

Perbedaan efek pemberian gel kombinasi ekstrak *Camellia sinensis* dan kitosan terhadap jumlah sel neutrofil pasca ekstraksi gigi tikus Wistar: eksperimental laboratoris

Nyoman Ayu Anggayanti^{1*}
Eka Pramudita Ramadhany²
I Gusti Ayu Putu Diah Suryani³

¹Departemen Bedah Mulut dan Maksilofasial, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi dan Profesi Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Indonesia

²Department Periodonsia, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi dan Profesi Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Indonesia

³Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi dan Profesi Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar, Indonesia

*Correspondence
Email | ayu.anggayanti@unud.ac.id

Submisi | 10 Januari 2025
Revisi | 22 Februari 2025
Penerimaan | 12 April 2025
Publikasi Online | 31 April 2025
DOI: [10.24198/jkg.v37i1.59224](https://doi.org/10.24198/jkg.v37i1.59224)

p-ISSN 0854-6002
e-ISSN 2549-6514

Sitasi | Anggayanti NA, Ramadhany EP, Suryani IGAPD. Perbedaan efek pemberian gel kombinasi ekstrak *Camellia sinensis* dan kitosan terhadap jumlah sel neutrofil pasca ekstraksi gigi tikus Wistar: eksperimental laboratoris. J Ked Gi Univ Padj. 2025;37(1):65-75.
DOI: [10.24198/jkg.v37i1.59224](https://doi.org/10.24198/jkg.v37i1.59224)



Copyright: © 2025 oleh penulis. diserahkan ke Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran untuk open akses publikasi di bawah syarat dan ketentuan dari Creative Commons Attribution (CC BY) license. (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

ABSTRAK

Pendahuluan: Neutrofil berperan penting dalam mengatur peradangan selama penyembuhan luka. *Camellia sinensis* (teh hijau) terbukti mengandung *Epigallocatechin Gallate (EGCG)* yang memiliki aktivitas anti inflamasi. Kitosan dengan kemampuannya menjaga stabilitas *EGCG*, berpotensi untuk meningkatkan efektivitas *EGCG* dalam mengurangi inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perbedaan efek pemberian gel ekstrak *Camellia sinensis* yang dikombinasikan dengan kitosan terhadap jumlah neutrofil sebagai indikator utama fase inflamasi pada tikus Wistar pasca ekstraksi gigi. **Metode:** Gigi insisivus mandibula kiri pada tikus diekstraksi setelah dilakukan anestesi. Soket pada kelompok perlakuan diberi gel kombinasi ekstrak *Camellia sinensis* dan kitosan, sedangkan kelompok kontrol tidak diberikan intervensi. Pemeriksaan histopatologi soket dilakukan untuk menilai keberadaan neutrofil pada hari pertama, ketiga, kelima, dan ketujuh pasca perlakuan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney berdasarkan karakteristik distribusi. **Hasil:** Jumlah neutrofil pada kelompok perlakuan mengalami penurunan yang signifikan disetiap hari pengamatan dibandingkan kelompok kontrol yang menunjukkan proses penyembuhan yang lebih baik dengan tidak adanya inflamasi persisten ($p=0.000$, $p<0.05$). **Simpulan:** Kombinasi ekstrak *Camellia sinensis* dan kitosan berefek terhadap penurunan jumlah neutrofil pasca ekstraksi gigi tikus Wistar.

Kata kunci

Pencabutan gigi, neutrofil, *Camellia sinensis*, kitosan

The effect of gel Camellia sinensis extract in combination with chitosan on neutrophils count of Wistar rats after tooth extraction: A Laboratory Experimental Study

ABSTRACT

Introduction: Neutrophils play a key role in regulating inflammation during wound healing. *Camellia sinensis* has been proven to contain *Epigallocatechin Gallate (EGCG)*, which exhibits anti-inflammatory activity. Chitosan with its ability to maintain *EGCG* stability, offers the potential to enhance the effectiveness of *EGCG* in reducing inflammation. This research aims to analyze the effect of extract gel *Camellia sinensis* combined with chitosan on the number of neutrophils as the main indicator of the inflammatory phase in Wistar rats after tooth extraction. **Methods:** The left mandibular incisor was extracted after the rats were anesthetized. The socket in the treatment group was treated with gel combining *Camellia sinensis* extract and chitosan, while the control group did receive any intervention. A histopathological examination of the socket was conducted to assess the presence of neutrophil on days one, three, five, and seven after treatment. The obtained data were analyzed using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests based on the distribution characteristics. **Results:** The number of neutrophils in the treatment group decreased significantly on each day of observation compared to the control group, indicating a more advanced healing process with the absence of persistent inflammation ($p=0.000$, $p<0.05$). **Conclusion:** The combination of *Camellia sinensis* extract and chitosan had an effect on reducing the number of neutrophils in Wistar rats after tooth extraction.

Keywords

Camellia sinensis, chitosan, neutrophil, tooth extraction

PENDAHULUAN

Masalah gigi dan mulut di Indonesia memiliki prevalensi mencapai 57,6% dengan dua proporsi masalah terbesar yaitu karies dan penyakit periodontal. Kedua masalah ini seringkali berakhir pada tindakan ekstraksi atau kondisi kehilangan gigi apabila perkembangan penyakit dibiarkan berlanjut.^{1,2} Ekstraksi gigi didefinisikan sebagai prosedur pengangkatan seluruh struktur gigi dari soket alveolar apabila gigi sudah tidak dapat dipertahankan.³ Prosedur ini akan mengakibatkan terjadinya luka atau trauma pada jaringan sekitar gigi. Ekstraksi gigi yang ideal yaitu ekstraksi tanpa rasa sakit dengan trauma minimal pada jaringan periodontal sehingga penyembuhan luka dapat berlangsung normal dan tidak terdapat masalah prostetik pasca ekstraksi gigi.⁴

Penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi normalnya terjadi dalam tiga fase yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi dimana masing-masing fase saling tumpang tindih yang artinya setiap fasenya dapat terjadi sebelum fase yang lain selesai. Proses penyembuhan soket gigi meliputi penyembuhan luka mukosa dan tulang. Epitelisasi mukosa pada lokasi ekstraksi didasarkan pada migrasi dan pembelahan sel basal yang dimulai dalam 12 jam pasca ekstraksi gigi sedangkan proses mineralisasi tulang akan mulai berlangsung pada akhir minggu pertama dan terus berlangsung bahkan hingga 24 minggu pasca ekstraksi gigi.⁵

Tindakan ekstraksi gigi dapat menyebabkan berbagai macam komplikasi seperti adanya rasa sakit, *dry socket*, pembengkakan, parestesia, perdarahan, dan infeksi.⁶ Salah satu sistem imun tubuh yang berperan untuk mencegah infeksi yaitu neutrofil. Neutrofil bekerja dengan cara memfagositosis debris dan bakteri yang mencoba masuk melalui luka yang terbuka. Jumlah neutrofil memuncak pada 24-48 jam pertama pasca perlukaan dan akan mengalami penurunan karena neutrofil akan difagositosis oleh makrofag atau mati dengan sendirinya setelah melakukan tugas.⁷⁻⁸ Kehadiran neutrofil yang persisten dapat menghambat penyembuhan luka dan membuat luka menjadi kronis. Salah satu respon tubuh terhadap infeksi yaitu terjadinya inflamasi. Inflamasi juga muncul sebagai respon imun tubuh terhadap luka meskipun luka tidak terinfeksi mikroorganisme. Tanpa inflamasi, luka dan infeksi tidak akan pernah sembuh serta dapat mengakibatkan kerusakan jaringan yang lebih berbahaya.⁹⁻¹⁰

Perawatan yang dilakukan apabila terjadi suatu inflamasi biasanya menggunakan obat-obat antiinflamasi golongan steroid dan non steroid. Penggunaan obat ini memiliki beberapa efek samping berupa gangguan hormon, tukak lambung, hipertensi, gangguan fungsi ginjal dan edema. Tumbuhan herbal telah banyak digunakan sebagai usaha preventif dan kuratif untuk mengobati suatu penyakit karena dinilai lebih aman dan lebih mudah dijangkau oleh masyarakat. Berbagai tanaman herbal telah banyak diketahui memiliki efek terapeutik untuk inflamasi.^{9,11} *Camellia sinensis* telah terbukti mengandung polifenol *Epigallocatechin Gallate (EGCG)* yang memiliki aktivitas antiinflamasi.¹² Penelitian sebelumnya membuktikan gel ekstrak *Camellia sinensis* dengan konsentrasi 1,2% merupakan konsentrasi paling optimum dalam meningkatnya penyembuhan luka dibandingkan dengan konsentrasi 0,6% dan 1,8%.¹³

Biomaterial lain yang dapat mempercepat proses penyembuhan luka yaitu kitosan. Kitosan dapat menstimulasi proliferasi sel dan *remodelling*. Kitosan merupakan deasetilasi kitin yang diperoleh secara alami dan merupakan sakarida yang bersifat biokompatibel dan banyak ditemukan pada eksoskeleton berbagai kelas invertebrata, termasuk krustasea. Biomaterial ini juga dapat mempertahankan stabilitas *EGCG* sehingga meningkatkan efektifitas penggunaan *EGCG*.¹⁴ Kitosan telah terbukti dapat meningkatkan penyembuhan luka pasca ekstraksi gigi tikus Wistar. Aplikasi kitosan dalam bentuk gel 1% dan 2% menunjukkan tidak adanya pengaruh yang bermakna dari pemberian kedua konsentrasi tersebut.¹⁵ Oleh karena itu, penulis tertarik untuk mengetahui potensi kombinasi ekstrak *Camellia sinensis* dan kitosan sebagai obat herbal antiinflamasi melalui indikator sel neutrofil khususnya pasca ekstraksi gigi tikus Wistar. Kandungan *EGCG* yang merupakan salah satu kandungan dalam flavonoid *Camellia sinensis* memiliki bioavailabilitas yang kurang baik secara per oral sehingga aplikasi

secara topikal berupa gel diharapkan mampu mengoptimalkan aktivitas *EGCG* dalam penyembuhan luka.¹⁶ Berdasarkan latar belakang tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis perbedaan efek pemberian gel ekstrak *Camellia sinensis* yang dikombinasikan dengan kitosan terhadap jumlah neutrofil sebagai indikator utama fase inflamasi pada tikus Wistar pasca ekstraksi gigi.

METODE

Desain penelitian yang digunakan adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *post test only control group*. Populasi dalam penelitian ini adalah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria inklusi meliputi tikus Wistar jantan, usia 2-3 bulan, berat badan 150-250 gram, dan kondisi sehat yang ditandai dengan gerakan yang aktif. Kriteria eksklusi meliputi tikus yang mengalami penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi, tikus cacat atau sakit. Sampel penelitian dikelompokkan dalam dua kelompok besar yaitu kelompok kontrol dan perlakuan. Tiap kelompok terdiri dari empat kelompok kecil berdasarkan waktu pengambilan sampel pada hari ke-1, 3, 5, dan 7. Besar sampel pada tiap kelompok kecil sebanyak 4 sampel sesuai perhitungan Federer sehingga total jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 32 sampel.

Instrumen dan bahan yang digunakan dalam pembuatan gel kombinasi ekstrak *Camellia sinensis* dan ekstrak kitosan meliputi timbangan, toples, *rotary evaporator*, gelas ukur, *erlenmeyer*, spatula, saringan, *water bath*, *sonicator bath*, mortar, gelas kimia, ayakan, oven, desikator, etanol 96%, daun teh kering, kulit udang, *hydrogen chloride (HCl)*, *sodium hydroxide (NaOH)* 60%, *carboxymethylcellulose sodium (CMC Na)*, dan asam asetat 1%. Uji fitokimia dengan alat dan bahan yaitu tabung reaksi, *lead (II) chloride (PbCl₂)*, etanol, asam boraks, asam oksalat, eter, dan *ferric chloride (FeCl₃)*. Persiapan hewan coba, ekstraksi gigi, euthanasia, sediaan histologi, dan pengamatan sel menggunakan alat dan bahan yang meliputi kandang hewan coba, tempat makan dan minum hewan coba, timbangan, pakan tikus, minum tikus, sekam, hemostat, *excavator*, *cotton tip applicator*, kanula, *syringe*, *ketamine hydrochloride* dan *xylazine hydrochloride*, *aquades*, *syringe*, *scalpel*, gunting bedah, tabung plastik, *glass cover*, mikroskop, ether, formalin 10%, acetone, paraffin, dan hematoksilin eosin.

Penelitian dilakukan selama lima bulan mulai bulan Januari hingga Juni 2021. Rincian proses dan tempat dilakukan penelitian meliputi pembuatan gel kombinasi ekstrak *Camellia sinensis* dan kitosan yang dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan pada hewan coba dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, dan pembuatan sediaan histologis dari masing-masing kelompok sampel yang dilakukan di Balai Besar Veteriner Denpasar.

Pembuatan ekstrak *Camellia sinensis* dilakukan dengan menghaluskan daun teh kering hingga mendapatkan 400gram serbuk 60 mesh kemudian dimasukan ke dalam toples, diratakan dan dilakukan pencampuran dengan etanol 96% kemudian dilakukan pengadukan. Toples ditutup rapat selama 24 jam dilanjutkan dengan penyaringan ekstrak dan ditampung pada erlenmeyer untuk diuapkan menggunakan *rotary evaporator* selama 1 jam pada suhu 60°C. Ekstrak diuapkan kembali dengan *waterbath* selama 2 jam dan dimasukan dalam oven selama 24 jam untuk mengurangi residu pelarut.¹³ Skrining fitokimia ekstrak *Camellia sinensis* dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa aktif flavonoid, fenol, dan polifenol. Kandungan senyawa aktif flavonoid dibuktikan dengan tampilan fluoresensi kuning di bawah sinar ultraviolet 366 nm setelah menambahkan ekstrak ke dalam asam oksalat, asam borat, dan 2 ml *acetone*. Keberadaan fenol dibuktikan dengan terbentuknya endapan biru kehitaman setelah ditambahkan ke dalam 2% larutan *FeCl₃*. Polifenol dibuktikan dengan adanya endapan setelah menambahkan *PbCl₂* ke dalam ekstrak.^{13,17}

Pembuatan ekstrak kitosan dilakukan melalui tiga proses utama yang meliputi deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi kitin. Proses deproteinasi dengan penambahan

larutan *NaOH* 60% pada serbuk dari limbah kulit udang kering yang telah dihaluskan hingga mendapatkan 30 gram serbuk 60 mesh. Pemanasan dilakukan pada suhu 60-70°C selama 4 jam sambil diaduk, lalu dibilas dengan *aquades* hingga pH netral dan dikeringkan dilanjutkan dengan penghilangan warna merah (depigmentasi) dengan penambahan asam asetat pada suhu 60°C selama 1 jam. Tahap demineralisasi dilakukan dengan pelarutan serbuk ke dalam *HCL* 1 M, dipanaskan suhu 60-70°C selama 4 jam, dibilas hingga netral, dan dikeringkan. Proses terakhir deasetilasi dilakukan dengan menambahkan *NaOH* 60% ke dalam kitin, dipanaskan pada suhu 100-110 °C selama 4 jam, dibilas, dan dikeringkan untuk memperoleh kitosan.¹⁸

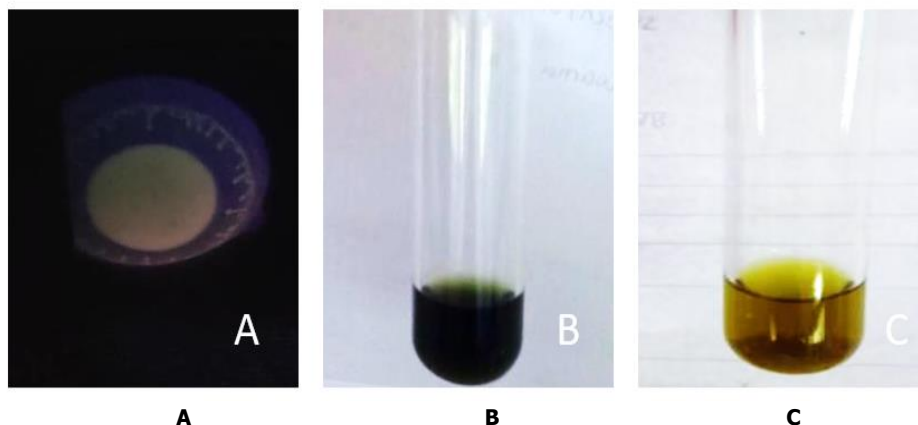
Pembuatan gel campuran ekstrak *Camellia sinensis* dan kitosan diawali dengan pelarutan 1 gram serbuk kitosan dalam asam asetat 1% sehingga menghasilkan ekstrak kitosan 1%. Ekstrak 1% kemudian diekstraksi menggunakan *sonica bath* pada suhu 60°C selama 1 jam dan disaring. Pembuatan ekstrak *Camellia sinensis* 1,2% dilakukan dengan melarutkan 1,2 gram ekstrak *Camellia sinensis* 100% dalam gel CMC Na 2% kemudian diaduk hingga tercampur rata. Pencampuran 25 gram ekstrak kitosan 1% dengan 25 ml ekstrak *Camellia sinensis* 1,2% hingga homogen.¹⁹

Perlakuan pada sampel diawali dengan adaptasi tikus selama 7 hari. Pencabutan gigi insisivus kiri rahang bawah tikus dilakukan menggunakan hemostat dan *excavator* yang didahului dengan anestesi kombinasi *ketamine* dan *xylazine* secara intramuscular dengan perbandingan 10:1 dan dosis yang diberikan yaitu 0,1 ml/ 100 gram BB tikus. Perlakuan pada sampel dilakukan sesuai dengan kelompoknya. Kelompok kontrol tidak diberikan perlakuan apapun pasca ekstraksi gigi dan kelompok perlakuan diberikan gel campuran ekstrak *Camellia sinensis* dan kitosan sebanyak 2 kali dalam sehari dengan menggunakan kanula. Pengambilan jaringan pada soket hewan coba untuk melihat jumlah pada neutrofil hari ke-1, 3, 5, dan 7 dilakukan setelah hewan coba dilakukan euthanasia dengan injeksi overdosis obat anestesi dengan menggunakan dosis dua hingga tiga kali dari dosis normal dan memastikan kematian hewan coba dengan *cervical dislocation*.^{20,21}

Pembuatan sediaan histologi sampel serta penghitungan jumlah neutrofil dilakukan di Balai Besar Veteriner Denpasar. Pengamatan pada sel neutrofil dengan menggunakan mikroskop cahaya olympus kamera digital optilab dengan perbesaran 400 kali.²² Penghitungan sel dilakukan pada lima lapang pandang berbeda yang selanjutnya dijumlah lalu dibagi lima untuk mencari rata-ratanya. Analisis data dilakukan menggunakan aplikasi *SPSS for windows*. Uji normalitas menggunakan *Saphiro Wilk* dilanjutkan dengan uji homogenitas *Levene test*. Uji non parametrik *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan *Mann Whitney* dilakukan pada penelitian karena hasil uji data yang tidak berdistribusi normal dan tidak homogen.²³

HASIL

Hasil kombinasi ekstrak *Camellia sinensis* dan ekstrak kitosan hingga akhir waktu pemberian perlakuan menunjukkan tidak ada pemisahan kedua ekstrak sehingga penggabungan kedua ekstrak dapat dikatakan berhasil. Uji fitokimia pada ekstrak *Camellia sinensis* menunjukkan hasil ekstraksi positif mengandung polifenol, flavonoid dan fenol (Gambar 1).



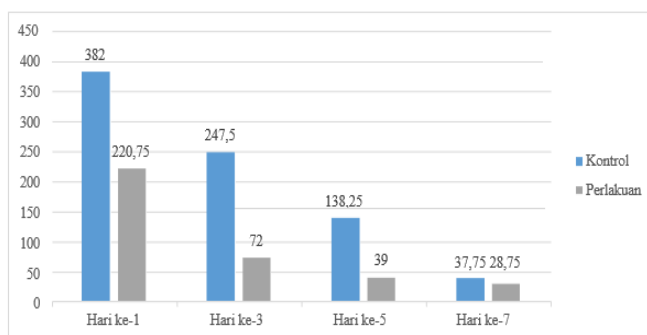
Gambar 1. Uji fitokimia dengan reagen masing-masing menunjukkan adanya (A) flavonoid, (B) fenol, (C) polifenol

Hasil analisis deskriptif menunjukkan gambaran data terkait rerata jumlah sel neutrofil, standar deviasi, dan jumlah sampel pada setiap kelompok. Perhitungan data secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 1.

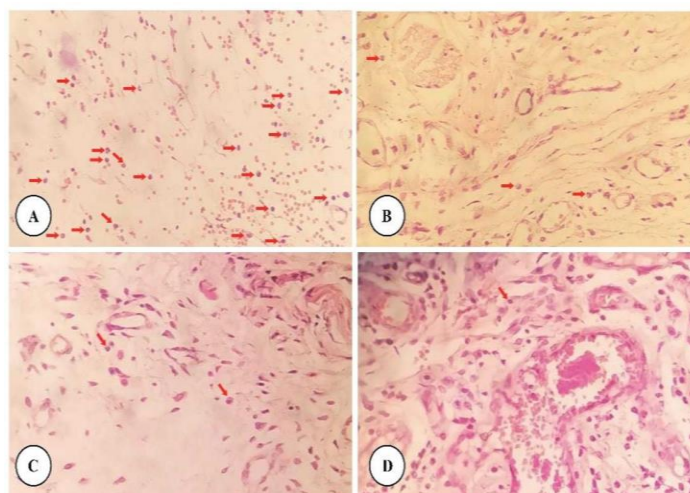
Tabel 1. Rerata jumlah sel neutrofil

Kelompok	Pengamatan	Jumlah Sampel	Rerata	Standar Deviasi
Kontrol Negatif	Hari ke-1 (K1)	4	382	$\pm 49,34$
	Hari ke-3 (K3)	4	247,5	$\pm 15,20$
	Hari ke-5 (K5)	4	138,25	$\pm 5,56$
	Hari ke-7 (K7)	4	37,75	$\pm 3,10$
Perlakuan	Hari ke-1 (P1)	4	220,75	$\pm 21,19$
	Hari ke-3 (P3)	4	72	$\pm 5,72$
	Hari ke-5 (P5)	4	39	$\pm 2,58$
	Hari ke-7 (P7)	4	28,75	$\pm 2,99$

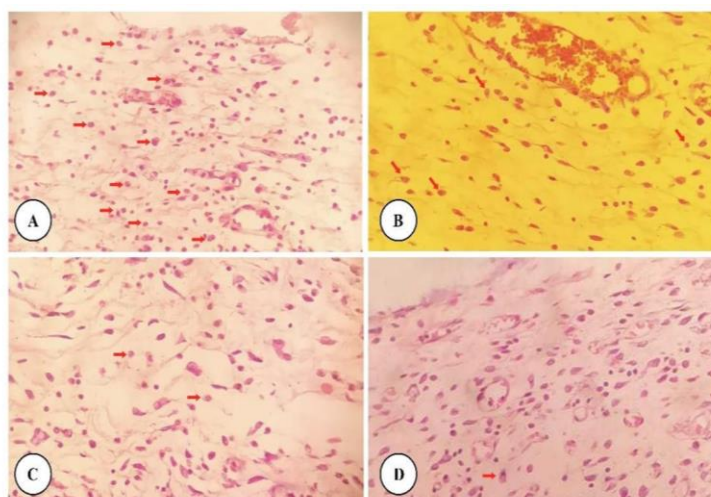
Hasil menunjukkan terjadi penurunan rerata jumlah neutrofil hari ke-1 sampai hari ke-5 pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Rerata jumlah sel neutrofil tertinggi terdapat pada kelompok kontrol hari ke-1 (382) dan terendah pada kelompok perlakuan hari ke-7 (28,75). Jumlah rerata sel neutrofil pada kelompok perlakuan memiliki rerata yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol disetiap waktu pengamatan. Perbandingan jumlah sel neutrofil kelompok perlakuan dan kelompok kontrol berdasarkan hari pengamatan dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil histopatologi sel neutrofil pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4.



Gambar 2. Perbandingan rerata jumlah neutrofil. Setiap kelompok pada hari ke-1, ke-3, ke-5 dan ke-7



Gambar 3. Gambaran preparat histologis. (A) kelompok perlakuan hari pertama, (B) kelompok perlakuan hari ketiga, (C) kelompok perlakuan hari kelima, (D) kelompok perlakuan hari ketujuh



Gambar 4. Gambaran preparat histologis. (A) kelompok kontrol hari pertama, (B) kelompok kontrol hari ketiga, (C) kelompok kontrol hari kelima, (D) kelompok kontrol hari ketujuh

Hasil uji *Saphiro Wilk* dan uji *Levene test* menunjukkan data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen sehingga uji hipotesis dilanjutkan dengan menggunakan uji non parametrik *Kruskal Wallis*. Hasil uji menunjukkan nilai *p value* 0,000 yang berarti gel kombinasi ekstrak *Camellia sinensis* dan kitosan berpengaruh terhadap jumlah sel neutrofil pasca ekstraksi gigi tikus Wistar (Tabel 2). Uji *Mann Whitney* menunjukkan perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada masing-masing hari pengamatan. Pada semua waktu pengamatan secara signifikan kelompok perlakuan lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol dan penurunan jumlah neutrofil juga terjadi pada hari ketiga, kelima, dan ketujuh pada kelompok kontrol dan perlakuan di mana terjadi penurunan jumlah dari hari ke hari yang signifikan secara statistik (*p-value* <0,05) (Tabel 3).

Tabel 2. Hasil Uji *Kruskal Wallis*
Jumlah Neutrofil

Chi-Square	30,048
df	7
nilai p	0,000

Tabel 3. Hasil Uji *Mann Whitney*

	K1	K3	K5	K7	P1	P3	P5	P7
K1								
K3	0,021*							
K5	0,021*	0,021*						
K7	0,021*	0,021*	0,021*					
P1	0,021*	0,110	0,021*	0,021*				
P3	0,021*	0,021*	0,021*	0,021*	0,021*			
P5	0,021*	0,021*	0,021*	0,462	0,021*	0,021*		
P7	0,021*	0,021*	0,021*	0,021*	0,021*	0,021*	0,021*	

*terdapat perbedaan bermakna

PEMBAHASAN

Neutrofil dengan jumlah tertinggi yang teramati pada hari pertama pasca ekstraksi pada kelompok perlakuan dan kontrol merefleksikan peran dominannya sebagai elemen kunci fase inflamasi akut. Sel imun tersebut akan bertindak sebagai responden pertama pertahanan terhadap invasi bakteri dan organisme patogen lainnya melalui fagositosis, *neutrophil extracellular traps (NETs)*, dan pelepasan granula sitotoksik. Aktivitas ini secara fisiologis bersifat transien dengan puncak infiltrasi sel neutrofil terjadi pada 24-48 jam pertama setelah cedera.²⁴ Hiperaktivitas berkepanjangan dari sel neutrofil dapat memicu degranulasi dan pelepasan enzim proteolitik yang bersifat sitotoksik hingga berpotensi menyebabkan kerusakan pada jaringan sehat. Proses infiltrasi neutrofil akan dikurangi melalui kematian terprogram (apoptosis) dan pembersihan oleh makrofag (efferositosis).^{8,24}

Analisis deskriptif menunjukkan rerata sel neutrofil yang lebih rendah pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif di setiap hari pengamatan, yang mengindikasikan pengaruh intervensi terhadap dinamika respon imun pada fase awal penyembuhan. Kedua kelompok menunjukkan tren penurunan jumlah neutrofil sejak hari pertama hingga hari ketujuh, namun laju penurunan pada kelompok perlakuan lebih cepat dibandingkan kelompok kontrol negatif. Pola ini mengindikasikan resolusi fase inflamasi akut yang lebih dini pada kelompok perlakuan. Sebaliknya, pada kelompok kontrol negatif, penurunan jumlah neutrofil per hari relatif minimal, menandakan inflamasi yang lebih lama dan potensi perlambatan transisi ke fase proliferasi yang seharusnya telah dimulai pada hari ke-3.^{25,26}

Perbedaan jumlah neutrofil pada setiap hari pengamatan terbukti bermakna secara statistik, menguatkan efektivitas intervensi dalam menekan infiltrasi neutrofil sehingga dapat mempercepat transisi ke fase proliferasi pada proses penyembuhan luka. Temuan ini konsisten dengan literatur yang menegaskan bahwa resolusi inflamasi dan perbaikan jaringan terjadi lebih efisien bila infiltrasi neutrofil terkendali dan menurun.²⁷ Pola serupa juga dilaporkan oleh Soliman²⁸, yang menegaskan bahwa penekanan infiltrasi neutrofil melalui

mekanisme seperti efferocytosis makrofag dan migrasi balik neutrofil dapat mempercepat resolusi inflamasi dan meningkatkan kualitas penyembuhan luka.²⁸

Kondisi inflamasi berkepanjangan sering kali dipicu oleh keterlibatan mikroorganisme patogen dan nekrosis jaringan pada area perlukaan. Patogen tersebut akan menghasilkan *Pathogen-associated Molecular Pattern (PAMP)* dan jaringan yang mengalami nekrosis dapat menghasilkan *Damage Associated Molecular Pattern (DAMP)*. Kedua sinyal molekuler ini memicu peningkatan stimulasi migrasi sel neutrofil ke lokasi luka, sehingga memperbesar intensitas inflamasi.^{25-26,29} Dalam konteks ini, Pembersihan neutrofil sangat diperlukan untuk penyembuhan luka dan pengurangan inflamasi. Hal ini didukung oleh temuan serupa pada studi *in vivo* yang menunjukkan penyembuhan luka kulit lebih cepat pada tikus dengan sel neutrofil yang lebih sedikit pasca intervensi modalitas dibandingkan dengan kelompok kontrol.³⁰ Studi lain yang dilakukan pada tikus model diabetes menunjukkan kondisi disfungsi fagositosis sel apoptotik neutrofil oleh makrofag proinflamasi yang mengakibatkan sel apoptotik menginduksi inflamasi berkelanjutan.³¹ Proses ini menyebabkan terhentinya penyembuhan luka teratur pada fase inflamasi yang memicu pembentukan luka kronis.^{30,32} Dalam penelitian ini, dapat disimpulkan rekrutmen neutrofil yang lebih rendah pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol di lokasi luka menunjukkan proses penyembuhan luka yang lebih baik ditandai dengan tidak adanya inflamasi persisten.³⁰⁻³²

Inflamasi yang lebih rendah pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol dikaitkan dengan kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak *Camellia sinensis*. Analisis fitokimia pada ekstrak *Camellia sinensis* menunjukkan hasil sesuai dengan penelitian sebelumnya yang mengindikasikan adanya kandungan senyawa aktif polifenol, fenol, dan flavonoid.³³ Kandungan polifenol utama yang terkandung pada ekstrak *Camellia sinensis* adalah *Epigallocatechin gallate (EGCG)*.³⁴ Kandungan *EGCG* memiliki efek sebagai antiinflamasi, antimikroba, angiogenesis, dan antifibrotik yang dapat membantu percepatan proses penyembuhan luka.³³ *EGCG* sebagai antiinflamasi dapat menghambat infiltrasi dan migrasi neutrofil dengan menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi (TNF- α , IL-1 β , dan IL-6) dan kemokin (IL-8, MCP-1) melalui penghambatan jalur *Nuclear Factor Kappa B (Nf-kB)* dan *Toll-Like Receptor 4 (TLR4)*. *EGCG* juga menginduksi penurunan *reactive oxygen species (ROS)* yang sekaligus menekan NETosis sehingga jaringan yang rusak akibat *Neutrophil extracellular traps (NETs)* dapat diminimalisir.^{33,35} Hasil ini sesuai dengan hasil studi yang dilakukan pada model zebrafish yang mengalami cedera dan menunjukkan bahwa *EGCG* dari *Camellia sinensis* memiliki efek antiinflamasi melalui pengurangan respon neutrofil dan penurunan ekspresi gen proinflamasi.³³

Senyawa aktif fenol dan flavonoid yang terkandung pada ekstrak *Camellia sinensis* memiliki kemampuan untuk mengontrol jumlah neutrofil melalui berbagai mekanisme yang telah dibuktikan melalui berbagai penelitian. Fenol dapat mengganggu permeabilitas membran sel bakteri patogen yang melakukan penetrasi ke dalam luka. Proses tersebut akan menghambat metabolisme bakteri dan menurunkan ekskresi *PAMP* yang berakibat pada penurunan jumlah sel neutrofil pada luka.³⁶ Flavonoid mengurangi jumlah sel neutrofil dengan menghambat aktivitas protein enzim elastase neutrofil yang berperan dalam peningkatan aktivitas respon inflamasi neutrofil. Flavonoid dapat mengganggu aktivitas enzim sehingga mencegah kerusakan elastin yang berlebihan pada jaringan.³⁷ Selain itu, flavonoid juga telah terbukti berperan sebagai antiinflamasi dengan kemampuan supresi radikal bebas sehingga dapat menjadi senyawa ideal untuk menargetkan inflamasi. Flavonoid juga menginduksi peningkatan aktivitas dari caspase-3 sebagai eksekutor utama apoptosis neutrofil. Melalui mekanisme ini, flavonoid secara efektif mengurangi jumlah neutrofil di lokasi peradangan, menawarkan pendekatan yang menjanjikan untuk terapi anti-inflamasi untuk mempercepat penyembuhan jaringan pasca cedera.³⁸

Kitosan pada gel kombinasi yang digunakan dalam penelitian ini menunjukkan kemampuan dalam menjaga stabilitas *EGCG*, menstimulasi migrasi sel polimorfonuklear (PMN) dan mononuklear yang mana salah satu jenis PMN adalah neutrofil. Hal ini disebabkan oleh produksi *Interleukin-8 (IL-8)*. Stimulasi ekspresi PMN dirangsang oleh reseptor IL-8 berupa

motif *C-X-C Chemokine Receptor 1 (CXCR-1)* dan *C-X-C Chemokine Receptor 2 (CXCR-2)* yang dapat mengenali patogen dan mengatur ekspresi *IL-8* itu sendiri. Penghilangan patogen oleh kandungan dalam ekstrak *Camellia sinensis* menyebabkan ekspresi *IL-8* lebih rendah dan stimulasi ekspresi PMN juga berkurang. Hal ini menyebabkan kinerja kitosan dalam gel kombinasi yang digunakan pada penelitian ini sejalan dengan aktivitas *EGCG* dari ekstrak *Camellia sinensis*.^{27,39-40}

Berdasarkan penelitian ini, dapat diketahui bahwa pemberian gel ekstrak *Camellia sinensis* yang dikombinasi dengan kitosan memiliki potensi untuk dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai alternatif pengobatan pasca pencabutan gigi. Jumlah neutrofil pada kelompok perlakuan mengalami penurunan signifikan dari hari pertama hingga hari ketujuh yang menunjukkan bahwa tidak terjadi penghambatan penyembuhan luka akibat sel neutrofil yang persisten. Namun, hasil penelitian ini memiliki keterbatasan karena beberapa alasan berikut. Pertama, kelompok kontrol pada penelitian ini tidak diberikan intervensi pasca pencabutan sehingga perbandingan efektivitas antar kelompok mungkin kurang optimal. Kedua, penelitian ini menggunakan ekstrak kasar (*crude extract*) sehingga banyak senyawa aktif yang mempengaruhi jumlah neutrofil belum dapat diketahui secara kuantitatif.

SIMPULAN

Kombinasi gel ekstrak *Camellia sinensis* dan kitosan berefek terhadap jumlah neutrofil setelah pencabutan gigi tikus Wistar. Tikus Wistar yang diobati dengan kombinasi gel ekstrak *Camellia sinensis* dan kitosan menunjukkan jumlah neutrofil yang lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan tikus Wistar tanpa perawatan pasca pencabutan. Implikasi penelitian ini adalah sebagai referensi penelitian selanjutnya sebagai gambaran awal yang signifikan untuk memaksimalkan potensi *Camellia sinensis* sebagai bahan alami pengobatan pasca pencabutan gigi.

Kontribusi Penulis: Kontribusi peneliti "Konseptualisasi, N.A.A. dan E.P.R.; metodologi, N.A.A.; perangkat lunak, I.G.P.D.S.; validasi, N.A.A., EP.R., and I.G.P.D.S.; analisis formal, N.A.A.; investigasi, E.P.R.; sumber daya, N.A.A.; kurasi data, N.A.A.; penulisan penyusunan draft awal, N.A.A.; penulisan tinjauan dan penyuntingan, I.G.A.P.D.S.; visualisasi, I.G.A.P.D.S.; supervisi, E.P.R.; administrasi proyek, I.G.A.P.D.S.; perolehan pendanaan, N.A.A. Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan."

Pendanaan: Penelitian ini tidak menerima dana dari pihak luar.

Persetujuan Etik: Protokol penelitian pada hewan telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana (2021.01.1.0034 disahkan tanggal 25 Januari 2021).

Pernyataan Dewan Peninjau Kelembagaan: Protokol penelitian pada hewan telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana (2021.01.1.0034 disahkan tanggal 25 Januari 2021).

Konflik Kepentingan: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Riskesdas 2018. Laporan Nasional Riskesdas 2018. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI; 2018. p. 127–30.
2. Broers DL, Dubois L, de Lange J, Welie JV, Brands WG, Lagas MB, Bruers JJ, de Jongh A. How dentists and oral and maxillofacial surgeons deal with tooth extraction without a valid clinical indication. PloS one. 2023 Jan 17;18(1): e0280288. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0280288>
3. Soesilawati P, Rachmat EA, Arundina I, Naomi N. The possibility of polymorphonuclear leukocyte activation in dental socket healing by freeze-dried Aloe vera induction. Dental J. 2021;54(3):124-7. <https://doi.org/10.20473/j.djmkq.v54.i3.p124-127>
4. Ahmed Z, Vadane AK. Difficult Extraction of Post-Endodontically Treated Upper Second molar: A Case Report. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2017;106(5):e31-5. <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2017.01.000485>
5. Kurniawati A, Kristanti YD, Rahmat NA, Rahayu YC, Cholid Z, Sosiawan A. The role of purple leaves extract (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff) on the number of fibroblasts and blood vessels in the socket after tooth extraction. Dent J. 2024;57(1):56–61. <https://doi.org/10.20473/j.djmkq.v57.i1.p56-61>
6. Deliverska EG, Petkova M. Complications after extraction of impacted third molars-literature review. J of IMAB–Annual Proceeding Scientific Papers. 2016 Jul 4;22(3):1202-11. <http://dx.doi.org/10.5272/jimab.2016223.1202>
7. Greenlee-Wacker MC. Clearance of apoptotic neutrophils and resolution of inflammation. Immunological reviews. 2016 Sep;273(1):357-70. DOI: Greenlee-Wacker MC. Clearance of apoptotic neutrophils and resolution of inflammation. Immunological

- reviews. 2016 Sep;273(1):357-70. <https://doi.org/10.1111/imr.12453>
8. Shofler D, Rai V, Mansager S, Cramer K, Agrawal DK. Impact of resolvin mediators in the immunopathology of diabetes and wound healing. Expert review of clinical immunology. 2021 Jun 3;17(6):681-90 <https://doi.org/10.1080/1744666X.2021.1912598>
9. Hassanshahi A, Moradzad M, Ghalamkari S, Fadaei M, Cowin AJ, Hassanshahi M. Macrophage-mediated inflammation in skin wound healing. Cells. 2022 Sep 21;11(19):2953. <https://doi.org/10.3390/cells11192953>
10. Peña OA, Martin P. Cellular and molecular mechanisms of skin wound healing. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2024 Aug;25(8):599-616. <https://doi.org/10.1038/s41580-024-00715-1>
11. Sohail R, Mathew M, Patel KK, Reddy SA, Haider Z, Naria M, Habib A, Abdin ZU, Chaudhry WR, Akbar A, Patel KK. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and gastroprotective NSAIDs on the gastrointestinal tract: a narrative review. Cureus. 2023 Apr 3;15(4):37080. <https://doi.org/10.7759/cureus.37080>
12. Xiang P, Marat T, Huang J, Cheng B, Liu J, Wang X, Wu L, Tan M, Zhu Q, Lin J. Response of photosynthetic capacity to ecological factors and its relationship with EGCG biosynthesis of tea plant (*Camellia sinensis*). BMC Plant Biology. 2025 Feb 14;25(1):199. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06106-8>
13. Violetta LE. Efek pemberian gel ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) pada tikus (*Rattus norvegicus*) model luka terbuka ditinjau dari ekspresi TGF- β 1 (transforming growth factor-beta satu) dan jumlah sel fibroblas [dissertation]. Malang: Universitas Brawijaya; 2017.
14. Rusdy H, Dohude GA, Putro BA, Syadana NT, Kevin S. Effect of Black Crab (*Scylla Serrata*) Chitosan Gel on the Three-Dimensional Socket Response and Fibroblasts after Tooth Extraction in *Rattus Norvegicus*. Journal of Hunan University Natural Sciences. 2024;51(3): 98-109. <https://doi.org/10.55463/issn.1674-2974.51.3.12>
15. Hartomo BT, Firdaus FG. Pemanfaatan biomaterial kitosan dalam bidang bedah mulut. B-Dent J Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah. 2019;6(1):62–70. <https://doi.org/10.33854/jbd.v6i1.82>
16. Wei Q, Ma L, Zhang W, Ma G, Hu Z. EGCG-crosslinked carboxymethyl chitosan-based hydrogels with inherent desired functions for full-thickness skin wound healing. Journal of Materials Chemistry B. 2022;10(20):3927-35. <https://doi.org/10.1039/D2TB00074A>
17. Kim MJ, Yang YJ, Min GY, Heo JW, Son JD, You YZ, Kim HH, Kim GS, Lee HJ, Yang JH, Park KI. Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Camellia sinensis* L. extract as a potential therapeutic for atopic dermatitis through NF- κ B pathway inhibition. Scientific Reports. 2025 Jan 18;15(1):2371. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-86678-5>
18. Pakizeh M, Moradi A, Ghassemi T. Chemical extraction and modification of chitin and chitosan from shrimp shells. European Polymer Journal. 2021 Oct 5;159:110709. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110709>
19. Ye J, Li Q, Zhang Y, Su Q, Feng Z, Huang P, Zhang C, Zhai Y, Wang W. ROS scavenging and immunoregulative EGCG@ Cerium complex loaded in antibacterial polyethylene glycol-chitosan hydrogel dressing for skin wound healing. Acta biomaterialia. 2023 Aug 1;166:155-66. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.05.027>
20. Ahmadi-Noorbakhsh S, Farajli Abbasi M, Ghasemi M, Bayat G, Davoodian N, Sharif-Paghaleh E, Poormoosavi SM, Rafizadeh M, Maleki M, Shirzad-Aski H, Kargar Jahromi H. Anesthesia and analgesia for common research models of adult mice. Laboratory animal research. 2022 Dec 13;38(1):40. <https://doi.org/10.1186/s42826-022-00150-3>
21. Leitão SA, dos Santos Soares D, Junior NC, Zimmer R, Ludwig NF, Andrades M. Study of anesthetics for euthanasia in rats and mice: A systematic review and meta-analysis on the impact upon biological outcomes (SAFE-RM). Life Sciences. 2021 Nov 1;284:119916. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119916>
22. Anggayanti NA, Purbasari IG, Wahyuni PS. The effect of 5% Curcuma xanthorrhiza extract gel on diabetic rat socket: A fibroblast analysis. Majalah Kedokteran Gigi. 2024 Jun;57(2):124-30. <https://doi.org/10.20473/j.djmk.v57.i2.p124-130>
23. Lolombulan JH, Utami RI, eds. *Analisis Data Statistika Bagi Peneliti Kedokteran dan Kesehatan*. Edisi 1. Yogyakarta: Andi; 2020.
24. Gierlikowska B, Stachura A, Gierlikowski W, Demkow U. Phagocytosis, degranulation and extracellular traps release by neutrophils the current knowledge, pharmacological modulation and future prospects. Frontiers in Pharmacology. 2021 May 4;12:666732. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.666732>
25. De Oliveira S, Rosowski EE, Huttenlocher A. Neutrophil migration in infection and wound repair: going forward in reverse. Nature Reviews Immunology. 2016 Jun;16(6):378-91. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.49>
26. Zindel J, Kubes P. DAMPs, PAMPs, and LAMPs in immunity and sterile inflammation. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease. 2020 Jan 24;15(1):493-518. <https://doi.org/10.7892/boris.143342>
27. Margraf A, Lowell CA, Zarbock A. Neutrophils in acute inflammation: current concepts and translational implications. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2022 Apr 7;139(14):2130-44. <https://doi.org/10.1182/blood.2021012295>
28. Soliman AM, Barreda DR. Acute inflammation in tissue healing. International journal of molecular sciences. 2022 Dec 30;24(1):641. <https://doi.org/10.3390/ijms24010641>
29. Wang J. Neutrophils in tissue injury and repair. Cell and tissue research. 2018 Mar;371:531-9. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2785-7>
30. Raziyeva K, Kim Y, Zharkinbekov Z, Kassymbek K, Jimi S, Saparov A. Immunology of acute and chronic wound healing. Biomolecules. 2021 May 8;11(5):700. <https://doi.org/10.3390/biom11050700>
31. Aitcheson SM, Frentiu FD, Hurn SE, Edwards K, Murray RZ. Skin wound healing: normal macrophage function and macrophage dysfunction in diabetic wounds. Molecules. 2021 Aug 13;26(16):4917. <https://doi.org/10.3390/molecules26164917>
32. Versey Z, da Cruz Nizer WS, Russell E, Zigic S, DeZeeuw KG, Marek JE, Overhage J, Cassol E. Biofilm-innate immune interface: contribution to chronic wound formation. Frontiers in immunology. 2021 Apr 9;12:648554. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01259>
33. Xu FW, Lv YL, Zhong YF, Xue YN, Wang Y, Zhang LY, Hu X, Tan WQ. Beneficial effects of green tea EGCG on skin wound healing: A comprehensive review. Molecules. 2021 Oct 11;26(20):6123. <https://doi.org/10.3390/molecules26206123>
34. Zhang Z, Zhang X, Bi K, He Y, Yan W, Yang CS, Zhang J. Potential protective mechanisms of green tea polyphenol EGCG against COVID-19. Trends in food science & technology. 2021 Aug 1;114:11-24. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.023>
35. Mokra D, Joskova M, Mokry J. Therapeutic effects of green tea polyphenol (–)-Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) in relation to molecular pathways controlling inflammation, oxidative stress, and apoptosis. International j of molecular sciences. 2022 Dec 25;24(1):340. <https://doi.org/10.3390/ijms24010340>
36. Liu W, Cui X, Zhong Y, Ma R, Liu B, Xia Y. Phenolic metabolites as therapeutic in inflammation and neoplasms: Molecular pathways

- explaining their efficacy. *Pharmacological research*. 2023 Jul 1;193:106812. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2023.106812>
37. Jakimiuk K, Gesek J, Atanasov AG, Tomczyk M. Flavonoids as inhibitors of human neutrophil elastase. *J of enzyme inhibition and medicinal chemistry*. 2021 Jan 1;36(1):1016-28. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1927006>
38. Martínez G, Mijares MR, De Sanctis JB. Effects of flavonoids and its derivatives on immune cell responses. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*. 2019 Oct 1;13(2):84-104. <https://doi.org/10.2174/1872213X13666190426164124>
39. Dewi RK, Oktawati S, Gani A, Suhartono E, Hamrun N, Said SM, Oktiani BW, Noor ZH, Marwah Y. Potential of chitosan black soldier flies (*hermetia illucens*) pupae on post-extraction wound healing process: Received 2024-03-01; Accepted 2024-03-19; Published 2024-03-26. *J of Health and Translational Medicine (JUMMEC)*. 2024 Mar 26:349-58. <https://doi.org/10.22452/jummec.sp2024no1.36>
40. Leliefeld PH, Wessels CM, Leenen LP, Koenderman L, Pillay J. The role of neutrophils in immune dysfunction during severe inflammation. *Critical care*. 2016 Dec;20:1-9. <https://doi.org/10.1186/s13054-016-1250-4>