

BAB I PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Lesi mukosa pada pasien dengan gigi tiruan lepasan, baik gigi tiruan sebagian lepasan maupun gigi tiruan penuh, cukup bervariasi. Terjadinya lesi dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti lamanya pemakaian gigi tiruan, kondisi gigi tiruan, dan kebersihan mulut¹. Penyembuhan luka mukosa oral, terutama yang terjadi setelah prosedur seperti ekstraksi gigi atau penggunaan gigi tiruan, merupakan proses biologis yang melibatkan respons inflamasi, proliferasi, dan pematangan jaringan. Salah satu faktor penting yang terlibat dalam penyembuhan luka adalah Platelet-Derived Growth Factor (PDGF), yang berfungsi untuk merangsang proliferasi sel-sel reparasi seperti fibroblas dan sel endotel, serta pembentukan matriks ekstraseluler yang mendukung regenerasi jaringan. PDGF, terutama pada fase proliferasi, memainkan peran sentral dalam mempercepat penyembuhan luka dengan meningkatkan migrasi dan proliferasi sel-sel reparatif². Namun, gangguan dalam aktivitas PDGF atau inflamasi yang berlebihan dapat menyebabkan keterlambatan penyembuhan dan komplikasi seperti infeksi atau pembentukan jaringan parut yang tidak optimal.

Salah satu komplikasi umum yang sering terjadi pada pasien dengan gigi tiruan lepasan adalah lesi mukosa oral. Lesi mukosa ini dapat muncul akibat trauma mekanis, iritasi kronis akibat gigi tiruan yang longgar, atau reaksi terhadap mikroba pada plak gigi tiruan. Jenis-jenis lesi yang sering terjadi mencakup hiperemia lokal atau general, ulkus traumatik, denture-induced mucosa hyperplasia, flabby ridge, angular cheilitis, denture stomatitis, dan yang lebih jarang, oral carcinoma³. Lesi ini dapat menyebabkan ketidaknyamanan yang signifikan pada pasien, mempengaruhi stabilitas dan retensi gigi tiruan, serta membuat pasien enggan untuk menggunakan gigi tiruan secara teratur. Ini berdampak langsung pada fungsi oral seperti berbicara, mastikasi, dan estetika. Selain itu, cedera kronis yang diinduksi oleh gigi tiruan pada mukosa oral dapat menjadi predisposisi terjadinya oral carcinoma, meskipun hal ini sangat jarang terjadi⁴. Prevalensi lesi mukosa oral yang disebabkan oleh gigi tiruan bervariasi di berbagai negara, dengan angka prevalensinya berkisar antara 10,8% hingga 62%⁵.

Untuk mengatasi masalah ini, terapi berbasis senyawa alami semakin menarik perhatian. Minyak atsiri dari daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) telah lama dikenal karena sifat anti-inflamasi, antibakteri, dan antimikroba yang efektif dalam pengobatan berbagai lesi pada mukosa oral. Senyawa aktif dalam minyak atsiri ini, seperti sineol, α -pinene, dan α -terpineol, memiliki kemampuan untuk mengurangi inflamasi dengan menurunkan produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 dan TNF- α ^{6,7}. Penurunan kadar sitokin pro-inflamasi ini dapat membantu mempercepat proses penyembuhan luka dengan mengatur respons inflamasi yang berlebihan, yang menjadi faktor penting dalam penyembuhan lesi mukosa oral⁴. Selain efek anti-inflamasi, minyak atsiri daun kayu putih juga telah terbukti merangsang proliferasi fibroblas dan ekspresi PDGF, yang berperan

dalam fase proliferasi penyembuhan luka⁸. Selain itu, penelitian yang dilakukan Jiang F et al (2019) pada tikus menunjukkan pengobatan dengan sineol menghasilkan pengurangan peradangan endotel vaskular yang dimediasi oleh sitokin pro-inflamasi pada peradangan sistemik yang diinduksi LPS⁹. Namun, pengaruh spesifik sineol dalam konteks penyembuhan luka mukosa masih minim, yang menjadikan penelitian ini sangat relevan. Dalam melakukan penelitian ini, penting untuk mempertimbangkan metodologi yang tepat untuk mengevaluasi efektivitas sineol dalam meningkatkan aktivitas PDGF. Penelitian in vivo akan memberikan pemahaman yang lebih baik mengenai mekanisme yang terlibat dalam penyembuhan socket gigi

Oleh karena itu, penggunaan gel topikal yang mengandung ekstrak minyak atsiri daun kayu putih berpotensi untuk mempercepat penyembuhan lesi mukosa oral dengan meningkatkan ekspresi PDGF pada fase proliferasi, sambil mengurangi peradangan yang dapat menghambat proses penyembuhan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi pengaruh pemberian gel topikal yang mengandung ekstrak minyak atsiri daun kayu putih terhadap peningkatan ekspresi PDGF dalam proses penyembuhan lesi ulserasi mukosa pada tikus secara in vivo. Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap pengembangan terapi berbasis senyawa alami yang lebih efektif untuk pengelolaan lesi mukosa oral, khususnya pada pasien yang menggunakan gigi tiruan lepasan dalam jangka panjang.

Diharapkan, temuan dari penelitian ini dapat memberikan wawasan baru mengenai potensi penggunaan senyawa alami dalam terapi kedokteran gigi, serta memperkuat bukti ilmiah terkait pengembangan terapi berbasis senyawa bioaktif yang aman dan efektif untuk mempercepat penyembuhan luka mukosa oral.

1.2 TEORI

1.2.1 Lesi Mukosa Oral dan Pengaruh Gigi Tiruan

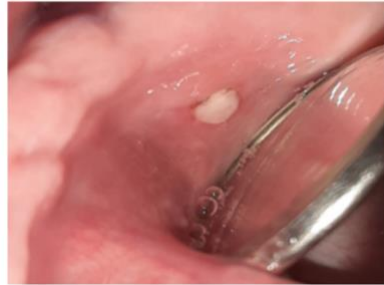
Lesi mukosa oral adalah luka atau peradangan yang terjadi pada lapisan jaringan mukosa mulut. Terjadinya lesi dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti lamanya pemakaian gigi tiruan, kondisi gigi tiruan, dan kebersihan mulut¹. Salah satu kondisi yang paling sering terkait dengan lesi mukosa oral adalah penggunaan gigi tiruan lepasan, yang dapat menyebabkan ketidaknyamanan dan mengganggu kualitas hidup pasien. Penggunaan gigi tiruan yang tidak pas atau tidak terawat dengan baik dapat memperburuk kondisi ini, menyebabkan peradangan yang berlangsung lama, serta meningkatkan risiko komplikasi¹⁰.

1.2.1.1 Jenis-Jenis Lesi Mukosa Oral pada Pengguna Gigi Tiruan

Lesi mukosa oral yang terjadi akibat penggunaan gigi tiruan dapat bervariasi dalam jenis dan tingkat keparahannya. Beberapa jenis lesi yang paling umum diidentifikasi pada pasien dengan gigi tiruan antara lain¹¹:

- a) **Ulkus Traumatik:** Ulkus atau luka terbuka yang terjadi akibat tekanan atau gesekan berulang dari gigi tiruan yang tidak pas. Ulkus ini dapat

menyebabkan rasa sakit yang hebat dan mengganggu proses makan dan berbicara. Ulkus traumatik sering kali ditemukan pada area kontak langsung antara gigi tiruan dengan jaringan mukosa¹²



Gambar 1.1. 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)

- b) Stomatitis Denture: Kondisi ini ditandai dengan peradangan pada mukosa yang biasanya terjadi pada pasien yang menggunakan gigi tiruan lepasan dalam jangka panjang. Stomatitis denture sering disebabkan oleh iritasi mekanis yang berulang serta infeksi jamur, khususnya oleh *Candida albicans*, yang tumbuh di bawah gigi tiruan. Peradangan ini dapat menyebabkan kemerahan, pembengkakan, dan nyeri pada jaringan mukosa, serta menyebabkan ketidaknyamanan saat menggunakan gigi tiruan¹³.



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)

- c) Epulis Fissuratum: Hiperplasia ini terjadi akibat iritasi kronis dari gigi tiruan pada mukosa, yang menyebabkan proliferasi berlebihan dari jaringan mukosa di bawah gigi tiruan. Lesi ini sering ditemukan pada pasien yang tidak melepaskan gigi tiruan mereka pada malam hari atau yang tidak menjaga kebersihan gigi tiruan dengan baik.

Hiperplasia dapat menambah ketidaknyamanan dan bahkan dapat mengganggu retensi gigi tiruan ¹⁴.



Gambar 1.3. 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)

- d) Angular Cheilitis: Merupakan peradangan pada sudut mulut yang dapat terjadi sebagai akibat dari iritasi yang disebabkan oleh lipatan gigi tiruan atau kekurangan kelembapan. Selain itu, infeksi Candida atau bakteri lain juga sering ditemukan pada kasus ini ¹¹



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)

1.2.1.2 Faktor Penyebab Lesi Mukosa Oral pada Pengguna Gigi Tiruan

Lesi mukosa oral pada pasien dengan gigi tiruan sering kali disebabkan oleh beberapa faktor yang saling berinteraksi. Beberapa faktor utama penyebab lesi ini adalah:

- a) Trauma Mekanis: Gigi tiruan yang tidak pas atau longgar dapat menyebabkan trauma mekanis pada mukosa. Gesekan yang berulang atau tekanan yang terus-menerus pada jaringan mukosa dapat menyebabkan luka terbuka atau peradangan, seperti ulkus traumatik dan stomatitis denture. Trauma kronis akibat gigi tiruan yang tidak terpasang dengan baik dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang berkelanjutan dan memperburuk kondisi mukosa ^{11,12}

- b) Iritasi Kimia dan Mikrobiologi: Penggunaan gigi tiruan dalam jangka panjang dapat meningkatkan risiko infeksi, terutama infeksi jamur yang disebabkan oleh *Candida albicans*. Plak yang terbentuk pada gigi tiruan, yang biasanya terdiri dari bakteri dan jamur, dapat mengiritasi mukosa oral dan menyebabkan stomatitis denture. Selain itu, penggunaan bahan kimia dalam pembersihan gigi tiruan yang tidak tepat juga dapat berkontribusi terhadap iritasi mukosa¹⁵
- c) Pengelolaan Kebersihan Mulut yang Buruk: Kebersihan mulut yang buruk pada pasien dengan gigi tiruan sering kali menjadi faktor pemicu lesi mukosa. Plak gigi tiruan yang terbentuk karena sisa makanan dan bakteri dapat mengiritasi mukosa dan menyebabkan peradangan atau infeksi. Oleh karena itu, kebiasaan perawatan gigi tiruan yang tidak memadai, seperti tidak membersihkan gigi tiruan secara teratur, meningkatkan risiko pengembangan lesi mukosa oral¹⁵

1.2.1.3 Komplikasi Jangka Panjang Akibat Lesi Mukosa Oral

Lesi mukosa oral yang disebabkan oleh gigi tiruan tidak hanya dapat menyebabkan ketidaknyamanan dan gangguan fungsi oral, tetapi juga dapat berkontribusi terhadap komplikasi jangka panjang yang lebih serius. Salah satu komplikasi yang jarang namun sangat berbahaya adalah karsinoma oral. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa iritasi kronis yang disebabkan oleh gigi tiruan yang tidak pas atau tidak terawat dengan baik dapat meningkatkan risiko berkembangnya karsinoma oral^{13,14}. Meskipun kasus ini sangat jarang, cedera yang berulang dapat merusak integritas mukosa oral dan memfasilitasi perubahan seluler yang dapat berpotensi berkembang menjadi kanker.

Selain itu, lesi mukosa yang tidak sembuh dengan baik atau berulang dapat menyebabkan penurunan kualitas hidup pasien. Gangguan pada kemampuan berbicara, makan, dan berinteraksi sosial sering kali terjadi pada pasien dengan lesi mukosa oral yang parah. Ketidaknyamanan fisik, rasa sakit, dan penurunan fungsi oral dapat mengurangi kepercayaan diri dan menyebabkan stres emosional pada pasien¹⁵.

1.2.1.4 Prevalensi Lesi Mukosa Oral pada Pengguna Gigi Tiruan

Prevalensi lesi mukosa oral pada pengguna gigi tiruan sangat bervariasi, tergantung pada faktor individu dan cara pengelolaan kebersihan mulut. Beberapa studi menunjukkan angka prevalensi yang signifikan, berkisar antara 10,8% hingga 62%, dengan prevalensi yang lebih tinggi pada pasien yang menggunakan gigi tiruan lepasan dalam jangka panjang¹⁶. Penurunan prevalensi dapat dicapai dengan pengelolaan kebersihan gigi tiruan yang lebih baik dan penggunaan teknik perawatan yang tepat. Faktor risiko individu, seperti kebiasaan merokok, diabetes, dan usia lanjut, juga dapat meningkatkan prevalensi lesi mukosa oral pada pasien dengan gigi tiruan.

1.2.2 Penyembuhan Luka dan Proses Regenerasi Jaringan

Penyembuhan luka adalah proses fisiologis yang melibatkan serangkaian tahapan kompleks yang bertujuan untuk memperbaiki jaringan tubuh yang rusak akibat cedera. Proses penyembuhan luka terdiri dari empat fase utama yang saling berkesinambungan, yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan maturasi. Hemostasis adalah tahap pertama yang terjadi segera setelah luka, di mana tubuh berhenti dari perdarahan dengan membentuk bekuan darah untuk mengatasi hilangnya darah dan memulai proses penyembuhan. Fase inflamasi diikuti oleh reaksi sistem imun terhadap cedera untuk membersihkan mikroorganisme patogen dan jaringan yang mati^{17,18}.

Fase proliferasi adalah tahap kritis dalam proses penyembuhan, di mana terjadi regenerasi sel-sel baru dan pembentukan jaringan granulasional. Pada tahap ini, fibroblas berperan penting dalam sintesis kolagen dan matriks ekstraseluler yang mendukung penyembuhan jaringan. Selain itu, pada fase ini juga terjadi angiogenesis, yaitu pembentukan pembuluh darah baru yang memungkinkan suplai darah yang cukup untuk mendukung proses regenerasi jaringan yang berlangsung. Fase terakhir, maturasi, ditandai dengan pematangan dan penguatan jaringan baru yang terbentuk¹⁸.

Dalam semua tahapan ini, faktor pertumbuhan memiliki peran yang sangat penting, terutama dalam pengaturan proliferasi sel dan pembentukan jaringan baru. Salah satu faktor pertumbuhan utama yang terlibat dalam penyembuhan luka adalah Platelet-Derived Growth Factor (PDGF), yang terlibat dalam stimulasi proliferasi dan migrasi fibroblas serta pembentukan pembuluh darah baru¹⁹.

1.2.3 Mekanisme Kerja dan Peran Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)

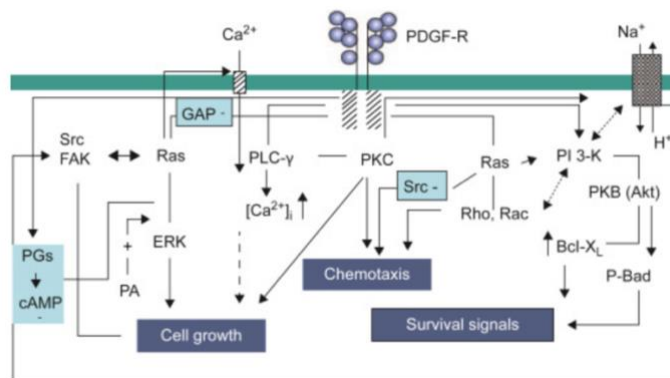
1.2.3.1 Definisi *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF)

Platelet-Derived Growth Factors (PDGF) merupakan faktor pertumbuhan yang berperan selama proses penyembuhan luka dengan cara merangsang terjaidnya perbaikan jaringan, proliferasi sel dan diferensiasi sel. PDGF berasal dari trombosit yang teraktivasi melepaskan faktor α . PDGF berperan dalam banyak aspek termasuk hemostatis seperti penyempitan pembuluh darah, perekutan leukosit dan perbaikan pembuluh darah. PDGF diproduksi saat terjadi cedera dan berperan dalam setiap tahap penyembuhan luka. PDGF bekerja sama dengan IL-1 (Interleukin-1) untuk menarik neutrofil ke lokasi luka yang memiliki tujuan menghilangkan bakteri di daerah luka.²⁰

1.2.3.2 Mekanisme Kerja *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF)

Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) adalah salah satu faktor pertumbuhan yang memiliki peran krusial dalam proses penyembuhan luka, termasuk luka yang terjadi di rongga mulut setelah prosedur bedah, seperti pencabutan gigi atau tindakan preprostetik. PDGF disekresi oleh trombosit yang teraktivasi setelah cedera jaringan, serta oleh berbagai jenis sel lain seperti sel fibroblas dan sel endotel. Setelah luka terjadi, PDGF dilepaskan dari granula trombosit yang aktif dan beredar di area

luka. DGF bekerja dengan mengikat reseptor spesifik yang terdapat pada permukaan sel target. Ada dua jenis reseptor utama untuk PDGF, yaitu PDGFR- α (reseptor alfa) dan PDGFR- β (reseptor beta).^{21,22}



Gambar 1.5 Pensinyalan PDGF dalam sel stellata hepatic.

PDGF berikatan dengan reseptor dengan aktivitas tirosin kinase intrinsik. Dimerisasi reseptor mengarah pada autofosforilasi dengan pembentukan situs pengikatan afinitas tinggi untuk memberi sinyal protein dengan domain SH-2 (pengikatan tirosin) atau PTB. Jalur hilir secara berbeda terlibat dalam regulasi aktivitas biologis PDGF. PDGF, Faktor pertumbuhan yang diturunkan dari trombosit; PTB, pengikatan fosfotirosin; SH-2, homologi src 2.

Sumber: Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine (2008)

Masing-masing reseptor ini terdapat pada jenis sel yang berbeda, seperti fibroblas, sel endotel, sel-sel otot polos, dan sel-sel mesenkimal lainnya. Ketika PDGF berikatan dengan reseptor pada permukaan sel, terjadi proses fosforilasi tirosin pada domain sitoplasmik reseptor tersebut. Interaksi ini mengaktifkan berbagai jalur sinyal seluler yang berperan dalam proses migrasi, proliferasi, dan diferensiasi sel. Salah satu dampak langsung dari aktivasi ini adalah peningkatan jumlah fibroblas yang berperan dalam sintesis kolagen dan matriks ekstraseluler, serta sel-sel endotel yang terlibat dalam angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru.²³

Pada fibroblas, sel utama yang terlibat dalam pembentukan matriks ekstraseluler dan jaringan ikat, PDGF merangsang proliferasi dan migrasi sel-sel tersebut menuju area luka. PDGF juga meningkatkan sintesis komponen utama matriks ekstraseluler, terutama kolagen tipe I dan III, yang membentuk kerangka untuk jaringan parut yang terbentuk selama penyembuhan luka. Kolagen ini memberikan kekuatan struktural pada jaringan yang sedang memperbaiki diri, sehingga area luka dapat menahan stres mekanis dan memperbaiki fungsi jaringan yang rusak. Selain itu, PDGF juga mendorong fibroblas untuk menghasilkan

proteoglikan dan glikosaminoglikan (GAG), yang berfungsi untuk mengisi ruang antar sel dan meningkatkan kekuatan jaringan parut. Proses angiogenesis sangat penting karena menyediakan suplai darah yang kaya oksigen dan nutrisi untuk area luka, yang esensial untuk regenerasi jaringan. PDGF juga mempengaruhi migrasi sel fibroblas dan sel-sel lain yang terlibat dalam proses penyembuhan, memastikan bahwa sel-sel tersebut bergerak menuju area cedera untuk memperbaiki kerusakan dan membentuk jaringan parut yang baru. Dengan demikian, PDGF mendukung proses penyembuhan luka dengan merangsang pembentukan jaringan baru yang lebih kuat dan elastis.^{24,25}

1.2.3.3 Peranan Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)

Peranan Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) dalam penyembuhan luka rongga mulut sangat signifikan, terutama dalam konteks prosedur bedah seperti pencabutan gigi atau operasi preprostetik, yang seringkali menyebabkan cedera pada jaringan lunak dan keras di area mulut. Penyembuhan luka pada rongga mulut memiliki tantangan tersendiri karena area tersebut terus terpapar mikroorganisme dan makanan, sehingga mempercepat proses penyembuhan sangat penting untuk mengurangi risiko infeksi. PDGF berkontribusi besar dalam mempercepat proses penyembuhan dengan merangsang proliferasi sel-sel yang terlibat dalam pembentukan jaringan baru. Selain itu, PDGF juga mengurangi potensi komplikasi infeksi dengan membantu menutup luka lebih cepat, mengurangi waktu paparan terhadap mikroorganisme patogen. Pada kasus pencabutan gigi, misalnya, PDGF mempercepat regenerasi jaringan lunak dan keras, serta mempercepat pembentukan dan integrasi jaringan periodontal yang baru. Dalam hal ini, PDGF juga memainkan peran dalam regenerasi tulang alveolar, yang penting untuk menjaga stabilitas dan struktur tulang di area yang telah kehilangan gigi. Dalam bidang prostodontik, regenerasi tulang yang baik akan memfasilitasi pemasangan protesa yang lebih stabil dan efektif.^{24,26}

1.2.4 Emulgel Minyak Kayu Putih

1.2.4.1 Minyak Kayu Putih

Tanaman kayu putih (*Melaleuca leucadendron* Linn.) merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang penting bagi industri minyak atsiri di Indonesia. Minyak kayu putih merupakan salah satu jenis minyak atsiri yang banyak digunakan untuk bahan berbagai produk kesehatan atau farmasi sehingga minyak kayu putih menjadi produk yang banyak dicari. Kebutuhan minyak kayu putih saat ini semakin meningkat dengan semakin berkembangnya variasi dari pemanfaatan minyak kayu putih²⁷.

1.2.4.2 Emulgel Minyak Kayu Putih

Emulgel adalah sistem penghantaran obat yang menggabungkan sifat emulsi dan gel, menawarkan keuntungan seperti peningkatan stabilitas, kemudahan aplikasi, dan pelepasan obat yang terkontrol. Minyak kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) dikenal memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk efek antimikroba, antiinflamasi, dan analgesik. Penggabungan minyak kayu putih ke dalam formulasi emulgel dapat meningkatkan efikasi terapeutiknya, terutama dalam konteks penyembuhan luka dalam rongga mulut.²⁸

Dalam prostodonsia, penggunaan emulgel minyak kayu putih dapat berperan dalam mempercepat proses penyembuhan luka dengan memodulasi aktivitas Platelet-Derived Growth Factor (PDGF). PDGF adalah faktor pertumbuhan yang berperan penting dalam proses regenerasi jaringan dengan merangsang proliferasi dan migrasi sel, termasuk fibroblas dan sel endotel. Dengan demikian, aplikasi topikal emulgel yang mengandung minyak kayu putih berpotensi meningkatkan aktivitas PDGF, sehingga mempercepat proses penyembuhan luka dan mempersiapkan area untuk prosedur prostodonsia selanjutnya^{26,28}.

Namun, meskipun potensi terapeutik minyak kayu putih menjanjikan, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengkonfirmasi efektivitas dan keamanan formulasi emulgel ini dalam konteks klinis. Studi *in vivo* dan uji klinis pada manusia diperlukan untuk memastikan bahwa emulgel minyak kayu putih dapat menjadi alternatif yang efektif dan aman dalam manajemen luka dalam rongga mulut.

Dengan demikian, integrasi minyak kayu putih ke dalam formulasi emulgel menawarkan pendekatan inovatif dalam mendukung proses penyembuhan luka dalam bidang prostodonsia, dengan potensi untuk meningkatkan hasil klinis dan kesejahteraan pasien.

1.2.4.3 Sineol pada Daun Kayu Putih (*Melaleuca leucadendron*)

Melaleuca leucadendron, yang dikenal dengan nama daun kayu putih, merupakan tanaman yang berasal dari Australia dan terkenal karena kandungan minyak esensialnya yang memiliki banyak manfaat terapeutik. Salah satu komponen utama dalam minyak esensial daun kayu putih adalah sineol (1,8-cineole), yang dikenal memiliki sifat anti-inflamasi, antibakteri, dan penyembuhan luka. Sineol telah terbukti efektif dalam mengurangi peradangan, mempercepat penyembuhan luka, dan melawan infeksi pada luka²⁹.

Sineol bekerja dengan cara menghambat sintesis prostaglandin, yang merupakan mediator penting dalam proses peradangan. Dengan mengurangi peradangan, sineol membantu mempercepat penyembuhan luka dan mencegah komplikasi infeksi yang dapat memperlambat proses regenerasi jaringan. Selain itu, sineol juga diketahui dapat meningkatkan aktivitas faktor pertumbuhan, termasuk PDGF, yang penting dalam proses penyembuhan luka^{29,30}.

Penelitian oleh de Almeida et al. (2016) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kayu putih yang mengandung sineol dapat mempercepat proses penyembuhan luka pada hewan percobaan dengan meningkatkan aktivitas faktor pertumbuhan dan merangsang pembentukan jaringan granulasional yang penting dalam fase proliferasi penyembuhan luka³¹

1.2.4.4 Penggunaan Topikal Gel untuk Penyembuhan Luka

Pemberian obat topikal merupakan pendekatan yang banyak digunakan dalam pengobatan luka karena dapat memberikan efek terapeutik langsung pada area yang terluka, dengan dosis yang dapat dikendalikan dan penetrasi yang baik ke dalam jaringan yang rusak. Gel topikal memiliki keuntungan dalam hal kemudahan aplikasi, kemampuan untuk mempertahankan kelembapan pada area luka, serta penetrasi yang lebih baik dibandingkan dengan sediaan topikal lainnya seperti salep atau krim³².

Pemberian gel topikal yang mengandung bahan aktif seperti sineol dapat merangsang proses penyembuhan luka melalui beberapa mekanisme, termasuk pengurangan peradangan, peningkatan sintesis kolagen, dan stimulasi faktor pertumbuhan seperti PDGF. Penelitian oleh Elbhensawi NA et al. (2023) menunjukkan bahwa gel topikal yang mengandung ekstrak daun kayu putih dapat mempercepat penyembuhan luka pada kulit dan mukosa dengan meningkatkan aktivitas PDGF dan mempercepat pembentukan jaringan granulasional³³.

1.2.4.5 Studi In Vivo tentang Efek Pemberian Sineol Pada Penyembuhan Luka

Banyak studi in vivo yang telah dilakukan untuk mengevaluasi efek pemberian sineol dalam mempercepat penyembuhan luka. Penelitian oleh Jamshidi et al. (2013) mengungkapkan bahwa pemberian sineol pada tikus yang mengalami luka kulit meningkatkan kadar PDGF dan mempercepat proses penyembuhan luka. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sineol dapat merangsang proliferasi fibroblas, pembentukan kolagen, dan angiogenesis, yang semuanya berkontribusi pada percepatan penyembuhan luka³⁴.

Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Jamsidi et al. (2013) juga menunjukkan bahwa sineol memiliki potensi untuk mempercepat penyembuhan lesi mukosa pada tikus dengan meningkatkan aktivitas PDGF dan memperbaiki integritas jaringan mukosa yang rusak. Hal ini menunjukkan bahwa sineol dari daun kayu putih tidak hanya efektif pada luka kulit, tetapi juga dapat digunakan untuk mempercepat penyembuhan luka mukosa yang lebih sensitif³⁵.

Nilai ekspresi PDGF yang lebih tinggi pada hari ke-3 dibandingkan hari ke-7 mencerminkan aktivitas maksimal pada fase

proliferasi penyembuhan luka mukosa. PDGF berperan penting dalam merekrut fibroblas, merangsang pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis), dan meningkatkan sintesis matriks ekstraseluler—semua proses ini sangat aktif di awal fase penyembuhan. Penurunan ekspresi pada hari ke-7 menandakan pergeseran ke fase maturasi, di mana aktivitas seluler menurun dan jaringan mulai mengalami remodeling yang lebih stabil. Hal ini sesuai dengan temuan Wahyuni et al. (2022), yang mencatat puncak penyembuhan ulkus mukosa oral tikus Wistar Putih Jantan terjadi pada hari ke-3, dan mulai menurun pada hari ke-7 seiring penurunan inflamasi dan peningkatan struktur jaringan baru³⁸. Santoso et al. (2024) juga melaporkan bahwa ekspresi fibroblas dan penurunan sel inflamasi paling nyata terjadi pada hari ke-3 dan terus menurun setelahnya³⁹. Dengan demikian, pola ekspresi PDGF ini dapat dijadikan indikator biologis dari fase proliferasi aktif yang kemudian bertransisi ke fase penyembuhan lanjut (maturasi) (Diaz et al., 2024)⁴⁰.

1.2.4.6 Penelitian Terkait Penggunaan Sineol dari Daun Kayu Putih pada Lesi Ulserasi Mukosa

Lesi ulserasi mukosa adalah kondisi yang dapat terjadi pada berbagai bagian tubuh yang dilapisi oleh jaringan mukosa, seperti mulut, esofagus, atau saluran pencernaan. Lesi ini sering kali menyebabkan nyeri dan gangguan fungsi pada area yang terkena. Proses penyembuhan pada lesi ulserasi mukosa memerlukan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan luka pada kulit, dan seringkali membutuhkan intervensi terapeutik untuk mempercepat penyembuhannya.

Berdasarkan hasil penelitian Magfirah PS (2023) menunjukkan, gel ekstrak daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) memiliki efektivitas yang cukup baik dalam mempercepat proses penyembuhan lesi ulserasi mukosa mulut. Gel ekstrak daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) pada konsentrasi 0.7% mempunyai efektivitas yang cukup baik (0.41%) dalam mengurangi waktu proses inflamasi dengan menurunkan nilai *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) dan sebagai antiinflamasi pada penyembuhan lesi ulserasi³⁶.

Selain itu, penelitian oleh Alam P et al. (2018) menunjukkan bahwa sineol dapat merangsang penyembuhan ulserasi mukosa dengan cara mengurangi peradangan dan meningkatkan pembentukan jaringan granulasional serta angiogenesis. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kayu putih yang mengandung sineol pada tikus dengan lesi ulserasi mukosa dapat mempercepat pembentukan jaringan baru, mengurangi peradangan, dan meningkatkan aktivitas PDGF yang berperan dalam proses penyembuhan luka³⁷.

1.3 RUMUSAN MASALAH

- 1.3.1 **Apakah pemberian topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih dapat meningkatkan ekspresi PDGF pada proses penyembuhan luka mukosa oral?**
- 1.3.2 **Bagaimana mekanisme kerja emulgel minyak atsiri daun kayu putih dalam mempengaruhi proses penyembuhan luka mukosa oral?**
- 1.3.3 **Apakah terdapat perbedaan yang signifikan dalam laju penyembuhan luka mukosa antara kelompok yang menerima perlakuan topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih dan kelompok kontrol?**

1.4 TUJUAN PENELITIAN

1.4.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi pengaruh pemberian topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) terhadap ekspresi *Platelet Derived Growth Factor* 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 *platelet derived growth factor* dalam fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral.**
- 2. Mengetahui pengaruh pemberian topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca Leucadendron*) berdasarkan konsentrasi yang paling efektif terhadap ekspresi *platelet derived growth factor* dalam fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral.**
- 3. Menganalisis perbedaan yang signifikan dalam ekspresi *platelet derived growth factor* dalam fase proliferasi penyembuhan luka mukosa oral yang diberi perlakuan topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca Leucadendron*) konsentrasi 0,25%, 0,50%, dan 1,00% dibandingkan dengan kelompok kontrol.**

1.5 MANFAAT PENELITIAN

1.5.1 Manfaat Keilmuan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan terhadap pemahaman tentang mekanisme penyembuhan luka mukosa oral.

1.5.2 Manfaat bagi Peneliti

Bagi peneliti, penelitian ini diharapkan dapat memberikan kesempatan untuk mengembangkan keterampilan penelitian dalam bidang kedokteran gigi, khususnya dalam bidang penyembuhan dan regenerasi jaringan pada luka mukosa oral.

1.5.3 Manfaat Praktis

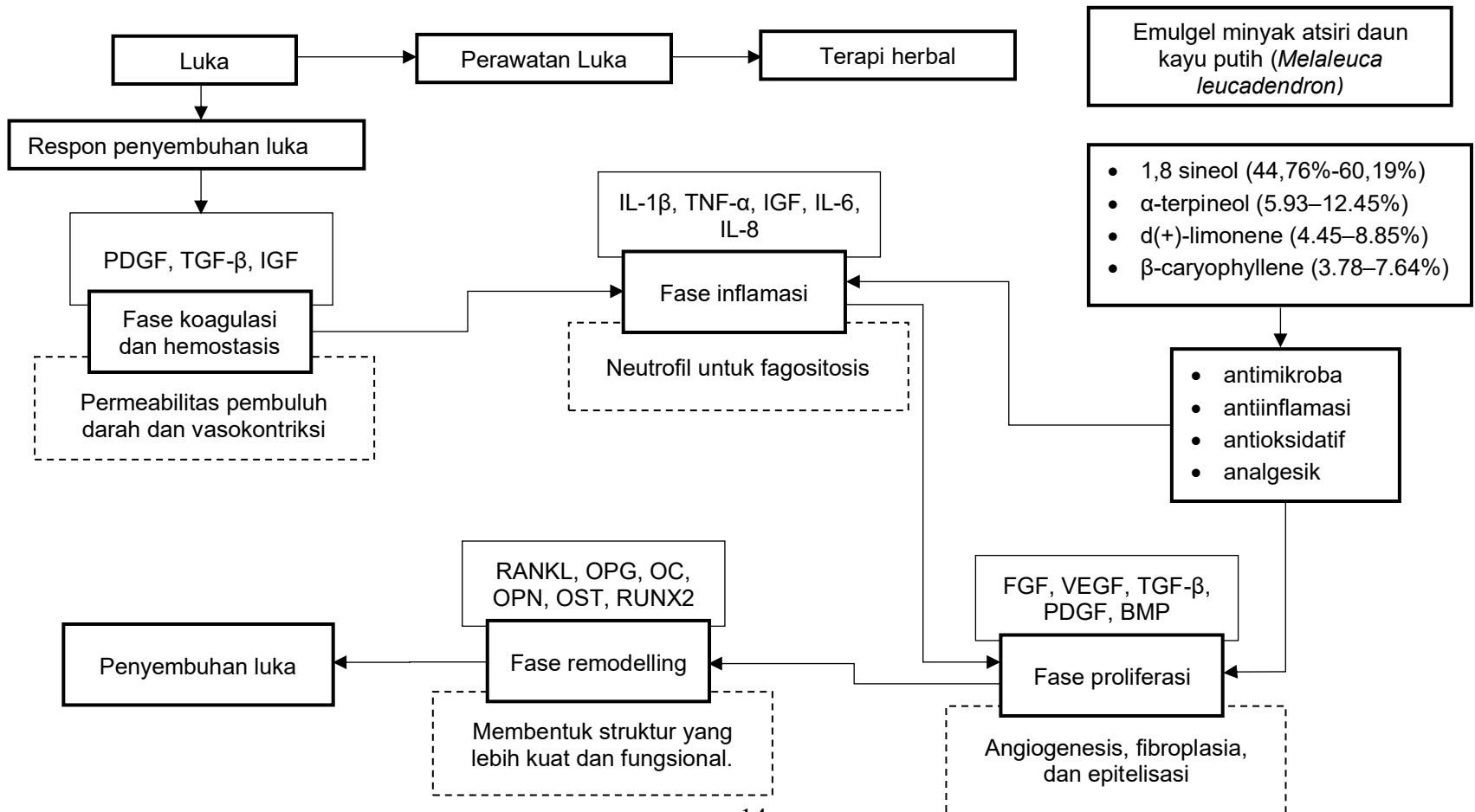
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang berguna bagi dokter gigi dalam penyembuhan luka mukosa oral.

1.5.4 Manfaat Bagi Masyarakat

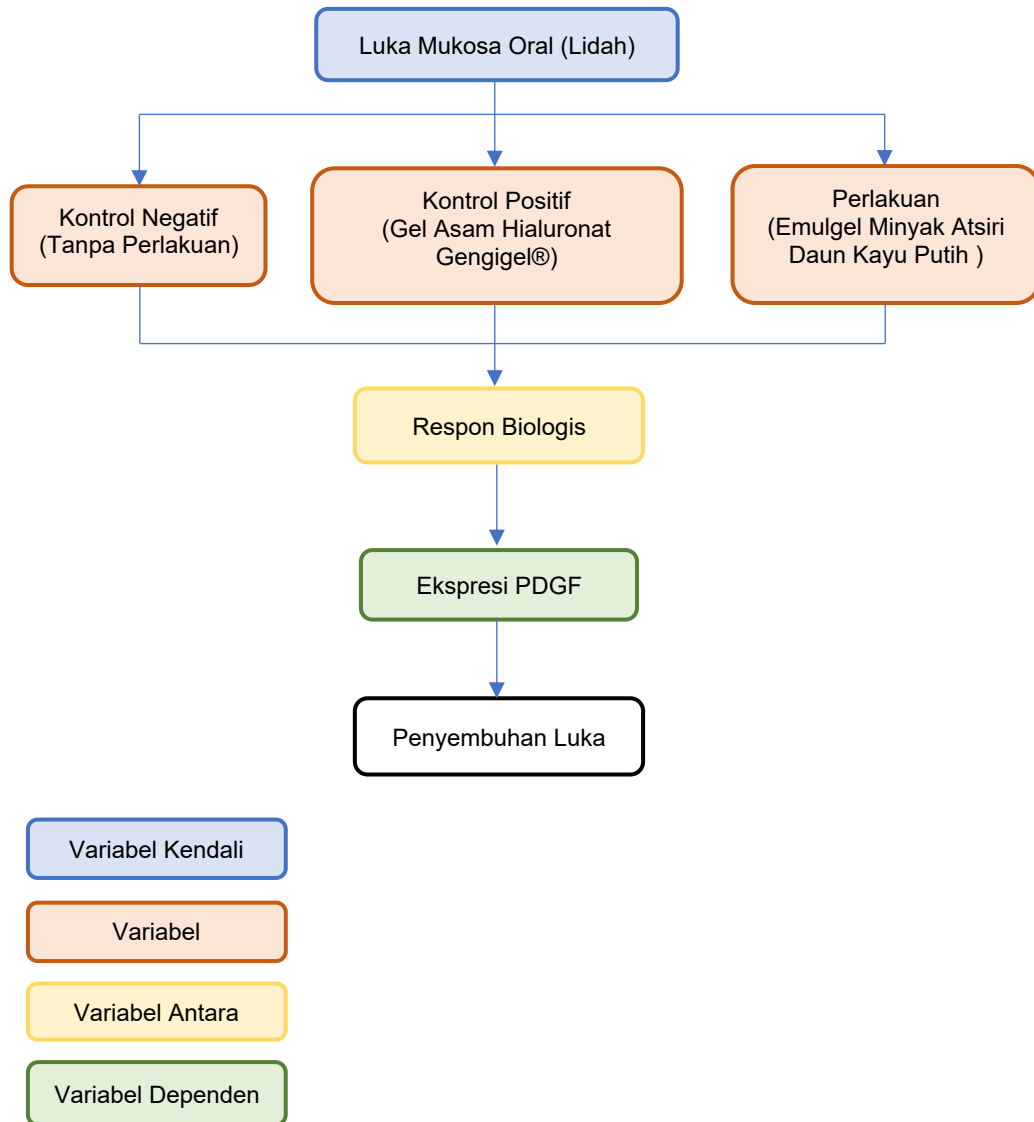
Penelitian ini memiliki manfaat bagi masyarakat luas, terutama bagi pasien yang memiliki luka mukosa oral.

1.6 KERANGKA TEORI DAN KONSEP

1.6.1 Kerangka Teori



1.6.2 Kerangka Konsep



1.7 HIPOTESIS PENELITIAN

1.7.1 Hipotesis mayor

Terdapat pengaruh pemberian topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) terhadap ekspresi PDGF pada proses penyembuhan luka mukosa oral

1.7.2 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 aktivitas PDGF pada proses penyembuhan luka mukosa oral.
2. Terdapat pengaruh yang signifikan pemberian topikal emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) pada konsentrasi **0,25%, 0,50%, dan 1,0%** terhadap aktivitas PDGF pada proses penyembuhan luka mukosa oral.
3. Terdapat perbedaan yang signifikan dalam ekspresi PDGF pada luka mukosa oral 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.

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, Laboratorium Penelitian Terpadu 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 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:

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

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

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$n \geq 5$$

Berdasarkan Rumus Federer 1966, jumlah sampel minimal setiap kelompok perlakuan paling sedikit 5 sampel. Setiap kelompok perlakuan akan diamati dalam 2 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 wistar putih jantan 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 wistar putih jantan. Pengelompokan dilakukan secara acak atau random pada setiap kelompok.

2.3.1 Kriteria Sampel Penelitian:

Kriteria Inklusi:

- Tikus wistar putih jantan (*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 Putih Jantan yang mengalami penurunan berat badan 10% selama adaptasi dan mati selama proses karantina.

2.4 Variabel penelitian

- Variabel independent : Emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*)
- Variabel dependent : Ekspresi PDGF
- Variabel kendali : Umur, jenis kelamin, dan berat badan tikus Wistar Putih Jantan, Makanan Hewan Uji
- Variabel tidak terkendali : Genetik tikus wistar putih jantan dan usia daun kayu putih (*Melaleuca Leucadendron*).

2.5 Defenisi Operasional Variabel

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

Emulgel yang mengandung minyak atsiri dari daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) yang berasal dari Pegunungan di Pulau Buru Provinsi Maluku dan diformulasikan dalam konsentrasi 0,25%, 0,5%, dan 1% menggunakan metode emulsifikasi, kemudian diaplikasikan secara topikal pada luka mukosa oral.

b. Ekspresi PDGF

Konsentrasi protein dalam jaringan luka mukosa oral yang diukur dengan metode ELISA menggunakan antibodi spesifik PDGF, dinyatakan dalam satuan pg/mL, serta dievaluasi pada hari ke-3 dan ke-7 pasca perlukaan.

2.6 Alat dan Bahan Penelitian

Bahan dan alat yang digunakan untuk penelitian hewan coba adalah:

- a. 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.
- b. Bahan dan alat keperluan anestesi, timbangan berat badan, lempeng akrilik, cotton bud, 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 Animals* (National Research Council, 2011) dan *Declaration of Helsinki* yang mengatur etika perlakuan hewan dalam penelitian (World Medical Association, 2013).^{41,42} Tikus Wistar putih jantan berusia 2-3 bulan dengan berat 200-250 gram dan memenuhi kriteria seperti yang tercantum pada variabel kontrol, diadaptasikan di kandang tikus wistar putih jantan dengan persiapan sebagai berikut:

1. Pertama, dilakukan penimbangan berat badan hewan uji agar sesuai dengan kriteria sampel.

2. Tikus wistar putih jantan 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 tikus wistar putih jantan.
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, siang, dan malam.
6. Hewan uji diadaptasikan selama 1 minggu untuk mendapatkan kesehatan umum yang baik serta penyesuaian terhadap lingkungan.
7. Penempatan kandang:
 - a. Kandang ditempatkan pada tempat yang memiliki pencahayaan yang baik.
 - b. Kandang ditempatkan agak jauh dari kebisingan sehingga hewan uji bisa lebih tenang.
 - c. Kandang diusahakan pada tempat yang kering agar tidak menjadi sarang penyakit.

Pada akhir periode penelitian, hewan uji akan dimatikan dengan cara euthanasia menggunakan metode yang sesuai dengan pedoman etika dan prosedur yang aman untuk hewan. Proses euthanasia mengikuti pedoman *AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals* yang dilakukan dengan memberikan anestesi terlebih dahulu menggunakan kombinasi Ketamine (200 mg/kg) dan Xylazine (25 mg/kg) melalui injeksi intraperitoneal, yang akan menginduksi kehilangan kesadaran dan mengarah pada kematian tanpa rasa sakit. Setelah hewan uji dalam keadaan tidak sadar dan tidak responsif, pengambilan sampel jaringan dilakukan untuk analisis lebih lanjut.⁴³

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.

- a. Pengambilan sampel

Sampel daun kayu putih diambil dari Pegunungan di Pulau Buru, Provinsi Maluku.
- b. 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.
- c. 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. Metode distilasi uap dipilih karena efektif dalam mengekstraksi minyak atsiri dari tanaman dengan memanfaatkan perbedaan titik didih antara air dan minyak atsiri, yang memungkinkan pemisahan minyak secara efisien (Bakkali et al., 2008).⁴⁴ Minyak atsiri yang diperoleh kemudian dikeringkan menggunakan natrium sulfat anhidrat dan rendemen serta bobot jenisnya diukur. Pada distilasi uap, 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, yang

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. Metode distilasi uap ini terbukti efektif dalam menghasilkan minyak atsiri berkualitas tinggi yang dapat digunakan dalam penelitian lebih lanjut^{44, 45}.

Untuk mengetahui kandungan minyak atsiri daun kayu putih, analisis kromatografi gas-spektroskopi dilakukan menggunakan alat GC-MS Shimadzu. Alat disetting menggunakan kolom kapiler RTX 5 panjang 30 m, gas pembawa helium, dan kecepatan alir 45,0 mL/menit, dengan energi ionisasi 70 eV. Temperatur kolom diatur pada suhu 50°C dengan laju peningkatan temperatur dari 5°C hingga suhu maksimum 240°C. Suhu detektor diatur pada 250°C dan suhu injektor 300°C.

d. Pembuatan sediaan emulgel

Langkah pertama pembuatan emulgel dimulai dengan pembuatan gel, yang dilakukan dengan cara mengembangkan Karbopol 940 menggunakan mortar dan aquades yang telah dipanaskan pada suhu 70-80°C selama 30 menit, kemudian diaduk selama 15 menit hingga terdispersi dengan sempurna. Setelah itu, TEA (Trietanolamin) ditambahkan dan diaduk selama 15 menit hingga terbentuk basis yang jernih dengan pH yang diinginkan (Kulkarni & Nagappa, 2012)⁴⁶. Metil paraben dan propil paraben dilarutkan dalam cawan porselin dan kemudian dicampurkan ke dalam basis gel untuk bertindak sebagai pengawet.⁴⁷ 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 porselin hingga suhu 60-70°C. Setelah itu, minyak atsiri daun kayu putih ditambahkan ke dalam fase minyak setelah proses pemanasan fase minyak selesai. Fase air dibuat dengan mencampurkan Tween 80 dan aquades pada suhu 70°C dalam cawan porselin.⁴⁸ Setelah kedua fase tersebut dipersiapkan, fase minyak dituangkan ke dalam fase air dan diaduk hingga homogen, membentuk massa emulsi. Massa emulsi yang telah terbentuk kemudian didispersikan ke dalam basis gel pada mortar, dicampurkan dan digerus hingga homogen, membentuk massa emulgel yang stabil.⁴⁹

Adapun formula perhitungan minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) 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% → $1,00/100 \times 60 \text{ ml} = 0,60 \text{ g (600mg)}$

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*)⁴⁶⁻⁴⁹

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)	q.s	q.s	q.s	<i>Emulgator</i>
Aquades	Ad	Ad 60	Ad 60	Pelarut
	60			

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

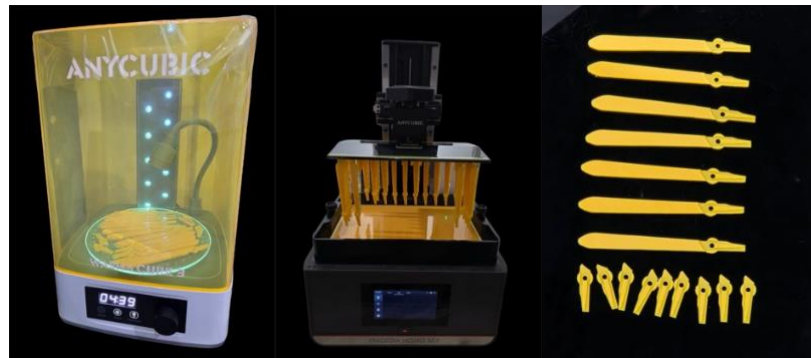
- a. **Uji organoleptis:** Pengamatan organoleptis dilakukan secara langsung terhadap bentuk, warna, dan bau.
- b. **Uji homogenitas:** Uji homogenitas dilakukan dengan cara emulgel dioleskan pada gelas objek kemudian diamati apakah warna merata atau tidak terdapat butir-butir halus.
- c. **Uji viskositas**
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.
- d. **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. Tingkat keasaman atau pH yang baik di daerah mulut adalah 6 – 7.
- e. **Uji daya sebar:** Pengujian daya sebar dilakukan untuk mengetahui seberapa baik daya menyebar suatu sediaan saat diaplikasikan. Semakin besar daya menyebar maka semakin baik pula sifat fisik sediaan. Daya sebar yang baik bagi sediaan emulgel yaitu berkisar 3-5 cm
- f. **Uji daya lekat:** Penentuan daya lekat berupa waktu yang diperlukan sampai kedua kaca objek terlepas.
- g. **Uji stabilitas:** Pengujian stabilitas dilakukan untuk mengetahui kestabilan emulgel pada suhu ruangan, suhu kulkas dan suhu tubuh.

Pembuatan Alat Perlukaan

Alat perlukaan pada mukosa mulut pada penelitian ini dirancang dengan mengadaptasi desain digital perangkat intraoral berbasis penelitian sebelumnya.^{65,66} 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 wistar putih jantan. Pengujian ini bertujuan memastikan bahwa alat mampu menghasilkan luka yang konsisten dan terukur. Prosedur dilakukan dengan menggosokkan 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 mampu menghasilkan luka. Standar jumlah gesekan ini kemudian dijadikan acuan pada tahap berikutnya, yaitu saat pembuatan luka traumatis pada mukosa mulut tikus wistar putih jantan sehingga proses pembuatan luka dapat berlangsung secara terkontrol.



Gambar 2.1 Pembuatan alat perlukaan menggunakan teknologi CAD/CAM

2.7.4 Perlakuan hewan uji

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus Wistar putih jantan. Prosedur anestesi dilakukan dengan menggunakan Ketamine Hydrochloride 40 mg/kgBB dan Xylazine 5 mg/kgBB, sesuai dengan protokol yang telah ditetapkan untuk tikus wistar putih jantan (Berman & G.Y., 2016).⁵⁰ Setelah tikus ter-anestesi dengan sempurna, area sekitar mulut tikus wistar putih jantan dibersihkan dengan cairan antiseptik menggunakan larutan Chlorhexidine Gluconate 0.12% yang dioleskan menggunakan kapas steril untuk mengurangi risiko infeksi (Olsson & P.I.L., 2019).⁵¹ Kemudian dilakukan perlukaan menggunakan lempeng akrilik berbentuk segitiga berukuran 3 cm x 3 cm dengan ketebalan 1,5 mm dengan sisi yang tajam pada mukosa anterior gingival mandibula dengan ukuran luka 1 cm dan kedalaman sayatan 1 mm dari arah sevikal gigi incisivus rahang bawah menuju dasar vestibulum, seperti yang telah dijelaskan oleh Vallance & L.A.M.P. (2014).⁵² Luka kemudian diirigasi dengan larutan saline. Setelah itu, perlakuan dilakukan sesuai dengan kelompok yang telah ditentukan sebagai berikut:

1. **Kelompok I** terdiri dari masing masing 6 ekor tikus Wistar Putih Jantan. Luka di olesi dengan emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) 0,25%
2. **Kelompok II** terdiri dari masing masing 6 ekor tikus Wistar Putih Jantan. Luka di olesi dengan emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) 0,5%
3. **Kelompok III** terdiri dari masing masing 6 ekor tikus Wistar Putih Jantan. Luka diolesi dengan emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) 1,0 %

4. **Kelompok IV** terdiri dari masing masing 6 ekor tikus Wistar Putih Jantan. Luka diolesi dengan gengigel (asam hialuronat 0,2%) sebagai kelompok kontrol positif.
5. **Kelompok V** terdiri dari masing masing 6 ekor tikus Wistar Putih Jantan. Luka dibiarkan tanpa perlakuan sebagai kelompok kontrol negatif.

2.7.5 Prosedur penelitian

- a. Sebelum dilakukan perlakuan pada mukosa gingival bagian labial dan pemberian emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*) pada luka, hewan uji dipuasakan selama 6 jam.
- b. Semua hewan coba dianestesi, dibuat perlakuan menggunakan lempeng akrilik pada mukosa lateral lidah. Luka kemudian diobservasi. Kemudian diberi perlakuan sesuai kelompok Perlakuan.
- c. Dalam setiap aplikasi emulgel minyak atsiri dan gengigel, sebanyak 0,1 mL bahan tersebut dioleskan menggunakan cotton bud 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.

2.7.6 Pengambilan Jaringan Mukosa

Pengambilan jaringan dilakukan pada hari ke-3 dan ke-7 pasca perlakuan pada mukosa oral hewan uji. Sampel tikus wistar putih jantan di-*eutanasia* terlebih dahulu lalu dilakukan biopsi daerah anterior gingival mandibular dengan cara memotong rahang tikus wistar putih jantan menjadi dua bagian, lalu jaringan hasil biopsi dimasukkan ke dalam tabung kimia steril tertutup dan dibekukan. Sampel tersebut dibawa ke Laboratorium Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC) pada hari ke-3 dan ke-7 untuk dilakukan pemeriksaan Histologi Pewarnaan Immunohistochemistry (IHC) untuk melihat ekspresi PDGF setelah pemberian emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*).

2.7.7 Pengujian PDGF dengan ELISA

Pengujian kadar Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) dilakukan menggunakan metode ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) untuk mengukur kadar PDGF pada sampel jaringan yang telah diambil. Kit yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rat PDGF Immunoassay Quantikine ELISA kit, yang dirancang khusus untuk mengukur kadar PDGF pada tikus wistar putih jantan. Prosedur ini melibatkan langkah-langkah spesifik, dimulai dengan penyiapan sampel jaringan yang telah diproses dan diekstraksi. Sampel tersebut kemudian diproses pada mikrotiter yang telah dilapisi dengan antibodi spesifik PDGF.

Setelah inkubasi, penanda enzim yang terkait dengan PDGF akan bereaksi dan menghasilkan sinyal yang dapat diukur menggunakan ELISA Reader. Pembacaan hasil dilakukan menggunakan Biobase E110a Elisa Microplate Reader, yang memungkinkan analisis kuantitatif berdasarkan intensitas warna yang terbentuk.

Hasil dari uji ELISA ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai perubahan kadar PDGF sebagai respons terhadap pemberian emulgel minyak atsiri daun kayu putih (*Melaleuca leucadendron*), serta mengidentifikasi potensi efeknya dalam proses penyembuhan pasca ekstraksi gigi pada hewan coba.

2.7.8 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.
Analisis data. : Data primer dari PDGF yang didapatkan dari laboratorium Mikrobiologi RSP UNHAS, terlebih dahulu diuji normalitas datanya menggunakan *Shapiro Wilk Test*. Untuk menganalisa perbedaan diantara kelompok penelitian dilakukan dengan ANOVA. Hasil analisa dinyatakan signifikan atau terdapat perbedaan jika nilai $p < 0,05$.