulkus vestibulum di area bukal shelf. Adanya ulkus ini dapat mengganggu kenyamanan hingga menyebabkan pasien tidak lagi menggunakan gigi tiruan. Oleh karena itu, evaluasi dan penanganan hingga menyebabkan pasien tidak lagi menggunakan gigi tiruan merupakan bagian penting dalam perawatan yang diberikan oleh dokter gigi (Khan et al., 2020). Pencegahan dan penanganan ulkus traumatik terkait gigi tiruan meliputi adjustment



batas dan keseimbangan oklusal, edukasi higienitas mandiri, serta *follow-up* berkala untuk evaluasi penyembuhan (Jivanescu et al., 2015).

Penelitian Özkan dkk. di Turki mengungkapkan bahwa 46,2% pengguna gigi tiruan mengalami lesi terkait pemakaian gigi tiruan. Dari seluruh kasus lesi yang ditemukan, *denture stomatitis* merupakan komplikasi paling dominan (23,9%), diikuti oleh ulkus traumatik (12,9%), epulis fissuratum (9,9%), dan angular cheilitis (5,8%)(Özkan et al., 2020). Penelitian lain oleh Oubbaih dkk. di Turki yang melibatkan 132 pasien menemukan bahwa 39% subjek (52 pasien) menunjukkan 59 lesi mukosa. Distribusi lesi menunjukkan ulkus traumatik sebagai jenis paling umum (34%), diikuti oleh *denture stomatitis* (27%) dan *flabby ridge* (20%). Temuan ini mengindikasikan bahwa trauma mekanis akibat gigi tiruan (ulkus traumatik) merupakan komplikasi yang sering dijumpai (Oubbaih et al., 2025).

Prevelensi *denture stomatitis* di Indonesia hingga kini belum terdapat data resmi dari lembaga pemerintah. Studi Lahama dkk (2015) di Manado menunjukkan sebanyak 83,95% responden mengalami tanda *denture stomatitis* dan sebagian besar (40,74%) responden telah menggunakan gigi tiruan selama lebih dari lima tahun (Lahama et al., 2015). Penelitian lain oleh Janadewi dkk (2022) di Bali melaporkan 7,7% responden pengguna gigi tiruan mengalami ulser traumatik dan sebanyak 2,6% teridentifikasi mengalami *denture stomatitis* (Janadewi IGA et al., 2022). Luka traumatik pada gigi tiruan sebagian lepasan juga dapat disebabkan oleh klamer (*clasp*) yang memberikan gaya retensi pada gigi tiruan. Klamer ini berisiko menyebabkan trauma mukosa khususnya penetrasi klamer ke jaringan lunak apabila klamer gagal terlepas sempurna dari gigi penyangga (*abutment*). Luka akibat penetrasi klamer pada mukosa mulut biasanya bersifat superfisial dan secara umum dianggap sebagai trauma mukosa yang relatif ringan. Penelitian Iijima dkk, melaporkan luka akibat klamer pada mukosa mulut lebih sering terjadi di lidah terutama pada gigi tiruan *free end* mandibula dengan klamer pada gigi premolar atau kaninus sebagai faktor risiko utama untuk trauma ini (Iijima et al., 2023).

Mukosa oral sangat rentan terhadap luka, namun proses penyembuhannya berlangsung lebih cepat dengan pembentukan jaringan parut yang minimal dibandingkan kulit (Bogdan-Andreescu et al., 2024). Proses penyembuhan luka mukosa oral terdiri dari empat tahap yang tumpang tindih meliputi fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, serta maturasi dan remodeling. Keseluruhan mekanisme penyembuhan ini, mencakup reaksi inflamasi, regenerasi jaringan epitel, serta pembentukan jaringan granulasi, membentuk suatu siklus biokimiawi yang dimodulasi oleh berbagai mediator sitokin dan *growth factor* yang berdifusi ke area luka. Penyembuhan luka dimulai dengan aktivasi sistem hemostasis yang menghasilkan pembentukan matriks fibrin. Tahap ini diikuti oleh rekrutmen sel-sel imun seperti neutrofil, makrofag, dan limfosit ke area luka melalui sirkulasi. Fase selanjutnya ditandai dengan proliferasi aktif fibroblas pada hari ketujuh Fibroblas berperan penting dalam khususnya selama proses angiogenesis, epitelisasi, dan sintesis fibroblas diatur oleh berbagai *growth factor*, salah satunya adalah *FGF* (Mulawarmanti et al., 2024).



Growth Factor (FGF) berperan penting dalam mengatur hampir keseimbangan dan pembentukan organ, serta pemeliharaan jaringan

setelah kelahiran dan berbagai fungsi fisiologis. FGF memiliki aktivitas tirosin kinase yang mendorong proliferasi dan diferensiasi fibroblas. FGF merangsang proliferasi dan migrasi berbagai jenis sel utama yang terlibat dalam penyembuhan luka termasuk sel endotel kapiler, sel endotel vaskular, fibroblas, keratinosit, sel epitel, serta jenis sel khusus seperti kondrosit dan mioblas. FGF juga berperan krusial dalam angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru), yang mendukung revaskularisasi jaringan, penyembuhan luka, dan produksi sel darah. FGF-2 merupakan salah satu anggota FGF yang memiliki potensi sekitar 10 kali lebih kuat sebagai stimulan angiogenik dibandingkan *growth factor* lainnya. FGF-2 mempercepat penyembuhan luka dengan meningkatkan kepadatan fibroblas dan kapiler sehingga ekspresi FGF-2 merupakan penanda pembentukan fibroblas (Akita et al., 2013; Sivamani et al., 2007).

Produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) selama proses penyembuhan luka juga diperlukan sebagai pertahanan terhadap bakteri patogen. Paparan ROS yang berlebihan dapat menginduksi stres oksidatif dan mengganggu penyembuhan luka. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan stres oksidatif lokal menghambat penyembuhan luka (Wang et al., 2023). Penyembuhan luka dapat didukung dengan pemberian obat-obatan konvensional untuk mencegah terjadinya infeksi bakteri patogen, mengurangi rasa nyeri, dan mengurangi inflamasi. Obat konvensional tersebut memiliki komposisi kimia yang lebih jelas dan efektivitas yang terukur, tetapi penggunaan obat ini seringkali diikuti dengan efek samping yang tidak diinginkan termasuk masalah resistensi terhadap antibiotik. Pengembangan tanaman herbal menjadi alternatif obat yang memiliki efek samping yang minimal karena terbuat dari bahan alami. Beberapa penelitian memanfaatkan tanaman herbal sebagai terapi penyembuhan luka melalui kemampuan antiinflamasi, antimikroba, dan antioksidan (Vitale et al., 2022). Penelitian Todorovic dkk. melaporkan potensi anti-inflamasi dan antioksidan kurkumin menyebabkan penyembuhan luka yang lebih cepat dan lebih baik pada tikus Wistar (Todorović et al., 2022). Penelitian Machmud dkk menunjukkan efektivitas aplikasi *Chlorella vulgaris* meningkatkan proses penyembuhan luka di telinga babi melalui peningkatan jumlah sel fibroblas (Machmud et al., 2020). Penelitian lain oleh Assar dkk. mengenai aplikasi topikal ekstrak akar manis (Licorice) pada luka kulit tikus menunjukkan penyembuhan melalui efek antiinflamasi dan antioksidatif. Ekstrak licorice meningkatkan regulasi beberapa gen kunci yang terkait dengan angiogenesis, termasuk *fibroblast growth factor* - 2 (FGF2), Ini menunjukkan bahwa ekstrak licorice memainkan peran penting dalam memodulasi jalur molekuler yang terlibat dalam penyembuhan luka (Assar et al., 2021).

Selain tanaman tersebut, salah satu tumbuhan kayu putih di Indonesia, *Melaleuca leucadendron* mengandung senyawa 1,8 sineol yang memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi, antioksidan, antifungal, dan antibakteri (Dhakad et al., 2018; Hoch et al., 2023). Minyak atsiri dari daun *Melaleuca leucadendron* kaya akan senyawa 1,8



ponen utama berkisar 57,8%-76% (Arisandi et al., 2023).
ga dikenal sebagai eukaliptol. Penelitian in vitro oleh Wibowo dkk
< atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendra*) pada semua
25%, 1,25%, 2,5%, dan 5%) memberikan aktivitas antibakteri
us mutans tanpa perbedaan signifikan secara statistik (Wibowo et
lain oleh Falci dkk menunjukkan minyak atsiri daun *Melaleuca sp.*
% mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* secara signifikan

dan 0,4% efektif membunuh *S. aureus* resisten antibiotik (efek bakterisidal) (Falci et al., 2015).

Penelitian Firmansyah dkk. menunjukkan formulasi emulgel minyak kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) dengan konsentrasi 0,42% menunjukkan efek analgesik yang signifikan, ditandai dengan persentase proteksi terhadap geliat mencit (*Mus musculus*) yang lebih tinggi secara statistik dibandingkan dengan penggunaan minyak kayu putih dalam bentuk murni (Firmansyah et al., 2023). Mohammed dkk. melaporkan pemberian topikal salep eukaliptol secara signifikan mempercepat penyembuhan luka bakar kulit tikus dengan meningkatkan kadar enzim antioksidan, menurunkan biomarker stres oksidatif, menurunkan biomarker proinflamasi, serta meningkatkan biomarker proangiogenik dan antiinflamasi (Mohammed et al., 2022). Studi yang dilakukan oleh Polanunu, Fachry, dan Adama (2024) menunjukkan gel ekstrak daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) dengan konsentrasi 0,7% efektif mempercepat penyembuhan lesi ulserasi oral melalui aktivitas antiinflamasi dengan menurunkan ekspresi Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6), dan Interleukin-1 β (IL-1 β) (Polanunu Siti Magfirah, 2023).

Pemanfaatan minyak atsiri dari daun *Melaleuca leucadendron* dalam rongga mulut khususnya pada proses penyembuhan luka mukosa oral perlu dikaji lebih lanjut dalam pengembangan alternatif terapi berbahan dasar herbal. Penelitian sebelumnya telah membuktikan ekstrak daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) mampu menekan inflamasi pada luka mukosa oral, namun pengaruhnya terhadap fase proliferasi penyembuhan luka masih perlu dikaji terutama dalam modulasi FGF-2 yang berperan sentral dalam angiogenesis, diferensiasi fibroblas, dan sintesis kolagen. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) terhadap ekspresi FGF-2 dalam fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral.

1.2. Landasan Teori

1.2.1. Struktur Mukosa Oral

Mukosa oral merupakan membran mukosa yang melapisi struktur dalam rongga mulut, berupa jaringan lunak basah yang membentang dari perbatasan vermillion bibir dan mukosa labialis di bagian anterior hingga lipatan palatofaringeus di bagian posterior. Mukosa oral terdiri dari tiga lapisan secara histologis meliputi epitel skuamosa berlapis (epitel oral) dengan ketebalan dan tingkat keratinisasi yang bervariasi tergantung lokasi dan kebutuhan fungsional, lamina propria sebagai jaringan ikat di bawahnya, serta submukosa berupa jaringan ikat irregular padat yang terletak di lapisan terdalam. Submukosa tidak terdapat pada beberapa area rongga mulut, sehingga lamina propria



Optimized using
trial version
www.balesio.com

da tulang atau otot (Brizuela and Winters, 2023).

berlapis tersusun dari keratinosit dengan sedikit sel nonkeratinosit, ikan menjadi dua jenis berdasarkan ada tidaknya keratinisasi, yaitu apik terkeratinisasi dan tidak terkeratinisasi (Gambar 1.1.). Epitel ki empat lapisan sel yang tersusun secara berurutan dari lapisan ar, yakni stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum, . Jenis epitel ini terdapat pada mukosa mastikatori rigid yang terikat

erat pada tulang dasar dan ditemukan pada gingiva, palatum durum, dan permukaan dorsal lidah. Karakteristik ini memungkinkan mukosa mastikatori mampu menahan tekanan selama proses pengunyahan. Sebaliknya, epitel tidak terkeratinisasi terdiri atas stratum basale, stratum spinosum, stratum intermedium, dan lapisan superfisial, yang melapisi mukosa bergerak di dalam rongga mulut. Mukosa ini dikenal dengan mukosa *lining* atau *moveable* meliputi mukosa bukal, palatum molle, bibir, mukosa alveolar, dasar mulut, fornix vestibulum, permukaan ventral lidah, dan mukosa sublingual. Epitel mukosa oral secara umum memiliki ketebalan bervariasi antara 40-50 lapisan sel, dengan ketebalan spesifik pada palatum durum dan molle, permukaan ventral lidah, serta gingiva berkisar 100-200 μm , sementara mukosa bukal memiliki ketebalan lebih besar, yaitu 500-600 μm (Brizuela and Winters, 2023; Pan et al., 2024)

1.2.1.1. Epitel Terkeratinisasi

Sel-sel pada epitel terkeratinisasi mengalami proses diferensiasi disertai akumulasi lipid seiring pembesaran ukuran sel selama migrasi ke lapisan superfisial. Stratum spinosum mengandung organel kecil berbentuk granula berlapis membran (granula lamellar) dengan komponen lipid spesifik. Granula lamellar ini bermigrasi ke bagian apikal sel keratinosit ketika sel mencapai zona transisi antara stratum granulosum dan stratum korneum. Proses ini diikuti oleh fusi membran organel dengan membran plasma sehingga menyebabkan pelepasan lembaran lipid ke ruang ekstraseluler melalui mekanisme eksositosis khusus yang dikenal sebagai sitosis. Lapisan lipid ekstraseluler ini terdiri atas campuran lipid nonpolar seperti seramid, kolesterol, dan asam lemak. Komponen lipid ini mengisi sekitar 50% ruang antarsel di stratum korneum, membentuk struktur lamellar yang luas, sementara 50% sisanya merupakan area perlekatan desmosom (Pan et al., 2024).

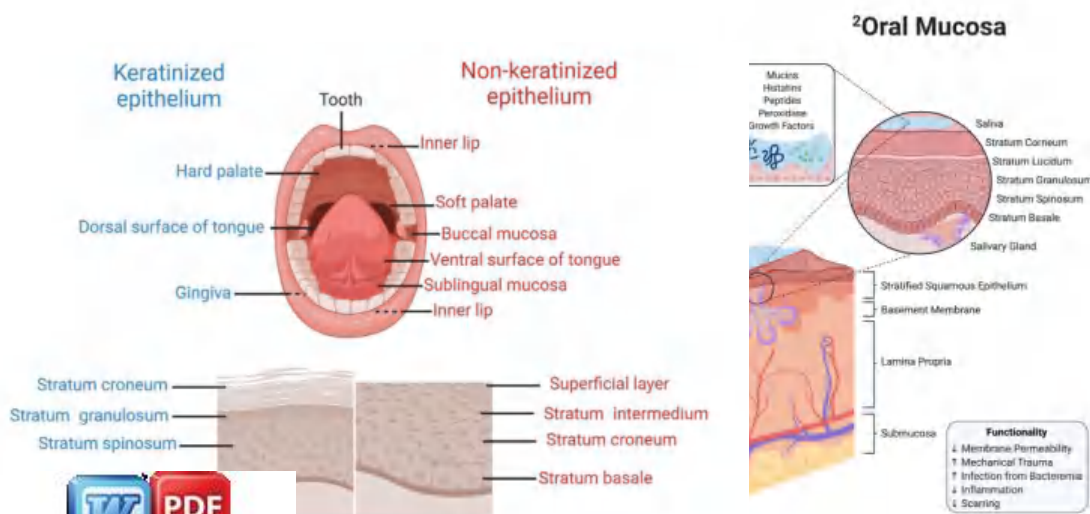


Fig. 1.1. Anatomi dan histologi struktur rongga mulut

Zhang X, Xie W, et al. Revisited and innovative perspectives of oral ulcer: from local treatment. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* dan illett NJ, et al. Oral Wound Healing Models and Emerging Regenerative (2021)

1.2.1.2. Epitel Tidak Terkeratinisasi

Epitel tidak terkeratinisasi menunjukkan komposisi lipid yang berbeda dan didominasi oleh molekul polar seperti ester kolesterol, kolesterol bebas, dan glikosfingolipid. Jumlah granula lamellar pada epitel ini jauh lebih sedikit dibandingkan dengan epitel terkeratinisasi. Granula yang ada mengandung lapisan lipid dengan ketebalan minimal dan cenderung membentuk struktur amorf daripada susunan lamellar yang teratur. Karakteristik struktural yang unik ini menjadi penyebab utama permeabilitas epitel tidak terkeratinisasi lebih tinggi dibandingkan mukosa terkeratinisasi. Permeabilitas juga dapat dipengaruhi oleh ketebalan epitel dan struktur histologisnya (Pan et al., 2024).

1.2.2. Luka atau Lesi Mukosa Oral Akibat Penggunaan Gigi Tiruan

Risiko terjadinya lesi mukosa oral akibat penggunaan gigi tiruan tetap dapat terjadi meskipun teknik pembuatan gigi tiruan secara klinis dan laboratoris dilakukan secara cermat. Desain protesa yang tidak optimal, kebersihan rongga mulut yang buruk, dan kebiasaan memakai gigi tiruan lepasan secara terus-menerus tanpa jeda dapat memicu perubahan patologis pada jaringan mukosa (Filgueiras et al., 2016). Manifestasi klinis yang sering muncul antara lain denture stomatitis, ulkus traumatikus, angular cheilitis, dan epulis fissuratum (da Silva et al., 2011). Lesi tersebut umumnya berkembang secara insidius dan tanpa gejala sehingga banyak pasien tidak menyadari kondisi ini dan terlambat mendapatkan penanganan. Lesi dapat berkembang menjadi lebih parah dan membutuhkan terapi yang lebih kompleks jika tidak segera ditangani (Filgueiras et al., 2016). Cidera akibat *clasp* pada gigi tiruan sebagian luka juga dapat menyebabkan luka mukosa oral (Iijima et al., 2023)

1.2.2.1 Denture Stomatitis

Denture stomatitis (DS) adalah proses inflamasi pada area mukosa mulut yang berada di bawah gigi tiruan lepasan dan dapat memengaruhi 15% hingga lebih dari 70% pengguna gigi tiruan (Rajput C et al., 2019). Kondisi ini terutama memengaruhi mukosa palatal dan memiliki korelasi kuat dengan kebersihan gigi tiruan yang buruk. Berbagai faktor etiologi saling berkaitan menyebabkan kondisi ini meliputi infeksi mikroorganisme seperti *Candida albicans*, dan bakteri anaerob Gram-negatif, gangguan fungsi kelenjar ludah, trauma akibat pemakaian gigi tiruan yang tidak pas, kebersihan rongga mulut yang buruk, dan penurunan sistem imun akibat penyakit sistemik. strain *Candida albicans* yang membentuk hifa lebih sering teridentifikasi karena kemampuannya melekat pada epitel, merusak integritas jaringan, dan melakukan invasi. Jika tidak ditangani dengan tepat, kondisi ini berpotensi berkembang menjadi infeksi sistemik, khususnya pada pasien dengan sistem imun yang lemah (Oliveira et al., 2020).

Newton mengklasifikasikan lesi stomatitis gigi tiruan menjadi tiga tipe klinis



tasinya: (1) Tipe I berupa inflamasi lokal dengan titik-titik hiperemis, an eritema difus, dan (3) Tipe III ditandai dengan hiperplasia papiler .). Secara karakteristik, eritema muncul terbatas pada area mukosa basis gigi tiruan, dengan predileksi utama di palatum rahang atas <tor oklusi yang kurang optimal dan terbatasnya self-cleaning nya, lesi ini jarang terjadi di rahang bawah karena efek protektif h baik dan mobilitas jaringan dasar (Rajput C et al., 2019).



Gambar 1.2. Gambaran klinis *denture stomatitis* (A) Tipe 1 dengan hiperemia *pinpoint*, (B) Tipe 2 menunjukkan eritema difus, (C) Tipe 3 ditandai hiperplasia papiler

(Sumber: da Silva HF, Martins-Filho PRS, Piva MR. Denture-related oral mucosal lesions among farmers in a semi-arid Northeastern region of Brazil. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*.2011)

Penatalaksanaan stomatitis gigi tiruan melibatkan pendekatan terapi konservatif dan bedah. Terapi konservatif meliputi menghentikan penggunaan gigi tiruan, meningkatkan kebersihan mulut dan gigi tiruan, menghaluskan area kasar pada permukaan gigi tiruan, atau menggunakan tissue conditioner. Terapi farmakologis menggunakan agen antimikotik seperti nistatin dalam bentuk obat kumur atau pemberian sistemik fluconazole, mikonazol, dan ketokonazol efektif mengatasi infeksi *Candida albicans*. Pada kasus berat dengan hiperplasia jaringan yang ekstensif, intervensi bedah seperti krioterapi diperlukan untuk mengangkat jaringan patologis (Rajput C et al., 2019).

1.2.2.2 Ulkus traumatik (*Sore spot*)

Ulkus traumatik pada mukosa oral merupakan komplikasi yang sering terjadi akibat pemakaian gigi tiruan, baik yang baru dipasang maupun yang sudah lama digunakan tetapi tidak adaptif. Secara klinis, lesi ini muncul dalam waktu 1-2 hari setelah pemakaian gigi tiruan baru, dengan karakteristik berupa ulkus yang mengenai epitel dan jaringan ikat di bawahnya, ditutupi jaringan nekrotik, serta dikelilingi zona eritema (Gambar 1.3.) Ukuran lesi bervariasi antara 1-8 mm dengan bentuk oval hingga ireguler, sedangkan warnanya dapat bervariasi dari merah tua pada kasus moderat hingga putih dengan halo eritema pada kasus yang lebih berat (Jovanović et al., 2024; Rajput C et al., 2019). Patogenesis utamanya melibatkan ketidaksesuaian mikrorelief antara jaringan pendukung dengan permukaan basis gigi tiruan, yang menyebabkan iritasi mekanis kronis. Secara simptomatik, pasien biasanya mengeluhkan nyeri lokal yang dapat menjalar ke jaringan sekitarnya, sehingga seringkali menimbulkan ketidaknyamanan dan menyebabkan pasien enggan menggunakan gigi tiruannya. Masa penyembuhan umumnya berlangsung selama 10-15 hari (Jovanović et al., 2024)

Lokasi khas ulkus traumatik akibat gigi tiruan meliputi mukosa oral yang tidak bergerak atau daerah mukosa bergerak selama aktivitas fungsional. Faktor etiologi ulkus traumatik meliputi gigi tiruan yang terlalu panjang, area kasar pada permukaan dalam gigi tiruan di bawah gigi tiruan, atau penurunan resistensi mukosa terhadap tekanan lainnya pada diabetes melitus, defisiensi vitamin, xerostomia, dan faktor lainnya (Rajput C et al., 2019) Penatalaksanaan ulkus traumatik akibat gigi tiruan meliputi pendekatan mekanis dan farmakologis. Tahap awal melibatkan koreksi faktor etiologi prostodontik meliputi pengurangan sayap gigi tiruan yang berlebihan, menghilangkan tekanan berlebih, menghaluskan area basis yang



kasar, dan penyesuaian oklusal untuk mencapai distribusi beban mastikasi yang optimal. Terapi simptomatik diindikasikan untuk mengontrol nyeri berupa aplikasi topikal gel kombinasi analgesik-antiseptik. Ulkus traumatik akibat gigi tiruan umumnya sembuh dalam beberapa hari setelah penyebabnya dihilangkan (Rajput C et al., 2019).



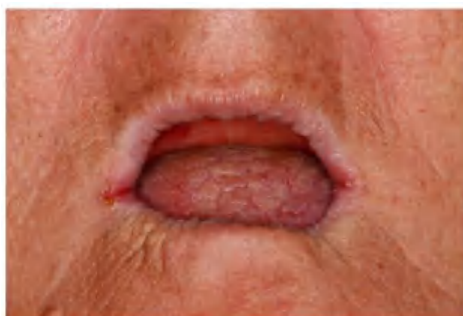
Gambar 1.3. Ulkus traumatik akibat gigi tiruan pada permukaan lingual ridge alveolar mandibula

(Sumber: Jovanović M, Janković S, Okičić N, et al. Factors affecting the healing of decubital lesions in patients wearing newly made dentures. J Dent Sci. 2024)

1.2.2.3 Angular cheilitis (Perleche)

Angular cheilitis merupakan suatu kondisi inflamasi kronis pada sudut mulut (komisura labialis) yang bersifat multifaktorial. Kondisi ini secara klinis bermanifestasi sebagai erosi, fisura, atau ulserasi disertai pembentukan krusta kekuningan di satu kedua sudut mulut (Gambar 1.4.). Pasien umumnya mengeluhkan rasa nyeri, sensasi terbakar, dan kesulitan membuka mulut. Pemeriksaan fisik menunjukkan karakteristik lesi yang terbatas pada junction mukokutan dengan tanda-tanda inflamasi kronis seperti eritema, deskuamasi, dan fisura yang dalam (Oliveira et al., 2020; Rajput C et al., 2019). Kondisi ini umumnya berkaitan dengan satu atau lebih faktor penyebab, meliputi: agen infeksius (*Staphylococcus aureus*, *Streptococci*, dan *Candida*), penyakit dermatologis, defisiensi nutrisi, imunodefisiensi, hipersalivasi, serta faktor mekanis yang menyebabkan berkurangnya dimensi vertikal oklusal (DVO) (Oliveira et al., 2020). Diagnosis klinis hanya dapat dibuat setelah menyingkirkan lesi lain dengan gambaran serupa, seperti herpes. Lesi jarang hilang sepenuhnya dan biasanya kambuh dalam bentuk ringan. Penatalaksanaan lesi ini mengarah pada penghilangan etiologi dan dapat meliputi pembuatan gigi tiruan baru dengan dimensi vertikal yang benar, suplementasi nutrisi, dan pengobatan kandidiasis oral dengan obat antijamur oral (Ketoconazole 200 mg sekali sehari selama 1-2 minggu, Fluconazole 100 mg sekali sehari selama 1-2 minggu) (Rajput C et al., 2019).





Gambar 1.4. Gambaran klinis *angular cheilitis* ditandai dengan maserasi, eritema, dan pembentukan krusta pada sudut mulut.

(Sumber: Oliveira LE De, Ito FA, Takahama-Junior A, et al. Oral Mucosal Lesions Associated with the Use of Dentures: Case Series. Article J Business Techn. 2020)

1.2.2.4. Epulis fissuratum

Epulis fissuratum merupakan lesi reaktif fibrosa jinak yang berkembang sebagai respons terhadap iritasi mekanis kronis dari gigi tiruan yang tidak adaptif. Lesi ini secara klinis muncul sebagai massa jaringan fibrosa hiperplastik berbentuk lipatan tunggal atau multipel di sepanjang vestibulum alveolar (Gambar.1.5). Sayap gigi tiruan yang tidak pas akan membentuk fisura pada jaringan tersebut. Lesi memiliki konsistensi keras dan fibrosa, dengan ukuran yang bervariasi mulai dari kecil (<1 cm) hingga besar yang dapat melibatkan seluruh panjang vestibulum. Pada beberapa kasus, terutama yang mengalami trauma berulang atau infeksi sekunder, lesi dapat tampak eritematous dan terulserasi (Rajput C et al., 2019). Lesi ini secara histologis menunjukkan jaringan ikat fibrosa padat dengan infiltrat inflamasi kronis derajat bervariasi (Oliveira et al., 2020). Penatalaksanaan kondisi ini memerlukan koreksi prostodontik melalui pengurangan gigi tiruan dan pada kasus dengan hiperplasia jaringan yang signifikan, dapat dipertimbangkan eksisi bedah jaringan hiperplastik untuk mengembalikan kontur anatomis yang normal (Rajput C et al., 2019).



Gambar 1.5. Epulis fissuratum pada vestibulum anterior maksila

(Sumber: Oliveira LE De, Ito FA, Takahama-Junior A, et al. Oral Mucosal Lesions Associated with the Use of Dentures: Case Series. Article J Business Techn. 2020)



osa oral yang disebabkan *clasp* gigi tiruan

Jaringan lepasan umumnya dilengkapi dengan *clasp* yang memberikan pengikatan gigi tiruan. Pemakaian gigi tiruan baru ke dalam rongga mulut dapat menimbulkan berbagai komplikasi dan trauma, termasuk perdarahan. *Clasp* yang

tidak ideal dapat menyebabkan trauma mekanis berulang pada mukosa mulut, mulai dari iritasi ringan hingga ulserasi. Cedera penetrasi *clasp* pada mukosa mulut umumnya bersifat superfisial dan dianggap sebagai trauma mukosa relatif ringan, sehingga etiologi pasti dan detailnya belum diteliti secara mendalam. Patofisiologis cedera ini melibatkan proses dinamik akibat tekanan kronis dari *clasp* menimbulkan iskemia jaringan lokal yang diikuti respons inflamasi dan kerusakan epitel. Penetrasi kawat penjepit ke mukosa mulut dapat terjadi ketika *clasp* tidak terlepas dari gigi penyangga (abutmen) dengan cukup mudah (Gambar 1.6.) (Iijima et al., 2023).



Gambar 1. 6 Cedera mukosa oral akibat clasp

(Sumber: Iijima Y, Yamada M, Nakamura S, et al. Denture Clasp Injury of the Oral Mucosa. Gerontol Geriatr Med. 2023)

1.2.3. Penyembuhan Luka Mukosa Oral

1.2.3.1. Proses penyembuhan luka mukosa oral

Proses penyembuhan luka merupakan mekanisme kompleks dan dinamis yang melibatkan regenerasi serta restorasi struktur seluler dan lapisan jaringan yang mengalami kerusakan. Proses penyembuhan luka dapat dibagi menjadi tiga atau empat fase berbeda. Sebagian literatur menyebutkan tiga fase utama meliputi fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling, sementara klasifikasi lain membaginya menjadi empat tahap yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodeling (Gambar 1.7.). Perbedaan klasifikasi ini mencerminkan kompleksitas proses biologis yang terjadi selama penyembuhan luka di rongga mulut (Alzahrani et al., 2024).

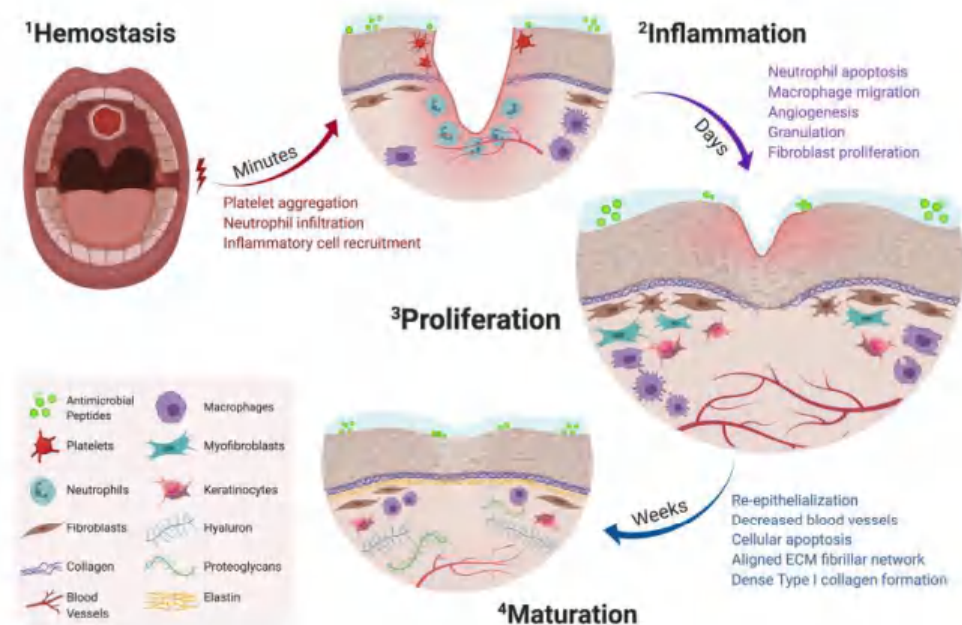
a. Fase hemostasis

Hemostasis terjadi segera setelah terjadi luka untuk mengurangi mencegah kehilangan darah berlebih. Dalam hitungan detik, kerusakan endotel pembuluh darah mengaktifkan sistem kekebalan dan memicu paparan *extracellular matrix* (ECM), yang menginduksi aktivasi trombosit lokal. Trombosit kemudian melepaskan berbagai



seperti protease, sitokin, dan *growth factor*, termasuk *Epidermal GF*), *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF), dan *Transforming* (TGF- β). Secara bersamaan, pembuluh darah menyempit dan trombosit saling melekat membentuk sumbatan trombosit. uat oleh polimerisasi fibrin, menghasilkan bekuan fibrin yang sentara. Bekuan ini juga berperan sebagai matriks ECM sementara,

memfasilitasi migrasi sel epitel dan fibroblas ke area cedera (Hao et al., 2023; Toma et al., 2021).



Gambar 1.7. Proses penyembuhan luka mukosa oral

(Sumber: Toma AI, Fuller JM, Willett NJ, et al. Oral Wound Healing Models and Emerging Regenerative Therapies. Transl Res 2021)

b. Fase hemostasis

Hemostasis terjadi segera setelah terjadi luka untuk mengurangi mencegah kehilangan darah berlebih. Dalam hitungan detik, kerusakan endotel pembuluh darah mengaktifkan sistem kekebalan dan memicu paparan *extracellular matrix* (ECM), yang menginduksi aktivasi trombosit lokal. Trombosit kemudian melepaskan berbagai mediator bioaktif, seperti protease, sitokin, dan *growth factor*, termasuk *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF), dan *Transforming Growth Factor-β* (TGF-β). Secara bersamaan, pembuluh darah menyempit (vasokonstriksi), dan trombosit saling melekat membentuk sumbatan trombosit. Proses ini diperkuat oleh polimerisasi fibrin, menghasilkan bekuan fibrin yang menutup luka sementara. Bekuan ini juga berperan sebagai matriks ECM sementara, memfasilitasi migrasi sel epitel dan fibroblas ke area cedera (Hao et al., 2023; Toma et al., 2021).



Setelah hemostasis tercapai, *growth factor* seperti EGF, IGF, dan PDGF yang berperan penting dalam mengatur proses penyembuhan. Zat-zat ini mendorong proliferasi sel tetapi juga menarik sel-sel inflamasi ke lokasi luka. Sementara itu, bekuan fibro-fibronektin yang terbentuk berfungsi sebagai struktur pendukung sementara, memungkinkan sel-sel reparatif bermigrasi dan membentuk jaringan baru. Interaksi dengan ECM, faktor pertumbuhan, dan sel-sel inflamasi menciptakan

lingkungan yang optimal untuk memasuki fase inflamasi dan proliferasi. Dengan demikian, hemostasis tidak hanya menghentikan perdarahan tetapi juga mempersiapkan dasar bagi tahap penyembuhan selanjutnya (Hao et al., 2023; Toma et al., 2021).

c. Fase inflamasi

Luka segera mengalami infiltrasi inflamasi setelah hemostasis tercapai yang dipicu oleh kemokin di lokasi cedera. Fase ini mencapai puncaknya dalam 24–48 jam dan dapat berlangsung hingga satu minggu. Neutrofil menjadi sel pertama yang bermigrasi ke luka, bertugas membersihkan ECM yang rusak dengan mensekresi enzim seperti matrix metalloproteinases (MMPs). Selain itu, neutrofil mengeluarkan sitokin dan growth factor untuk merekrut sel imun lain, termasuk monosit, yang memulai proses re-epitelialisasi. Setelah patogen dan debris tereliminasi, neutrofil meninggalkan luka melalui apoptosis, ekstrusi, atau fagositosis. Namun, jika neutrofil bertahan secara abnormal, produksi protease yang berlebihan dapat menyebabkan inflamasi berkepanjangan dan menghambat penyembuhan (Toma et al., 2021).

Sekitar 48–72 jam pasca-cedera, monosit bermigrasi ke luka dan berdiferensiasi menjadi makrofag, sel dominan dalam fase inflamasi lanjut. Awalnya, makrofag bersifat pro-inflamasi (M1), mensekresi sitokin seperti IL-1, IL-6, TNF- α , serta *growth factor* (FGF, PDGF, EGF, TGF- β) untuk mengoordinasikan migrasi keratinosit dan fibroblas (Seiring waktu, makrofag mengalami polarisasi menjadi fenotip anti-inflamasi (M2), yang meningkatkan sekresi IL-10 dan menekan respons pro-inflamasi sebelumnya. Polarisasi ini kritis untuk transisi ke fase proliferasi. Gangguan dalam polarisasi makrofag (misalnya, persistensi M1 atau defisiensi M2) dapat menyebabkan penyembuhan tertunda atau luka kronis. Sekitar 48 hingga 72 jam pasca-cedera, monosit bermigrasi ke luka dan berdiferensiasi menjadi makrofag, yang menjadi sel dominan selama fase inflamasi penyembuhan luka terutama melalui polarisasi makrofag "pro-inflamasi" M1. Makrofag mensekresi sitokin termasuk interleukin-1, interleukin-6, *growth factor* fibroblast (FGF), *growth factor* yang diturunkan dari trombosit (PDGF), *growth factor* epidermis (EGF), dan TGF- β , yang mengatur migrasi keratinosit dan fibroblas ke dasar luka. Selama fase inflamasi akhir, makrofag menginisiasi penyembuhan proliferaatif melalui polarisasi makrofag "anti-inflamasi" M2 dan terus mensekresi sitokin regeneratif seperti interleukin-10; makrofag M2 membantu meningkatkan regulasi sitokin "anti-inflamasi" endogen dan menurunkan regulasi sitokin "pro-inflamasi" yang sebelumnya disekresi di dekat luka. Setelah penghilangan patogen yang dimediasi oleh sel imun, terjadi peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan kebocoran transudat dari kapiler, yang mengarah ke fase proliferasi (Hao et al., 2023; Toma et al., 2021).



asi dimulai beberapa hari setelah luka dan berlangsung hingga tiga minggu oleh sitokin dan *growth factor* regeneratif. Pada tahap ini, terjadi melalui migrasi keratinosit dari tepi luka untuk membentuk jaringan baru. Proses ini diatur oleh faktor-faktor seperti EGF, IGF1, KGF, dan TGF- β . Bersamaan dengan itu, matriks fibrin-fibronektin sementara dibentuk oleh jaringan granulasi vaskular yang menyediakan substrat

untuk pertumbuhan sel. Makrofag M2 berperan penting dengan mensekresi growth factor (FGF, TGF- β , EGF, PDGF) untuk mendukung rekonstruksi jaringan (Hao et al., 2023; Toma et al., 2021).

Pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) menjadi ciri khas fase proliferasi, terutama melalui peran VEGF, angiopoietin, FGF, dan TGF- β (Li et al., 2003). Pembuluh darah baru ini berfungsi mengembalikan perfusi jaringan, meningkatkan suplai oksigen, dan mendukung sintesis kolagen. Namun, ketidakseimbangan mediator angiogenik, seperti pada kasus ulkus diabetik, dapat menyebabkan gangguan angiogenesis dan menghambat penyembuhan. Jaringan granulasi yang terbentuk bersifat hipervaskular, dengan pembentukan kapiler baru di tepi luka untuk menyediakan nutrisi dan sel-sel imun (Hao et al., 2023; Toma et al., 2021).

Fibroblas yang bermigrasi ke jaringan granulasi mulai memproduksi kolagen tipe III, fibronectin, dan komponen ECM lainnya untuk membangun struktur jaringan. Sel-sel ini kemudian mengalami diferensiasi menjadi miofibroblas yang mengekspresikan *α -smooth muscle actin* (α -SMA), memulai proses kontraksi luka dan penutupan tepi luka. Namun, aktivasi berlebihan miofibroblas dapat menyebabkan komplikasi seperti fibrosis atau pembentukan jaringan parut hipertrofik. Fase proliferasi berakhir dengan stabilisasi jaringan granulasi sebagai persiapan untuk remodeling ECM. Makrofag M2 terus berperan dalam memodulasi lingkungan mikro melalui sekresi growth factor, sementara produksi kolagen mengalami peralihan dari tipe III ke tipe I yang lebih stabil. Proses ini bergantung pada keseimbangan antara sintesis matriks dan degradasi oleh MMP. Gangguan dalam proses ini, seperti persistensi miofibroblas atau inflamasi residual, dapat menyebabkan komplikasi berupa luka kronis (Hao et al., 2023; Toma et al., 2021).

e. **Maturasi dan Remodeling**

Fase terakhir penyembuhan luka dapat berlangsung selama beberapa minggu hingga bulan. Selama fase ini, aktivitas protease (terutama MMP) mengatur keseimbangan antara deposisi dan degradasi ECM. Namun, produksi MMP berlebihan akibat sitokin pro-inflamasi dapat menyebabkan degradasi ECM yang tidak terkontrol, sehingga pemberian inhibitor protease lokal terbukti efektif dalam memulihkan keseimbangan ini. Jaringan granulasi secara bertahap mengalami transformasi struktural, dengan berkurangnya seluleritas akibat apoptosis fibroblas dan makrofag (Toma et al., 2021).

ECM mengalami reorganisasi signifikan selama fase remodeling, berubah dari jaringan fibronectin longgar menjadi bundel kolagen yang lebih padat dan terstruktur. Kolagen tipe III secara progresif digantikan oleh kolagen tipe I yang lebih kuat, meningkatkan integritas mekanik jaringan. Bersamaan dengan itu, jaringan vaskular



ni pemangkasan, dan struktur ECM fibrilar menjadi lebih teratur. Iklan peran kunci dengan mensekresi enzim seperti MMP untuk M lama sekaligus mensintesis komponen baru. Sel-sel tahap akhir dan makrofag terus memodulasi ECM permanen hingga jaringan stasis. Miofibroblas yang sebelumnya aktif berhenti memproduksi tatan ulang kolagen meningkatkan kekuatan tarik jaringan. Proses ung pada regulasi ketat antara sintesis kolagen baru dan degradasi

kolagen lama oleh MMP. Gangguan dalam fase remodeling dapat mengakibatkan kekuatan jaringan yang tidak optimal. (Hao et al., 2023; Toma et al., 2021)

1.2.3.2. Faktor yang mempengaruhi penyembuhan luka

Gangguan proses penyembuhan luka bersifat multifaktorial, melibatkan komponen lokal dan sistemik, sehingga analisis komprehensif terhadap faktor-faktor tersebut menjadi landasan penting dalam menentukan intervensi klinis yang tepat, sebagaimana dirangkum dalam Tabel 1.1.

Tabel 1.1. Faktor yang memengaruhi penyembuhan luka

Faktor Lokal	Prosedur Bedah	Faktor Sistemik
Infeksi lokal	Desain flap	Penyakit kronis (diabetes, gangguan penyembuhan herediter, fibrosis, keloid)
Benda asing (sisa semen, fragmen tulang)	Kerusakan termal (saat osteotomi)	Gangguan metabolik (jaundice, uremia)
Nekrosis jaringan	Tepi tulang tajam (post-ekstraksi)	Perubahan hormonal (kehamilan, menopause)
Iskemia	Anestesi lokal (vasokonstriktor)	Kondisi imunokompromais (kanker, radioterapi, HIV)
Hipoksia	Ketegangan jaringan	Obat-obatan (steroid glukokortikoid, NSAID, kemoterapi)
Kesalahan teknik penjahitan	Perdarahan pascaoperasi	Kebiasaan buruk (merokok, konsumsi alkohol berlebihan) Obesitas dan defisiensi nutrisi (vitamin C, protein, zinc)

(Sumber: Alzahrani F, Alabeedi F, Luca S, et al. What Factors Can Have an Impact on the Wound Healing Process from An Oral Surgery Perspective? A Review. SVOA Dentistry. 2024)

a. Faktor lokal

Penyembuhan luka di rongga mulut dapat terganggu oleh berbagai faktor lokal seperti infeksi, jaringan nekrotik, iskemia, benda asing, hipoksia, dan perdarahan. Lingkungan mulut yang unik, dengan cairan oral hangat yang mengandung jutaan mikroorganisme, menciptakan tantangan khusus dalam proses penyembuhan. Infeksi lokal merupakan faktor utama yang menghambat penyembuhan, sehingga penggunaan obat kumur antimikroba seperti klorheksidin sebelum dan setelah tindakan bedah dianjurkan (Alzahrani et al., 2024).

Benda asing di daerah luka seperti serat kapas, bahan jahitan, atau sisa kasa dapat menjadi tempat berkembang biak bakteri dan memicu reaksi inflamasi kronis yang menghambat fibroplasia. Pemilihan bahan jahitan dari silk sebaiknya dihindari karena adhesi bakteri, sedangkan nilon atau poliglikonat lebih baik karena sifatnya yang kurang reaktif. Jaringan nekrotik dan perdarahan dapat memperpanjang fase inflamasi dengan menjadi sumber infeksi. Selain itu, gangguan suplai darah (iskemia) ke daerah luka dapat memperparah nekrosis jaringan tambahan, mengganggu transportasi faktor pertumbuhan, dan meningkatkan risiko infeksi. Kondisi ini terutama perlu



diwaspadai pada pasien lanjut usia atau penderita penyakit sistemik seperti diabetes yang sering mengalami gangguan aliran darah dan oksigenasi jaringan (Alzahrani et al., 2024).

b. Prosedur pembedahan

Penyembuhan luka yang optimal dalam prosedur bedah mulut memerlukan penerapan teknik operasi yang presisi untuk meminimalkan jaringan parut dan memulihkan fungsi jaringan. Proses penyembuhan alami, baik pada jaringan lunak rongga mulut maupun jaringan keras, selalu melibatkan pembentukan jaringan parut dalam berbagai derajat. Prinsip dasar yang harus diperhatikan antara lain melakukan insisi pada tulang yang sehat sebagai dasar penyembuhan, menghindari trauma termal dengan irigasi yang cukup dan penggunaan elektrokoagulasi yang bijak, serta teknik penjahitan yang tepat tanpa ketegangan berlebihan untuk mencegah komplikasi nekrosis jaringan. Pembentukan bekuan darah yang stabil pascaoperasi juga menjadi faktor penentu dalam proses granulasi jaringan. Kandungan vasokonstriktor seperti adrenalin sebagai bahan anestetikum diduga memiliki efek positif terhadap penyembuhan luka, bukti klinis yang mendukung hal ini masih terbatas dan memerlukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan efektivitasnya (Alzahrani et al., 2024).

c. Faktor sistemik

1. Pengaruh usia

Usia kronologis tidak selalu berkorelasi langsung dengan kemampuan penyembuhan luka. Proses penuaan merupakan suatu mekanisme alamiah yang ditandai dengan kemunduran fungsi sel secara bertahap dan melemahnya kemampuan regenerasi jaringan. Perubahan fisiologis ini menciptakan ketidakseimbangan dalam tubuh, meningkatkan kerentanan terhadap berbagai faktor stres, dan mengurangi daya adaptasi biologis. Usia lanjut berperan sebagai faktor yang memperlambat proses pemulihan, namun kualitas akhir penyembuhan tetap dapat optimal pada individu yang sehat. Gangguan penyembuhan pada lansia terutama disebabkan oleh beberapa mekanisme, antara lain respons peradangan yang tidak optimal, pembentukan pembuluh darah baru yang lebih lambat, gangguan produksi kolagen, serta proses pembentukan epitel yang kurang efisien. Ketidakseimbangan antara pembentukan dan pemecahan matriks ekstraseluler yang berperan penting dalam proses penyembuhan juga terjadi (Alzahrani et al., 2024; Bogdan-Andreescu et al., 2024).

2. Diabetes melitus

Pasien diabetes mellitus menghadapi tantangan kompleks dalam penyembuhan luka akibat berbagai mekanisme patofisiologis. Gangguan metabolisme, disfungsi seluler, dan respons imun yang terganggu menciptakan lingkungan yang tidak ideal untuk regenerasi jaringan. Gangguan ini terutama disebabkan oleh akumulasi sorbitol dalam jaringan yang bersifat toksik terhadap sel, disertai penumpukan albumin di sekitar kapiler yang menghambat transportasi nutrisi dan oksigen ke area jaringan. Selain itu, sintesis kolagen yang tidak sempurna dan gangguan maturasi jaringan semakin memperburuk kondisi ini. Masalah mendasar lainnya



adalah disfungsi makrofag yang menyebabkan fase inflamasi berkepanjangan, ditambah dengan respons imun yang tidak optimal dan gangguan pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) (Alzahrani et al., 2024).

3. Perubahan hormonal

Pola penyembuhan luka menunjukkan perbedaan yang signifikan antara pasien pria dan wanita akibat variasi hormonal. Perbedaan tersebut terutama terlihat pada jaringan mukosa mulut karena faktor hormonal memengaruhi respons inflamasi lokal secara berbeda. Pemahaman mengenai mekanisme ini memungkinkan dokter gigi untuk memprediksi proses penyembuhan dan menyusun rencana perawatan yang lebih tepat (Alzahrani et al., 2024).

4. Gangguan imun dan obat-obatan

Konsumsi berbagai obat seperti antihipertensi, antikoagulan, dan kortikosteroid yang dapat memengaruhi penyembuhan luka di rongga mulut. Salah satu efek samping yang umum adalah xerostomia (mulut kering), yang lebih sering disebabkan oleh penggunaan obat-obatan seperti antikolinergik dan diuretik. Kondisi ini juga sering ditemukan pada pasien hipertensi, terutama akibat obat golongan antagonis kalsium atau penghambat enzim pengubah angiotensin yang dapat menyebabkan dehidrasi dan ketidakseimbangan elektrolit, memperburuk hiposalivasi. Diuretik juga mengurangi aliran saliva, yang berdampak negatif pada penyembuhan luka karena menghilangkan fungsi protektif dan antimikroba dari air liur (Bogdan-Andreescu et al., 2024).

Antikoagulan meningkatkan risiko perdarahan dan pembentukan hematoma, yang dapat mengganggu proses penyembuhan dengan menghambat hemostasis awal. Gangguan fungsi trombosit akibat obat ini juga dapat memperlambat atau mengganggu pemulihan jaringan. Selain itu, penggunaan kortikosteroid jangka panjang—yang sering dijumpai pada lansia—dapat menghambat sintesis kolagen dan melemahkan respons imun, dua faktor kritis dalam penyembuhan luka yang efektif (Bogdan-Andreescu et al., 2024).

5. Kebiasaan merokok dan konsumsi alkohol

Kebiasaan merokok dan konsumsi alkohol memberikan dampak signifikan terhadap fisiologi penyembuhan luka. Nikotin dan etanol mengganggu berbagai fase penyembuhan melalui mekanisme yang kompleks. Pendekatan komprehensif termasuk konseling berhenti merokok dan suplementasi nutrisi dapat membantu meminimalkan dampak negatif ini (Alzahrani et al., 2024).

6. Obesitas dan defisiensi nutrisi

Status nutrisi dan metabolik pasien memainkan peran penting dalam proses regenerasi jaringan. Baik pasien dengan obesitas maupun malnutrisi menghadapi tantangan tersendiri dalam penyembuhan luka (Alzahrani et al., 2024).



Role of Growth Factor-2 (FGF-2)

Role of Basic Fibroblast Growth Factor-2 (bFGF-2) dalam penyembuhan luka

Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) adalah *growth factor* representatif yang telah terbukti potensial pada perbaikan dan regenerasi jaringan. Famili FGF terdiri

dari 23 anggota termasuk asidik FGF (aFGF atau FGF-1), basic FGF (bFGF atau FGF-2), sejumlah onkogen (seperti int-2, hst/K-FGF, FGF-5), dan KGF. Adapun tiga protein yang dianggap sebagai regulator penting dalam proses penyembuhan luka yaitu FGF-1, FGF-2, dan KGF.(Barrientos et al., 2008; Sivamani et al., 2007) FGF dihasilkan oleh berbagai jenis sel, termasuk keratinosit, fibroblas, sel endotel, sel otot polos, kondrosit, dan sel mast (Barrientos et al., 2008).

FGF-2 adalah *growth factor* yang berasal dari mesenkim dan memiliki fungsi mitogenik, migratorik, dan morfogenik, serta berperan dalam angiogenesis, perkembangan organ, regenerasi organ, dan penyembuhan luka.(Benington et al., 2020; Novais et al., 2021) FGF-2 memiliki potensi sekitar 10 kali lebih kuat sebagai stimulan angiogenik dibandingkan *growth factor* lainnya dan memiliki jangkauan sel target yang paling luas mencakup hampir semua jenis sel yang terlibat dalam penyembuhan luka. FGF merangsang proliferasi dan migrasi berbagai jenis sel utama yang terlibat dalam penyembuhan luka termasuk sel endotel kapiler, sel endotel vaskular, fibroblas, keratinosit, sel epitel, serta jenis sel khusus seperti kondrosit dan mioblas. FGF-2 juga memodulasi sintesis kolagen, epitelisasi, serta sintesis fibronektin dan proteoglikan. Selain itu, FGF-2 memicu migrasi sel, neovaskularisasi, dan pembentukan jaringan granulasi (Sivamani et al., 2007).

Kekurangan FGF-2 akan menyebabkan keterlambatan penyembuhan luka sebab FGF-2 merangsang proliferasi sel endotelial yang berkontribusi pada neovaskularisasi luka.(Sivamani et al., 2007) Normalnya, FGF-2 muncul dalam beberapa jam setelah luka terjadi dan merangsang migrasi dan proliferasi fibroblas, produksi kolagenase oleh fibroblas, serta aktivitas plasminogen dan kolagenasi pada sel endotelial (Braund et al., 2009)

1.2.4.2. Persinyalan Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2) dalam Penyembuhan Luka

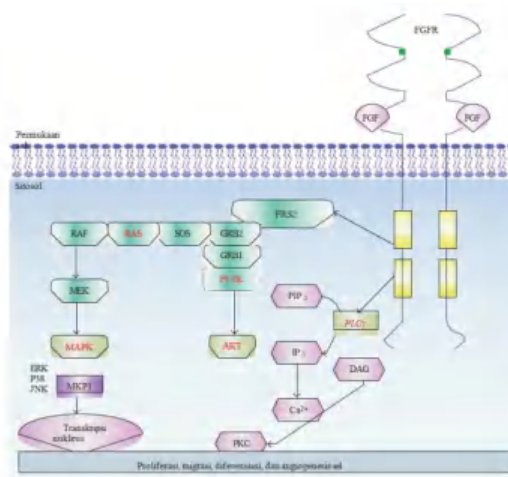
FGF bertindak sebagai molekul sinyal yang mengikat dan mengaktifkan FGFR. FGFR yang diaktifkan memediasi persinyalan dengan merekrut molekul spesifik yang berikatan dengan tirosin terfosforilasi di bagian sitosol reseptor, menginisiasi sejumlah jalur persinyalan yang mengarah ke respons seluler tertentu. Hal ini berfungsi sebagai tempat docking untuk perekrutan domain SH2 (*Src homology-2*) atau PTB (*phosphotyrosine binding*) dari protein pengikat adaptor atau enzim persinyalan. Kompleks pensinyalan terbentuk dan ditarik ke reseptor aktif yang menghasilkan serangkaian peristiwa fosforilasi. Gambar 1.8. secara skematis menggambarkan tiga jalur sinyal FGF yakni jalur *RAS/mitogen-activated protein kinase* (MAPK), jalur *phosphatidylinositol-3-kinases/serine/threonine kinase* (PI3K/ AKT), dan jalur *phospholipase C gamma* (PLC γ)(Edirisinghe et al., 2024; Yun et al., 2010a).

Jalur utama sinyal FGF adalah jalur RAS/MAPK, yang mengandung banyak protein persinyalan. Peristiwa penting dalam jalur persinyalan FGF adalah fosforilasi residu



locking, substrat *fibroblast growth factor receptor substrate 2 α* edikan tempat pengikatan baru untuk perekrutan langsung atau ein yang bertanggung jawab atas aktivasi dan pelemahan and Itoh, 2022; Yun et al., 2010a). FRS 2 α membentuk suatu dari protein adaptor, *guanine nucleotide exchange factor 2* (GRB2), S), *tirosin fosfatase* (SHP2), dan protein docking, *GRB2-associated* AB1). Pembentukan kompleks pensinyalan FRS2 menghasilkan

aktivasi RAS/ MAPK serta jalur PI3K/ AKT. Sinyal FGF menginduksi *loop* umpan balik negatif yang dimediasi oleh MAPK yang menyebabkan fosforilasi treonin FRS2a, yang mengarah pada pengurangan fosforilasi tirosin dan penurunan rekrutmen GRB2. Reseptor tirosin kinase juga menginduksi sinyal negatif melalui aktivasi protein *sprouty* yang menghambat perekrutan kompleks GRB2-SOS ke FRS2 dan reseptor serta melemahkan jalur RAS-MAPK. Anggota keluarga Sef dan MAP kinase fosfatase adalah modulator negatif lain dari pensinyalan FGF, sedangkan XFLRT3, anggota keluarga protein transmembran yang kaya akan protein pengulangan leusin, adalah modulator positif baru. Ekspresi XFLRT3 diinduksi oleh FGF dan diregulasi ke bawah setelah penghambatan pensinyalan FGF. Dengan demikian, pensinyalan FGF dimodulasi oleh positif dan mekanisme negatif, dan modulasi substantif dalam sinyal adalah penentu penting dari respons biologis selama pengembangan (Yun et al., 2010a).



Gambar 1.8. Jalur persinyalan FGF

FRS2: *fibroblast growth factor receptor substrate 2*, **GRB:** *guanine nucleotide exchange factor*, **SOS:** *son of sevenless*, **RAS:** *monomeric G-protein*, **RAF:** kinase, **MEK:** kinase, **MAPK:** *MAP kinase phosphatase*, **PIP2:** *phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate*, **IP3:** *inositol triphosphate*, **DAG:** *diacylglycerol*, **PKC:** *protein kinase C*.

(Sumber: Yun YR, Won JE, Jeon E, et al. Fibroblast growth factors: Biology, function, and application for tissue regeneration. *Journal of Tissue Engineering*)

Jalur P13K/AKT mirip dengan jalur RAS/MAPK, dimulai dengan membentuk kompleks pensinyalan FRS2. Selanjutnya, protein GAB1 menghubungkan reseptor FGF yang diaktifkan dengan PI3K. GAB1 terdiri dari domain homologi pleckstrin, daerah kaya prolin, dan beberapa situs fosforilasi tirosin yang berfungsi sebagai tempat pengikatan untuk domain SH2. Subunit katalitik p110 dari P13K berada dalam kompleks dengan yang memiliki dua domain SH2. Dengan demikian, p85 berikatan terfosforilasi dalam protein adaptor GAB1. Kinase yang bergantung an protein kinase anti apoptosis AKT diaktifkan di bagian hilir PI3 (T terlibat dalam kelangsungan hidup sel dan penentuan nasib sel, et al., 2010a).



yang terakhir adalah jalur PLCγ. Salah satu molekul target untuk adalah *phospholipase C gamma* (PLCγ), yang berikatan dengan

Tyr-766 terfosforilasi dari reseptor dan kemudian menjadi fosforilasi tirosin dari PLC γ , yang menghasilkan aktivasi PLC γ . PLC γ yang diaktifkan menghidrolisis fosfatidilinositol, menghasilkan *inositol triphosphate* (IP3) dan *diasilgliserol* (DAG). IP3 adalah pembawa pesan kedua seluler yang memfasilitasi pelepasan kalsium dari retikulum endoplasma. Peningkatan kadar kalsium dalam sitosol dan DAG bersama-sama mengaktifkan *protein kinase C* (PKC) (Yun et al., 2010a).

1.2.5. Daun Kayu Putih (*Melaleuca leucadendron*)

1.2.5.1. Taksonomi daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*)

Genus *Melaleuca* dari famili Myrtaceae mencakup setidaknya 230 spesies yang tersebar di seluruh dunia, terutama di Australia, Indonesia, Papua Nugini, Amerika Tropis, dan Asia Selatan (Patramurti et al., 2020). Menurut Jones dan Luchsinger, genus *Melaleuca* diklasifikasikan ke dalam: Kingdom: *Plantae* (Tumbuhan), Divisi: *Angiospermae* (Magnoliophyta, tumbuhan berbunga), Kelas: *Magnoliopsida* (Dikotil), Subkelas: *Rosidae*, Ordo: *Myrtales*, Famili: *Myrtaceae* (famili *Myrtle*), Subfamili: *Leptospermoidae*, dan Genus: *Melaleuca* (Jones SB and Luchsinger AE, 1986). Klasifikasi ini menempatkan *Melaleuca* sebagai bagian dari tumbuhan berbunga dikotil yang termasuk dalam famili Myrtaceae, yang dikenal karena keanekaragaman spesiesnya yang memiliki nilai ekologis dan ekonomi. Spesies utama yang dimanfaatkan untuk produksi minyak atsiri komersial dan aromaterapi adalah *Melaleuca alternifolia*, *Melaleuca leucadendron*, dan *Melaleuca quinquenervia* (Patramurti et al., 2020).



Gambar 1.9. Habitus dari a. pohon kayu putih dan b. daun kayu putih

(Sumber: Patramurti C, Amin R, Nastiti CMRR, et al. A Review on the Potency of *Melaleuca leucadendron* Leaves Solid Waste in Wood Preservation and Its in Silico Prediction upon Biological Activities. *International Journal of Forestry Research*; 2020)



Optimized using
trial version
www.balesio.com

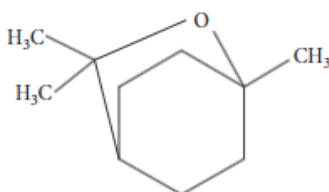
leucadendron adalah spesies yang paling sering ditanam di Indonesia, a “Kayu Putih”. Tanaman ini biasanya ditemukan di Pulau Jawa, Irian Jaya, Sumatra Timur, dan Sulawesi (Pujiarti et al., 2011). *Melaleuca leucadendron* untuk produksi minyak atsiri dari daunnya. Minyak ini digunakan sebagai obat, termasuk antiseptik, antineuralgia, dan antirematik, serta kosmetik. Minyak atsiri dari spesies *Melaleuca* berkhasiat sebagai

antibakteri, antivirus, antiinflamasi, antinyeri, antioksidan dan antijamur (Monzote et al., 2020a). Pohon *Melaleuca leucadendron* dapat tumbuh hingga 40 meter. Daunnya berbentuk lancet sempit hingga elips sempit dengan panjang 3,5-16 kali lebarnya (Gambar 1.9.). Pada permukaan daun terdapat kelenjar minyak berbentuk elips hingga pola linear (Patramurti et al., 2020).

1.2.5.2. Kandungan daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*)

Proses distilasi daun dan cabang kecil pohon cajuput (*Melaleuca leucadendron*) menghasilkan minyak esensial yang mengandung eukaliptol (sineol) sebagai senyawa utama (50–65%). Eukaliptol, dikenal juga sebagai 1,3,3-trimetil-2-oksabisiklo[2.2.2]oktana, termasuk dalam kelompok monoterpen hidrokarbon teroksigenasi. Adapun struktur kimia dari 1,8 sineol (eukaliptol) dapat dilihat pada gambar 1.10 (Patramurti et al., 2020).

Daun segar kayu putih menghasilkan minyak atsiri yang mengandung berbagai senyawa utama seperti α -pinene, β -pinene, β -myrcene, limonene, c-terpinene, 1,8-sineol, p-cymene, terpinolene, benzaldehyde, linalool, trans-pinene hydrate, terpin-4-ol, c-terpineol, α -terpineol, 1-tetradecene, ledol, valencene, eugenol, α -eudesmol, dan β -eudesmol dengan total kandungan utama mencapai 64% (Farg et al., 2004). Menurut Pujiarti dkk, minyak atsiri yang dihasilkan dari daun *Melaleuca leucadendron* di Indonesia mengandung senyawa utama 1,8-sineol dengan kadar 44,76% hingga 60,19%. Selain itu, minyak atsiri ini juga mengandung senyawa lain seperti α -terpineol (5.93–12.45%), d(+)-limonene (4.45–8.85%), and β -caryophyllene (3.78–7.64%) (Pujiarti et al., 2011).



Gambar 1.10. Struktur kimia dari 1,8 sineol

(Sumber: Patramurti C, Amin R, Nastiti CMRR, et al. A Review on the Potency of *Melaleuca leucadendron* Leaves Solid Waste in Wood Preservation and Its in Silico Prediction upon Biological Activities. *International Journal of Forestry Research*; 2020)

Senyawa 1,8-sineol telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi berbagai kondisi kesehatan, termasuk gangguan pernapasan, pencernaan, dan nyeri. Senyawa ini juga menunjukkan aktivitas antimikroba yang luas, termasuk terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, jamur, dan virus, dengan menghambat pembentukan biofilm dan mengganggu integritas membran sel. influenza, dengan meningkatkan respons imun dan mengurangi sitokin inflamasi (Hoch et al., 2023; Pries



er, 1,8-sineol memengaruhi berbagai jenis sel, termasuk sel epitel, imun. Senyawa ini mengurangi sekresi mukus, menghambat dan menekan ekspresi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , memengaruhi berbagai jalur biosintetik inflamasi, termasuk jalur NF- κ B dan mengurangi ekspresi gen target yang terlibat dalam

inflamasi. Senyawa 1,8-sineol juga memiliki efek antioksidan dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan. Selain itu, 1,8-sineol juga memengaruhi jalur Wnt/ β -catenin, yang terlibat dalam berbagai penyakit, termasuk kanker dan inflamasi kronis (Hoch et al., 2023; Pries et al., 2023). Meskipun 1,8-Cineol dikenal memiliki sifat antiinflamasi, antimikroba, dan ekspektoran, pada dosis tinggi senyawa ini dapat menyebabkan efek toksik. Studi toksisitas dilakukan untuk menentukan batas aman paparan senyawa ini. Dalam penelitian menggunakan model tikus, ditemukan bahwa dosis 2,48 gram per kilogram berat badan merupakan nilai toksisitas akut. Artinya, dosis tersebut dapat menyebabkan efek toksik atau keracunan pada tikus (Pries et al., 2023).

1.2.6. *Topical drug delivery melalui sediaan emulgel*

Pemberian obat secara topikal langsung ke mukosa mulut dianggap penting untuk menghindari efek samping yang tidak diinginkan (Bruschi and De Freitas, 2005). Tantangan utama dalam *drug delivery* oromukosal yang efektif adalah memastikan retensi yang lama di mukosa mulut. Oleh karena itu, *drug carrier* mukoadhesif yang memberikan kontak langsung dan lama antara obat dan mukosa mulut merupakan pendekatan yang menarik dan non-invasif untuk meningkatkan ketersediaan obat lokal (Chinna Reddy et al., 2011). Salah satu sistem *drug delivery* yang banyak diaplikasikan dalam rongga mulut adalah gel bioadhesif. Aplikasi utama dari gel adhesif pada pengobatan periodontitis, stomatitis aftosa berulang, ulkus traumatik, oral mukositis, dan penyembuhan luka (Paderni et al., 2012). meningkatkan kepatuhan dan ketaatan pasien dalam menjalani pengobatan. Namun, senyawa aktif yang memiliki lipofilisitas yang tinggi dan kelarutan dalam air yang lemah, formulasi emulgel harus digunakan daripada gel, krim, dan salep konvensional (Pradeep et al., 2016).

Emulgel adalah emulsi, baik dari jenis minyak dalam air atau air dalam minyak, yang dibuat gel dengan mencampurkannya dengan zat pembentuk gel. Gel teremulsi adalah gel yang stabil dan merupakan sediaan yang unggul untuk obat yang bersifat hidrofobik atau sulit larut dalam air (Kute and Saudagar, 2013). Emulgel memiliki sifat-sifat seperti tiksotropik, tidak berminyak, mudah dioleskan, mudah dilepas, melembabkan, tidak berwarna, larut dalam air, dan masa simpan yang lama (Sah et al., 2017).

Emulgel memiliki beberapa manfaat dibandingkan bentuk sediaan topikal lainnya. Emulgel memiliki stabilitas yang lebih baik dan obat hidrofobik atau lipofilik dapat dikombinasikan ke dalam gel menggunakan emulsi. Biaya produksi emulgel rendah karena tidak memerlukan peralatan khusus serta bahan yang digunakan mudah diperoleh dan terjangkau. Selain itu, emulgel memungkinkan pelepasan obat yang terkontrol sehingga memberikan efek terapi yang lebih lama (Preeti and Gnanaranjan, 2013).

Beberapa penelitian telah mengkaji efektivitas emulgel dalam pengobatan dalam rongga mulut termasuk gingivitis dan kanker mulut. Golshah A dkk. meneliti efektivitas pada pasien orthodontik dan menunjukkan bahwa emulgel efektif tan gingiva serta mengurangi gingivitis (Golshah et al., 2021). ra SBS dkk mengembangkan emulgel *curcumin* untuk terapi kanker ulkan bahwa sifat fisitokimia *curcumin* dapat diperbaiki dengan a ke dalam sistem emugel sehingga *curcumin* menargetkan sel f (Ferreira et al., 2020).



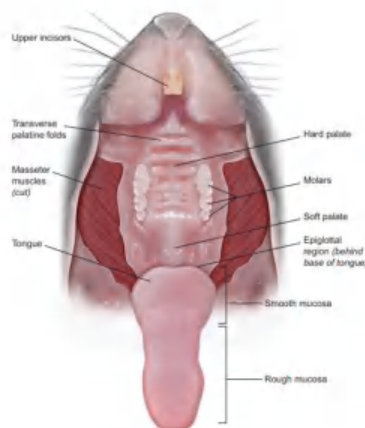
1.2.7. Tikus Wisar putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus laboratorium (*Rattus norvegicus*) termasuk dalam ordo *Rodentia* dan famili *Muridae*. Genus *Rattus* terdiri dari setidaknya 56 spesies, tetapi yang paling dikenal adalah tikus Norwegia (*Rattus norvegicus*) dan tikus hitam (*Rattus rattus*). Tikus Norwegia (*Rattus norvegicus*) memiliki ciri-ciri fisik yang khas, seperti telinga kecil dan tebal, serta ekor yang panjangnya sekitar 85% dari panjang tubuh (Gambar 1.11) (Otto et al., 2015). *Rattus norvegicus albinus* merupakan salah satu model hewan yang paling banyak digunakan dalam penelitian biomedis, terutama di bidang neurosains, farmakologi, dan toksikologi. Tikus banyak digunakan karena homogenitas genetiknya, yang meminimalkan variabilitas dalam hasil eksperimen. Keunggulan utama tikus ini meliputi kemudahan penanganan, sifat tenang, dan adaptasi yang baik terhadap lingkungan laboratorium. Selain itu, siklus reproduksinya yang singkat sekitar 21-23 hari dan umur relatif pendek sekitar 2 tahun sehingga memungkinkan penelitian dengan hasil cepat dan biaya lebih efisien (Benjamin, 2019; Krubaa and Yogitha, 2024).



Gambar 1.11. *Rattus norvegicus albinus*

(Sumber: Benjamin B. Overview of laboratory animal lifestyle, care, and management: a case study of albino rats. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*. 2019)



Gambar 1.12. Struktur rongga mulut tikus

nin B. Overview of laboratory animal lifestyle, care, and management: a case study of albino rats. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*. 2019)



Tabel 1.2. Perbandingan karakteristik rongga mulut tikus dan manusia

Karakteristik	Tikus	Manusia
Bibir	- <i>Cleft</i> alami antara insisivus maksila - Tidak memiliki <i>vermillion border</i> - Diastema antara molar pertama dan insisivus	- <i>Cleft</i> termasuk abnormal jika ada - Memiliki <i>vermillion border</i> - Diastema umum antara gigi susu insisivus dan kaninus pada anak; jarang pada dewasa
Lidah	- Melekat dari epiglotis ke insisivus bawah - Permukaan dorsal kasar; ventral dan lateral halus	- Melekat di orofaring, memanjang ke depan - Terikat oleh frenum lingual di garis tengah anterior
Palatum durum	- Dari insisivus hingga molar ketiga; 8 lipatan - Relatif pendek	- Memiliki uvula di garis Tengah - Lipatan fibrous anterior (<i>rugae</i>)
Palatum molle Gigi	- Tidak ada uvula - Formula: $2(I\ 1/1, M\ 3/3) = 16$ - Insisivus kuning (kandungan besi)	- Memiliki uvula - Formula: $2(2I\ 1/1, 2C\ 1/1, 2PM\ 4/4, 6M) = 32$ - Mahkota putih berenamel
Gigi desidui Insisivus	- Tidak ada - Hanya mahkota ("akar terbuka") - Enamel hanya di permukaan labial	- Ada (20 gigi susu) - Enamel menutupi seluruh permukaan oral
Molar Tulang alveolar	- 6 atas dan bawah - Tumbuh dengan perkembangan gigi	- Sama - Beregresi dengan kehilangan gigi dewasa
Jaringan Labial	- Epitel berambut eksternal - Tidak ada frenulum labial	- <i>Vermillion</i> berkeratin - Frenulum labialis superior/inferior ada
Mukosa bukal	- Epitel skuamosa bervariasi keratinisasi	- Non-keratin hingga parakeratin
Gingiva	- Epitel skuamosa bervariasi keratinisasi	- Parakeratin
Ventral lidah	- Papila berkeratin tinggi; kasar kecuali area anterior epiglotis	- Papila parakeratin/orthokeratin; kelenjar seromukosa di submukosa
Dorsal lidah Periodonsium	- Tidak ada tonsil lingual - Di bawah <i>cementoenamel junction</i>; termasuk epitel junctional, sementum, dan ligamen periodontal	- Memiliki tonsil lingual - Sama



Rongga mulut tikus dan manusia terdiri dari komponen dasar yang sama yaitu bibir, mukosa oral, gigi, lidah, dan kelenjar ludah yang berperan dalam tahap awal pencernaan (Gambar 1.12.). Bibir pada tikus ditandai dengan epitel berambut yang mengandung *vibrissae* (rambut sensorik panjang) di bibir atas, celah alami di garis tengah, serta tidak memiliki vermilion border seperti pada manusia. Manusia justru memiliki struktur bibir yang lebih kompleks dengan vermilion border yang kaya pembuluh darah dan frenum labial yang menghubungkan bibir dengan gusi. Perbedaan utama terlihat pada susunan gigi geligi yang mencerminkan adaptasi terhadap pola makan berbeda. Tikus memiliki formula gigi sederhana berjumlah 16 gigi (I 2/2, PM 0/0, M 6/6) dengan insisivus kuning yang terus tumbuh, sedangkan manusia memiliki susunan gigi lebih kompleks sebanyak 32 gigi (I 2/2, LI 2/2, C 2/2, PM 4/4, M 6/6) dengan mahkota berenamel penuh. Lidah tikus memiliki tiga jenis papila dan permukaan yang lebih kasar dibanding manusia yang memiliki papila foliate berbentuk daun di tepi lateral. Dari segi palatum, tikus tidak memiliki uvula yang merupakan ciri khas palatum lunak manusia (Treuting and Morton, 2012). Perbandingan rongga mulut tikus dan manusia disajikan pada table 1.2.

1.3. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat pengaruh pemberian topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) konsentrasi 0,25%, 0,50%, dan 1,00% terhadap ekspresi *fibroblast growth factor 2* (FGF-2) dalam fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral?
2. Apakah terdapat perbedaan ekspresi *fibroblast growth factor 2* (FGF-2) dalam fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral yang diberi perlakuan topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih dengan berbagai konsentrasi (0,25%, 0,50%, dan 1,00%) dibandingkan dengan kelompok kontrol?
3. Berapa konsentrasi emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) yang paling efektif terhadap ekspresi *fibroblast growth factor 2* (FGF-2) dalam fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral?

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1. Tujuan umum

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh pemberian topikal emulgel minyak atsiri dari daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) terhadap ekspresi *fibroblast growth factor 2* (FGF-2) dalam fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral.

1.4.2. Tujuan khusus

1. Mengetahui pengaruh pemberian topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) konsentrasi 0,25%, 0,50%, dan 1,00% terhadap ekspresi *fibroblast growth factor 2* (FGF-2) dalam fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral.
2. Mengetahui perbedaan ekspresi *fibroblast growth factor 2* (FGF-2) dalam fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral yang diberi perlakuan topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) dengan konsentrasi 0,25%, 0,50%, dan 1,00%, dibandingkan dengan kelompok kontrol.



3. Menentukan konsentrasi yang paling efektif emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) terhadap ekspresi *fibroblast growth factor 2* (FGF-2) dalam fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Manfaat keilmuan

Penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah dan menjadi referensi bagi penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan senyawa alami dalam terapi penyembuhan luka mukosa oral khususnya pemanfaatan minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*).

1.5.2. Manfaat bagi peneliti

Bagi peneliti, studi ini memberikan kesempatan untuk mengembangkan keterampilan penelitian dalam bidang kedokteran gigi, khususnya dalam penyembuhan dan regenerasi jaringan. Penelitian ini juga dapat memperkaya wawasan peneliti dalam mengetahui manfaat bahan alami dari daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) dalam penyembuhan luka mukosa oral.

1.5.3. Manfaat praktis

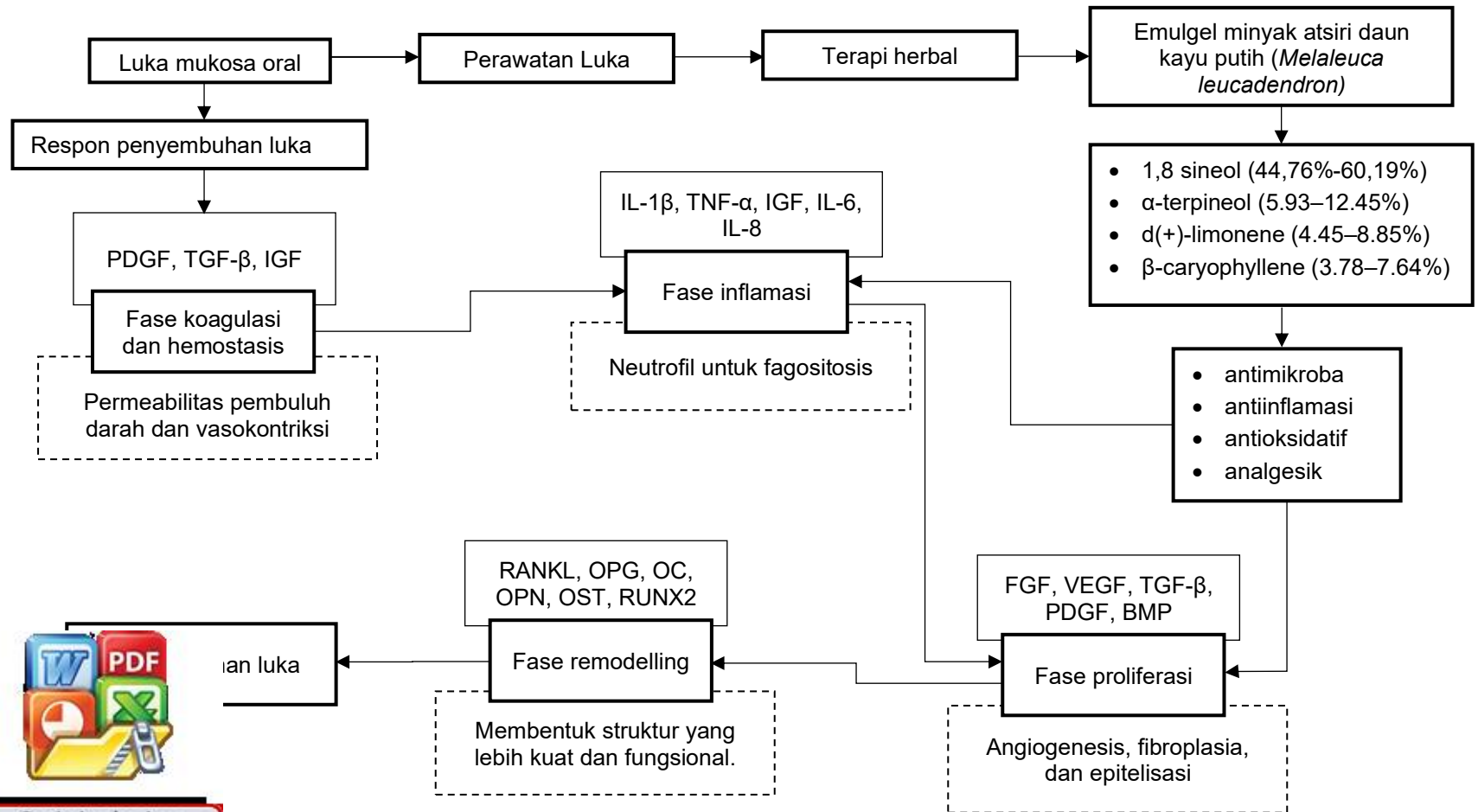
Dari segi praktik klinis, hasil penelitian ini dapat memberikan informasi yang berguna bagi dokter gigi dalam pengelolaan pasien menggunakan bahan herbal alami dari daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) untuk mempercepat penyembuhan luka mukosa oral.

1.5.4. Manfaat bagi Masyarakat

Penelitian ini juga memiliki manfaat bagi masyarakat luas yakni informasi mengenai alternatif terapi berbasis senyawa alami yang efektif penyembuhan luka mukosa oral.



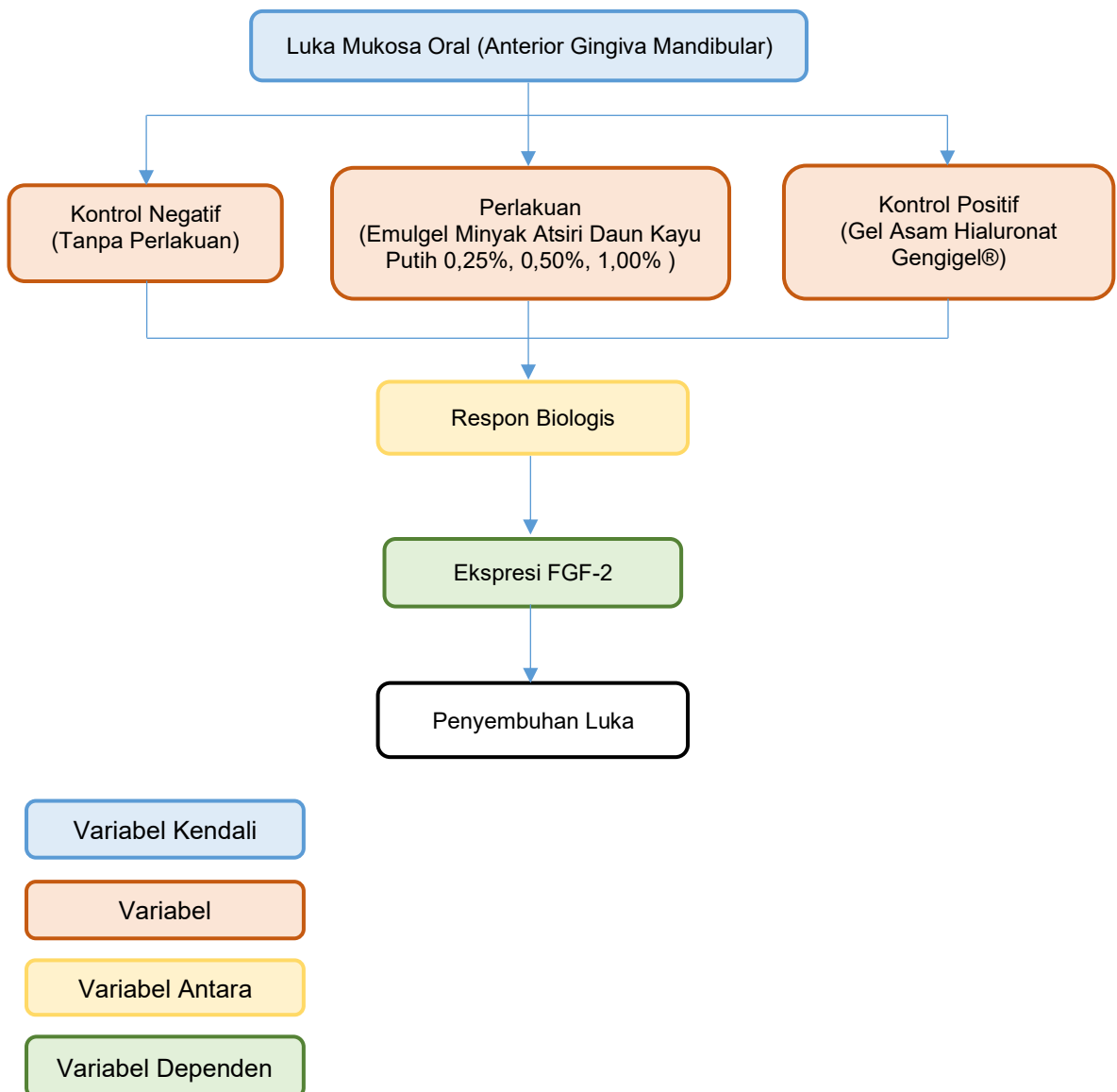
1.6. Kerangka Teori



Gambar 1.13. Kerangka Teori



1.7. Kerangka Konsep



Gambar 1.14. Kerangka Konsep

1.8. Sintesis Penelitian



or
jaruh pemberian topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih
dron) terhadap ekspresi *fibroblast growth factor 2* (FGF-2) dalam
mbuhan luka mukosa oral.

1.8.2. Hipotesis minor

1. Terdapat pengaruh pemberian topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) pada konsentrasi 0,25%, 0,50%, dan 1,0% terhadap ekspresi *fibroblast growth factor 2* (FGF-2) dalam fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral.
2. Terdapat perbedaan ekspresi FGF-2 pada fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral antara kelompok yang diberi perlakuan dengan topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) pada konsentrasi 0,25%, 0,50%, dan 1,00%, dibandingkan dengan kelompok kontrol.
3. Terdapat satu konsentrasi emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) yang memberikan peningkatan ekspresi FGF-2 paling optimal pada fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral.

1.9. Etik Penelitian

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Rumah Sakit Gigi dan Mulut Pendidikan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin dengan Nomor 162/KEPK FKG-RSGMP UH/EA/V/2025.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan dengan kelompok yang diberi perlakuan dan kelompok kontrol kemudian dilakukan observasi (*the post test only control group design*).

2.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei 2025

Penelitian dilakukan di:

1. Laboratorium Botani, Fakultas Biologi Universitas Hasanuddin → Identifikasi dan determinasi sampel daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*)
2. Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin → Pembuatan minyak atsiri dari daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*)
3. Laboratorium Farmaseutika, Fakultas Farmasi Universitas Almarisah Madani → Pembuatan topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*)
4. Doc Pet Clinic Makassar → Perlakuan hewan uji
5. Laboratorium Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC) → Pengamatan Imunohistokimia.

2.3. Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling* untuk pengambilan sampel dan simple random untuk pengelompokan hewan uji. Besar sampel penelitian yang digunakan dihitung menggunakan rumus Federer. Rumus Federer digunakan untuk menentukan jumlah pengulangan atau jumlah sampel/hewan uji agar data yang diperoleh valid. Rumus Federer adalah sebagai berikut :

$$\text{Rumus Federer: } (n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan:

n = besar sampel tiap kelompok

t = banyaknya kelompok, jumlah intervensi atau pengamatan.

Pada penelitian ini, total kelompok perlakuan ada 5, maka besar sampel tiap kelompok



$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

$$(n-1)(4) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \sim 5$$

Berdasarkan Rumus Federer 1966, jumlah sampel minimal setiap kelompok perlakuan paling sedikit 5 sampel. Setiap kelompok perlakuan akan diamati dalam dua periode waktu sehingga setiap kelompok perlakuan terdiri dari 6 sampel (3 sampel/periode waktu). Adapun total sampel yang digunakan dalam penelitian ini dengan 5 kelompok perlakuan sebanyak 30 sampel. Selama penelitian kemungkinan tikus akan mengalami kematian dan sakit atau menderita infeksi cukup besar sehingga jumlah sampel ditambah 10%. Oleh karena itu, setiap kelompok akan ditambahkan 0,6 yang dibulatkan menjadi 1 sampel. Dengan demikian jumlah keseluruhan sampel dalam penelitian ini sebanyak 35 ekor tikus. Pengelompokan dilakukan secara acak atau *random* pada setiap kelompok.

2.3.1. Kriteria sampel penelitian

Kriteria Inklusi:

- Tikus Wistar (*Rattus Novergicus Strain Wistar*)
- Tidak memiliki cacat fisik
- Berat badan 200-250 gram
- Umur sekitar 2-3 bulan
- Jenis kelamin jantan
- Keadaan sehat

Kriteria Eksklusi:

- Tikus Wistar mengalami penurunan berat badan lebih dari 10% selama proses adaptasi.
- Tikus Wistar sakit atau mati

2.4. Variabel penelitian

- a. Variabel *independent* : Emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*)
- b. Variabel *dependent* : Ekspresi FGF-2
- c. Variabel kendali : Umur, jenis kelamin, berat badan tikus Wistar, pakan dan lokasi luka
- d. Variabel tidak terkendali : Genetik tikus Wistar dan usia daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*)

2.5. Definisi Operasional Variabel

- a. Emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*)

Emulgel yang mengandung minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) dari Pegunungan di Pulau Buru, Provinsi Maluku, diformulasikan dalam konsentrasi 0,25%, 0,50%, dan 1,00% menggunakan metode emulsifikasi



bagu pada Standar Prosedur di Laboratorium Fitokimia, Fakultas Sains Hasanuddin, kemudian diaplikasikan secara topikal pada luka selama 7 hari.

protein FGF2 dalam jaringan luka yang diukur dengan metode imunohistokimia menggunakan antibodi spesifik FGF-2, dinyatakan dalam satuan pg/mL, pada hari ke-3 dan ke-7 pasca luka.

Tabel 2.1. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional Variabel	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Emulgel minyak atsiri daun kayu putih (<i>Melaleuca leucadendron</i>)	Sediaan topikal yang mengandung minyak atsiri <i>Melaleuca leucadendron</i> 0,25%, 0,50%, dan 1,00%	Gas Chromatography-Mass Spectrometry	% (b/b) gram	Nominal
Ekspresi FGF-2	Kadar protein FGF-2 dalam jaringan luka mukosa oral, diukur dari sampel jaringan pada hari ke-3 dan ke-7	ELISA	pg/mL	Numerik

2.6. Alat dan Bahan Penelitian

Bahan dan alat yang digunakan untuk penelitian hewan coba adalah:

1. Bahan dan alat keperluan kandang dan pemeliharaan. Kandang tikus, tabung minum, tempat makanan, vitamin harian, obat cacing, obat jamur, serbuk kayu, pakan harian, tisu, handscoon, dan masker.
2. Bahan dan alat keperluan anestesi, timbangan berat badan, spuit injeksi 1 cc, kapas, obat-obatan anestesi, handscoon, dan masker.

2.7. Prosedur Penelitian

2.7.1. Persiapan hewan uji

Penelitian ini mengikuti pedoman perlakuan hewan uji yang ditetapkan dalam Guide for the Care and Use of Laboratory yang mengatur etika perlakuan hewan dalam penelitian. (Nih et al., 2011) Tikus Wistar putih berusia 2-3 bulan dengan berat 200-250 gram dengan kriteria seperti pada variabel kontrol diadaptasikan di kandang tikus dengan persiapan sebagai berikut:

1. Penimbangan berat badan hewan uji agar sesuai dengan kriteria sampel.
2. Tikus ditempatkan pada kandang berukuran 45 x 35 x 20 cm dan ditempatkan di dalam ruangan yang cukup aliran udara dan cahaya. Alas kandang diberi sekam setebal 2 cm dan diganti setiap 2 hari sekali.
3. Besar seluruh sampel akan dibagi dalam 5 kelompok yang nantinya akan ditempatkan dalam 10 kandang masing-masing kandang terdiri dari 3-4 tikus.
4. Makanan diberikan secara *ad libitum* dengan menitikberatkan pada makanan yang banyak mengandung serat kasar, umbi-umbian, jagung, serta sayur hijau-hijauan yang lain.
5. Minuman diberikan dalam botol 300 ml yang dilengkapi pipa kecil diisi air matang. Makanan diberikan dalam wadah kecil dan diberi 3 kali sehari yaitu pada setiap pagi,



n.
ptasikan selama 1 minggu untuk mendapatkan kesehatan umum
penyesuaian terhadap lingkungan.
ndang:
tempatkan pada tempat yang memiliki pencahayaan yang baik.
tempatkan agak jauh dari kebisingan sehingga hewan uji bisa lebih

- c. Kandang diusahakan pada tempat yang kering agar tidak menjadi sarang penyakit.

2.7.2. Pengolahan minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*)

Minyak atsiri daun kayu putih diperoleh dengan mengacu pada Standar Prosedur Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

1. Pengambilan sampel

Sampel daun kayu putih diambil dari Pegunungan di Pulau Buru, Provinsi Maluku.

2. Identifikasi sampel

Identifikasi daun kayu putih bertujuan mengetahui jenis daun kayu putih yang digunakan dalam penelitian adalah *Melaleuca leucadendron* dan dilakukan di Laboratorium Botani, Fakultas Biologi, Universitas Hasanuddin.

3. Isolasi minyak atsiri daun kayu putih

Isolasi minyak atsiri dilakukan dengan distilasi uap terhadap 6 kg daun kayu putih segar selama 4 jam pada suhu 100-105°C. Minyak atsiri yang diperoleh dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat dan rendemen serta bobot jenisnya diukur. Bahan baku yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam distilator, kemudian bahan baku dialiri uap dari ketel pembangkit uap lalu tekanan uap dijaga konstan sesuai dengan yang diinginkan. Distilat yang dihasilkan berupa dua lapisan yaitu air dan minyak ditampung dalam corong pisah, untuk kemudian dipisahkan. Minyak yang diperoleh ditambah dengan natrium sulfat anhidrat untuk memurnikan minyak dari air yang masih terikat. Kemudian minyak dipisahkan dari air dan disimpan dalam botol kaca (Achmad et al., 2018).

4. Pembuatan sediaan emulgel

Langkah pertama pembuatan emulgel yaitu dengan pembuatan gel, dengan cara mengembangkan Carbopol 940 menggunakan mortar dengan aquadest yang telah panaskan (suhu 70-80°C) selama 30 menit, kemudian diaduk selama 15 menit sampai terdispersi sempurna, setelah itu ditambahkan TEA diaduk selama 15 menit sampai terbentuk basis yang jernih dan pH yang diinginkan. Metil paraben dan propil propilenglikol paraben didalam dilarutkan dengan cawan porselin, kemudian dicampurkan dalam basis gel. Selanjutnya pembuatan emulsi dilakukan dengan cara memanaskan fase minyak dan fase air secara terpisah. Fase minyak dibuat dengan cara meleburkan span 80, dan paraffin cair secara berturut-turut (berdasarkan titik lebur bahan) dalam cawan porselen sampai suhu 60-70°C, Minyak Kayu Putih dimasukan kedalam fase minyak setelah proses fase minyak dipanaskan selesai. Fase air dibuat dengan mencampurkan tween 80, dan aquadest pada suhu 70°C dalam cawan porselen. Setelah itu kedua fase dicampurkan dengan menuangkan fase minyak kedalam fase air lalu diaduk hingga terbentuk massa emulsi. Setelah itu massa emulsi yang telah tersiapkan kedalam basis gel pada mortir, dicampurkan dan digerus hingga terbentuk massa Emulgel (Aditi Anand Kasture et al., 2024; and Kristianingsi Topile, n.d.).



mulu perhitungan minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca* yang digunakan pada pembuatan emulgel yaitu:

- Konsentrasi 0,25% → $0,25/100 \times 60 \text{ ml} = 0,15 \text{ g (150mg)}$
- Konsentrasi 0,50% → $0,50/100 \times 60 \text{ ml} = 0,30 \text{ g (300mg)}$
- Konsentrasi 1,00% → $1,00/100 \times 60 \text{ ml} = 0,60 \text{ g (600mg)}$

Formulasi pembuatan emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1. Rancangan formula emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*)

Bahan	Formula % (b/b)			
	F1	F2	F3	Khasiat
Minyak atsiri daun kayu putih	0,25	0,50	1,00	Zat aktif
Karbopol 940	1	1	1	<i>Gelling agent</i>
Metil Paraben	0,02	0,02	0,02	Pengawet
Propil Paraben	0,02	0,02	0,02	Pengawet
Propilen glikol	10	10	10	Humektan
Paraffin cair	5	5	5	<i>Emolient</i>
Span 80	5	5	5	<i>Emulsifying agent</i>
Tween 80	5	5	5	<i>Emulsifying agent</i>
TEA (Trietanolamin)	qs	qs	qs	<i>Emulgator</i>
Aquades	Ad 60	Ad 60	Ad 60	Pelarut

5. Uji formalitas sediaan emulgel minyak atsiri daun kayu putih *Melaleuca leucadendron*)

- Uji organoleptis:** Pengamatan organoleptis dilakukan secara langsung terhadap bentuk, warna, dan bau.
- Uji homogenitas:** Uji homogenitas dilakukan dengan cara emulgel dioleskan pada gelas objek kemudian diamati apakah warna merata atau tidak terdapat butir-butir halus.
- Uji viskositas**
Pengujian viskositas bertujuan untuk mengetahui sifat alir suatu sediaan. Semakin tinggi viskositas maka semakin besar tahanan yang dihasilkan. Uji viskositas dilakukan menggunakan viskometer Brookfield dan spindle No.7.
- Uji pH:** Uji pH bertujuan untuk mengetahui tingkat keasaman atau kebasaan sediaan gel. Keadaan pH harus diatur sedemikian rupa sehingga tidak mengganggu jaringan di daerah tersebut yaitu daerah mukosa rongga mulut. sama atau pH yang baik di daerah mulut adalah 6 – 7.



bar: Pengujian daya sebar dilakukan untuk mengetahui seberapa menyebar suatu sediaan saat diaplikasikan. Semakin besar daya naka semakin baik pula sifat fisik sediaan. Daya sebar yang baik n emulgel yaitu berkisar 3-5 cm.

cat: Penentuan daya lekat berupa waktu yang diperlukan sampai objek terlepas.

- g. Uji stabilitas:** Pengujian stabilitas dilakukan untuk mengetahui kestabilan emulgel pada suhu ruangan, suhu kulkas, dan suhu tubuh.

2.7.3. Pembuatan alat perlukaan

Alat perlukaan pada mukosa mulut pada penelitian ini dirancang dengan mengadaptasi desain digital perangkat intraoral berbasis penelitian sebelumnya. (Gad et al., 2022; Sultan et al., 2019) Desain alat dimodifikasi sesuai dengan kebutuhan penelitian dengan menggunakan teknologi CAD/CAM dengan komponen utama berupa *blade* dari resin akrilik 3D untuk resin *One Dental System (Denture Base ODS)* dan *handle* dari resin standar (*SUNLU*). Proses pembuatan diawali dengan desain alat secara digital menggunakan perangkat lunak *Autodesk Fusion 360 (Education License)*. Blade dirancang tipis dan tajam dengan ketebalan 1,5-5 mm untuk menghasilkan perlukaan mukosa yang terkontrol, sedangkan *handle* dibuat sepanjang 8 cm agar nyaman digenggam serta kompatibel dengan *blade* yang dapat dilepas-pasang. File desain diekspor ke format STL, kemudian diproses menggunakan printer 3D (*Anycubic Photon Mono M7*). Setelah pencetakan selesai, alat dibersihkan dari sisa resin lalu dilakukan post-curing (*Anycubic Wash & Cure 3*) menggunakan sinar UV 405 nm selama 7 hingga 14 menit untuk memastikan polimerisasi sempurna dan meningkatkan kekuatan mekanis.

Uji coba alat perlukaan yang telah dirancang dilakukan terlebih dahulu pada jaringan dada ayam untuk menentukan standar jumlah gesekan yang diperlukan sebelum diaplikasikan pada mukosa mulut tikus. Pengujian ini bertujuan memastikan bahwa alat mampu menghasilkan luka yang konsisten dan terukur. Prosedur dilakukan dengan menggesekkan *blade* pada permukaan dada ayam secara berulang, sambil mengamati perubahan makroskopis pada jaringan hingga didapatkan hasil luka. Hasil uji coba pada jaringan dada ayam diperoleh standar bahwa lima kali gesekan satu arah mampu menghasilkan luka. Standar jumlah gesekan ini kemudian dijadikan acuan pada tahap berikutnya, yaitu saat pembuatan luka traumatis pada mukosa mulut tikus sehingga proses pembuatan luka dapat berlangsung secara terkontrol.

2.7.4. Perlakuan hewan uji

Penelitian ini menggunakan 35 ekor tikus wistar jantan. Prosedur anestesi dengan menggunakan *Ketamine Hydrochloride* 40 mg/kgBB dan *Xylazine* 5 mg/kgBB. Setelah tikus teranestesi sempurna, area sekitar mulut tikus dibersihkan secara antiseptik menggunakan larutan Chlorhexidine Gluconate 0,12% yang dioleskan dengan kapas steril untuk mengurangi risiko infeksi. Pembuatan luka mukosa oral pada daerah anterior gingiva mandibular tikus Wistar yang diinduksi dengan lempeng akrilik steril berukuran 3 cm x 3 cm dengan ketebalan 1,5 mm sebagai panduan. Luka insisi dibuat sepanjang 1 cm dan 1 mm secara hati-hati. Setelah itu luka diirigasi dengan larutan povidone yodine 10% untuk disinfektasi. Setelah itu dilakukan perlakuan pada masing-masing kelompok yaitu: 1. Kontrol: Tikus tidak diberikan perlakuan apa pun. 2. Luka: Tikus diberikan luka insisi pada daerah anterior gingiva mandibular. 3. Luka + Emulgel: Tikus diberikan luka insisi pada daerah anterior gingiva mandibular dan diberikan emulgel dari masing-masing 6 ekor tikus Wistar. Luka dioleskan emulgel daun kayu putih (*Melaleuca Leucadendron*) 0,25% dengan *Hydrocortisone* 1% dan *Clotrimazole* 1% 2 kali sehari per 12 jam, selama 7 hari berturut-turut.



2. **Kelompok II** terdiri dari masing-masing 6 ekor tikus Wistar. Luka dioleskan emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca Leucadendron*) 0,50% dengan menggunakan *cotton bud* 2 kali sehari per 12 jam, selama 7 hari berturut-turut.
3. **Kelompok III** terdiri dari masing-masing 6 ekor tikus Wistar. Luka emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca Leucadendron*) 1,00% dengan menggunakan *cotton bud* 2 kali sehari per 12 jam, selama 7 hari berturut-turut.
4. **Kelompok IV** terdiri dari masing-masing 6 ekor tikus Wistar. Luka dioleskan asam hialuronat 0,2% (gengigel®) dengan menggunakan *cotton bud* 2 kali sehari per 12 jam, selama 7 hari berturut-turut.
5. **Kelompok V** terdiri dari masing-masing 6 ekor tikus Wistar. Luka tidak diberikan perlakuan apapun.
6. Prosedur penelitian yaitu:
 - a. Sebelum dilakukan sayatan dan pemberian emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) pada luka, hewan uji dipuasakan selama 6 jam.
 - b. Dalam setiap aplikasi emulgel minyak atsiri dan asam hialuronat (gengigel®), pengaplikasian menggunakan *cotton bud* steril yang digerakan searah hingga menutupi seluruh permukaan luka. Aplikasi dilakukan dua kali sehari pada pagi hari pukul 08.00-10.00 WITA dan sore hari pada pukul 16.00-18.00 selama 7 hari. Tikus tidak diperbolehkan makan dan minum selama satu jam setelah pengaplikasian topikal untuk memastikan cakupan aplikasi optimal.

2.7.5. Pengukuran luka dan pengambilan jaringan mukosa

Pengambilan sampel jaringan mukosa tikus Wistar di tiap kelompok hari pada hari ke-3 dan 7 pasca luka mukosa oral (anterior gingiva mandibular). Tiga ekor tikus dari masing-masing kelompok pada setiap interval waktu perlakuan dieutanasia. Prosedur eutanasia dilaksanakan sesuai dengan panduan *AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals* dengan memberikan anestesi terlebih dahulu menggunakan kombinasi Ketamine (200 mg/kg) dan Xylazine (25 mg/kg) melalui injeksi intraperitoneal. Kombinasi anestetik ini akan menimbulkan efek hilangnya kesadaran secara bertahap, diikuti dengan kematian yang berlangsung tanpa menimbulkan rasa nyeri. (Leary and Johnson, 2020) Setelah dipastikan hewan uji telah mencapai kondisi tidak sadar dan tidak menunjukkan respons terhadap rangsangan, pengukuran luka dilakukan dengan menggunakan kaliper digital (INSIZE®) yang memiliki ketelitian 0,01 mm (Diaz et al., 2024). Setelah pengukuran luka, dilakukan pengambilan sampel jaringan anterior gingiva mandibular. Sampel segar segera dimasukkan ke dalam tabung kimia steril dan dibekukan untuk analisis ekspresi FGF-2 dengan ELISA. Sampel tersebut dibawa ke *Laboratorium Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC)* untuk mengukur ekspresi FGF-2 menggunakan metode ELISA (*Enzyme-Linked*



y).

a Hari ke – n

$$\left(\frac{\text{Ukuran Luka Hari ke } - 0 - \text{Ukuran Luka Hari ke } - n}{\text{Ukuran Luka Hari ke } - 0} \right) \times 100\%$$

luka (3 dan 7)

2.7.6. Pengukuran ekspresi FGF-2 dengan ELISA

Pengukuran ekspresi FGF-2 pada sampel jaringan dilakukan menggunakan Rat bFGF/FGF-2 ELISA Kit (Elabscience, Kode E-EL-R0091) sesuai protokol pabrik. Jaringan beku terlebih dahulu dihomogenisasi dalam larutan *Phosphate-Buffered Saline* (PBS) dan disonifikasi untuk memecah sel. Suspensi jaringan kemudian disentrifugasi untuk mendapatkan supernatan jernih. Protein total supernatant diukur menggunakan metode Bradford untuk standardisasi konsentrasi protein antar sampel ("Elabscience ® Rat bFGF/FGF2(Basic Fibroblast Growth Factor) ELISA Kit," n.d.).

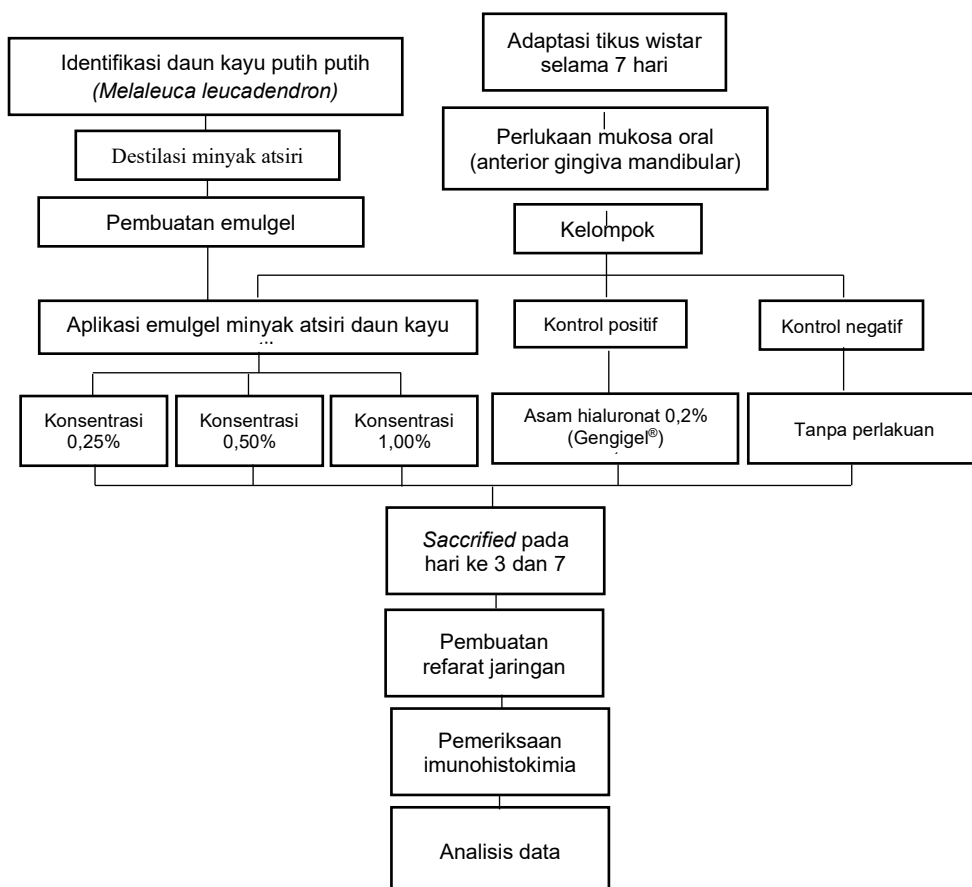
Supernatan jaringan sebanyak 100 µL dengan konsentrasi protein total yang telah disesuaikan dimasukkan ke dalam *well plate* yang telah dilapisi antibodi anti-FGF-2 bersama dengan standar FGF-2. *Plate* kemudian diinkubasi selama 90 menit pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, ditambahkan 100 µL *biotinylated detection antibody* dan diinkubasi selama 60 menit. Setelah pencucian dengan *wash buffer* sebanyak tiga kali, dilakukan penambahan 100 µL *HRP Conjugate* dan inkubasi selama 30 menit. Tahap selanjutnya dilakukan pencucian dengan *wash buffer* sebanyak lima kali. Reaksi warna dikembangkan dengan penambahan 90 µL *substrate reagent* selama 15 menit dan dihentikan dengan stop solution. ("Elabscience ® Rat bFGF/FGF2(Basic Fibroblast Growth Factor) ELISA Kit," n.d.) Pembacaan absorbansi dilakukan dengan ELISA reader (Biobase BK-EL10A) pada panjang gelombang 450 nm.

2.8. Analisis Data

- Jenis data : Jenis data yang digunakan adalah Data Primer
- Pengolahan data : Data diolah melalui pengujian *software Statistical Product and Service Solutions* statistic SPSS versi 27.0
- Penyajian data : Data di sajikan dalam bentuk tabel dan grafik menggunakan aplikasi *Graphpad Prism 10.5.0*.
- Analisis data : Data primer dari FGF-2 yang didapatkan dari laboratorium Mikrobiologi RSP UNHAS, terlebih dahulu diuji normalitas datanya menggunakan Shapiro Wilk Test dan uji homogenitas dengan uji Levene . Untuk mengevaluasi pengaruh perlakuan terhadap kadar FGF-2 pada hari ke-3 dan ke-7, dilakukan uji *independent sample T-test* pada setiap kelompok sehingga dapat diketahui perubahan yang terjadi dalam masing-masing kelompok seiring waktu. Selain itu, untuk menganalisis perbedaan diantara kelompok penelitian dilakukan dengan *One-Way ANOVA* dan uji lanjutan post-hoc *Least Significant Difference* (LSD) dilakukan untuk mengidentifikasi kelompok mana yang secara spesifik berbeda. Hasil analisa dinyatakan signifikan atau terdapat perbedaan jika nilai $p < 0,05$.



2.9. Alur Penelitian



Gambar 2.1. Alur Penelitian

