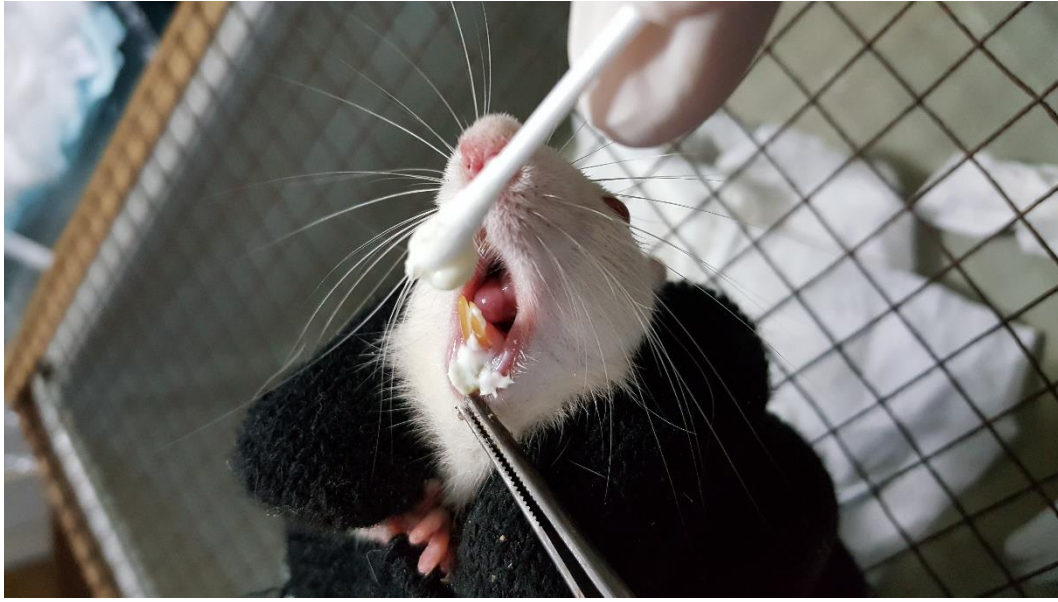


Lampiran 1 Aplikasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> untuk membuat ulkus



Pengukuran ulkus



Aplikasi emulgel minyak jintan hitam



Pengambilan jaringan

Lampiran 2 Data ukuran diameter (mm) ulkus semua kelompok

kelompok		Selisih hari ke	
		1-3	3-5
Kontrol -	1.1	0.8	-1.9
	1.2	-0.4	-0.1
	1.3	0.6	-1.3
	1.4	0.7	-0.8
	1.5	1.3	-0.1
	1.6	0.2	0.1
	1.7	1.5	-0.4
	1.8	-1.2	1.2
Kontrol +	2.1	0.1	0.1
	2.2	0.4	0.4
	2.3	0.3	0.2
	2.4	0.7	0.3
	2.5	0.3	0.5
	2.6	0.7	0
	2.7	0.13	0.7
	2.8	1.1	0.9
Emulgel Minyak Jintan Hitam	3.1	0.4	2.5
	3.2	0.4	3
	3.3	0.4	2.3

	3.4	0.5	3
	3.5	-0.7	2.9
	3.6	-0.4	3.2
	3.7	-0.3	3
	3.8	0.1	3.4

Data jumlah fibroblas

Kelompok		Rerata jumlah fibrblas
Kontrol -	1.1	67.7
	1.2	65.3
	1.3	74.3
	1.4	70.3
	1.5	72.0
	1.6	74.7
	1.7	70.3
	1.8	75.0
Kontrol +	2.1	88.7
	2.2	86.7
	2.3	89.3
	2.4	93.3
	2.5	94.3
	2.6	92.0
	2.7	93.3

	2.8	90.3
Emulgel Minyak Jintan Hitam	3.1	163.7
	3.2	163.7
	3.3	165.7
	3.4	142.7
	3.5	108.3
	3.6	123.0
	3.7	99.0
	3.8	158.3

Data ekspresi VEGF yang dihitung menggunakan skor Alred

Kelompok	No tikus	Densitas	Proporsi (SKOR)	Skor alred
Kontrol -	1.1	2	$129/165 \times 100\% = 78\%$ (5)	7
	1.2	2	$74/102 \times 100\% = 72\%$ (4)	6
	1.3	2	$67/100 \times 100\% = 67\%$ (4)	6
	1.4	2	$80/126 \times 100\% = 63\%$ (4)	6
	1.5	1	$83/139 \times 100\% = 60\%$ (4)	5
	1.6	1	$40/155 \times 100\% = 25\%$ (2)	5
	1.7	1	$20/100 \times 100\% = 20\%$ (2)	5
	1.8	1	$35/120 \times 100\% = 29\%$ (2)	5
Kontrol +	2.1	2	$102/120 \times 100\% = 85\%$ (5)	7
	2.2	2	$123/145 \times 100\% = 85\%$ (5)	7
	2.3	2	$120/135 \times 100\% = 89\%$ (5)	7

	2.4	2	90/100x100%=90%(5)	7
	2.5	2	97/120x100%=81%(5)	7
	2.6	2	79/86 X100%=88%(5)	7
	2.7	2	99X123X100%=80% (5)	7
	2.8	2	87/99 X100%=88%(5)	7
Emulgel Minyak Jintan Hitam	3.1	2	125/143X100%=87% (5)	7
	3.2	3	135/155X100%=87%(5)	8
	3.3	3	124/150X100%=83% (5)	8
	3.4	3	126/156X100%=81% (5)	8
	3.5	3	121/134 X100%=90%(5)	8
	3.6	3	110X145X100%=76% (5)	8
	3.7	3	109X120X100%=91%(5)	8
	3.8	3	99/105X100%=94% (5)	8

### Lampiran 3 Statistik

Tests of Normality							
	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter	kontrol	,220	8	,200*	,844	8	,082
	kontrol positif	,313	8	,021	,728	8	,005
	emulgen NSO	,209	8	,200*	,900	8	,286
diameterhari3	kontrol	,285	8	,054	,800	8	,029
	kontrol positif	,162	8	,200*	,989	8	,993
	emulgen NSO	,222	8	,200*	,819	8	,045
diameterhari5	kontrol	,189	8	,200*	,914	8	,384

	kontrol positif	,198	8	,200*	,956	8	,773
	emulgen NSO	,236	8	,200*	,921	8	,434
fibroblas	kontrol	,190	8	,200*	,920	8	,426
	kontrol positif	,183	8	,200*	,946	8	,675
	emulgen NSO	,245	8	,172	,851	8	,098

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

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Kruskal-Wallis pengukuran diameter ulkus hari ke-1

	perlakuan	N	Mean Rank
diameter	kontrol	8	18.94
	kontrol positif	8	9.88
	emulgen NSO	8	8.69
	Total	24	

	diameter
Chi-Square	10.192
df	2
Asymp. Sig.	.006

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

perlakuan

Uji Kruskal-Wallis pengukuran diameter ulkus hari ke-3

	perlakuan	N	Mean Rank
diameterhari3	kontrol	8	14.88
	kontrol positif	8	8.38

emulgen NSO	8	14.25
Total	24	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

diameterhari3	
Chi-Square	4.205
df	2
Asymp. Sig.	.122

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

**Uji Oneway Anova Pengukuran Diameter Ulkus hari ke-5**

**Test of Homogeneity of Variances**

diameterhari5

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,353	2	21	,054

**ANOVA**

diameterhari5

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12,106	2	6,053	40,692	,000
Within Groups	3,124	21	,149		
Total	15,230	23			

**uji post hoc diameter ulkus hari ke-5**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: diameterhari5

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	kontrol positif	1,27500*	,19284	,000	,8740	1,6760



	emulgen NSO	1,66250*	,19284	,000	1,2615	2,0635
kontrol positif	kontrol	-1,27500*	,19284	,000	-1,6760	-,8740
	emulgen NSO	,38750	,19284	,058	-,0135	,7885
emulgen NSO	kontrol	-1,66250*	,19284	,000	-2,0635	-1,2615
	kontrol positif	-,38750	,19284	,058	-,7885	,0135

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

## Uji Oneway Anova Fibroblas

### ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20408,528	2	10204,264	40,986	,000
Within Groups	5228,417	21	248,972		
Total	25636,944	23			

## Uji Post Hoc Fibroblas

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: fibroblas

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	kontrol positif	-19,79167*	7,88943	,020	-36,1986	-3,3847
	emulgen NSO	-69,33333*	7,88943	,000	-85,7403	-52,9264
kontrol positif	kontrol	19,79167*	7,88943	,020	3,3847	36,1986
	emulgen NSO	-49,54167*	7,88943	,000	-65,9486	-33,1347
emulgen NSO	kontrol	69,33333*	7,88943	,000	52,9264	85,7403
	kontrol positif	49,54167*	7,88943	,000	33,1347	65,9486

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

## Uji normalitas Ekspresi VEGF semua kelompok

### Tests of Normality<sup>b</sup>

	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.

vegf	kontrol	.300	8	.033	.798	8	.027
	emulgen NSO	.513	8	.000	.418	8	.000

a. Lilliefors Significance Correction

b. vegf is constant when perlakuan = kontrol positif. It has been omitted.

### Uji kruskall-Wallis VEGF

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	vegf
Chi-Square	19.716
df	2
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:  
perlakuan

### Uji Mann-Whitney VEGF Antara Kelompok Kontrol – dan Kontrol +

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	vegf
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	40.000
Z	-3.282
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

### Uji Mann-Whitney VEGF Antara Kelompok Kontrol + dan Emulgel Minyak Nigella Sativa

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	vegf
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	40.000
Z	-3.416
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: perlakuan
- b. Not corrected for ties.

Uji Mann-Whitney VEGF Antara Kelompok Kontrol - dan Emulgel Minyak Nigella Sativa

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	vegf
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	36.500
Z	-3.496
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: perlakuan
- b. Not corrected for ties.

Uji *Pearson correlations*

**Correlations**

		fibroblas	vegf
fibroblas	Pearson Correlation	1	.708**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	24	24
vegf	Pearson Correlation	.708**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	24	24

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 4 *Ethical clearance*

**KOMISI BIOETIKA PENELITIAN KEDOKTERAN/KESEHATAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG SEMARANG**

Sekretariat : Gedung C Lantai I Fakultas Kedokteran Unissula  
Jl. Raya Kaligawe Km 4 Semarang, Telp. 024-6583584, Fax 024-6594366

# Ethical Clearance

**No. 429/XII/2017/Komisi Bioetik**

Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, setelah melakukan pengkajian atas usulan penelitian yang berjudul :

**PENGARUH GEL MINYAK JINTAN HITAM TERHADAP EKSPRESI VEGF, JUMLAH FIBROBLAS DAN DIAMETER ULKUS TRAUMATIKUS MUKOSA MULUT PADA TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.**

Peneliti Utama : Linda Septiana  
Pembimbing : Dr. dr. Chodidjiah, M.Kes  
Dr. Atina Husaana, M.Si., Apt  
Tempat Penelitian : Lab. Biologi FK UNISSULA

dengan ini menyatakan bahwa usulan penelitian diatas telah memenuhi prasyarat etik penelitian. Oleh karena itu Komisi Bioetika merekomendasikan agar penelitian ini dapat dilaksanakan dengan mempertimbangkan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki dan panduan yang tertuang dalam Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI tahun 2004.

Semarang, 12 Desember 2017

Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan  
Fakultas Kedokteran Unissula

Ketua,



(dr. Sofwan Dahlan, Sp.F(K))

## Lampiran 5

### Komposisi dan Cara Pembuatan Emulgel Minyak Jintan Hitam

Formula emulgel minyak jintan hitam

<b>Nama bahan</b>	<b>Jumlah</b>
Minyak jintan hitam	10 ml
Carbopol 940	5 ml
Sorbitol	2 ml
TEA	1,5
Tween 80	2.5 mg
Span 80	5 mg
Parafin cair	2 ml
Nipagen	0,3 m
Nipasol	0,045 mg
Aquadest (ml)	115 ml

### Peralatan

<b>Alat</b>	<b>Jumlah</b>
Cawan	2
Gelas ukur 50 ml	1
Gelas ukur 10 ml	1
Beker glass 250	2
Mortar besar	1
Timbangan	1
Sendok	2
Alumunium foil	
Waterbath	1

Panic	1
-------	---

### **Pembuatan emulgel**

1. Pengembangan *gelling agent* Na CMC dengan air suling hangat hingga terbentuk basis gel, kemudian didiamkan selama 2 x 24 jam agar pengembangannya stabil.
2. Semua bahan dicampur menurut fasenya masing – masing di atas *waterbath* hingga suhu 50°C. Parafin cair, span 80 dan propil paraben dicampur sebagai fase minyak sedangkan air
3. Tween 80, sorbitol, dan metil paraben dicampur sebagai fase air.
4. Kemudian kedua fase dicampur dalam mortir yang sebelumnya dipanaskan dengan suhu 60°C.
5. Setelah dingin kemudian ditambahkan minyak jintan hitam sedikit demi sedikit sambil terus diaduk hingga semuanya tercampur homogen.
6. *Gelling agent* Na CMC yang telah dikembangkan kemudian dicampurkan ke dalam emulsi kemudian diaduk hingga homogen.

### **Komposisi emulgel**

#### **1. Na CMC**

Natrium Karboksimetilselulosa atau Na CMC adalah serbuk atau granul putih, tidak berbau dan higroskopis. Na CMC digunakan dalam formulasi sediaan oral dan topikal untuk meningkatkan viskositas. Selain itu, Na CMC juga digunakan sebagai *gelling agent* (3-6% ), penyalut, pengikat tablet (1-6%), dan 0,1 - 1,0% sebagai oral solution.

#### **2. Sorbitol**

Sorbitol merupakan alkohol hexahydric, tidak berbau, berwarna putih, kristal bubuk dan higroskopis. Sorbitol banyak digunakan sebagai eksipien dalam formulasi sediaan farmasi, kosmetik dan produk makanan. Sorbitol biasanya digunakan sebagai Humectant (0,5 – 15%), plasticizer, penstabil, pemanis, pengisi pada kapsul dan tablet.

### 3. Emulsifying agent (Polysorbate 80 dan Sorbitan monooleat)

Emulsifying agent berperan dalam kestabilan emulsi dengan menurunkan tegangan antar muka. Emulsifying agent akan efektif jika memiliki dua gugus yaitu polar dan non polar. Polysorbate 80 atau biasa dikenal dengan Tween 80 merupakan surfaktan hidrofilik non-ionik yang sering digunakan sebagai emulsifying agent. Tween 80 berbentuk cairan berwarna kuning muda hingga coklat muda dan bau khas lemah larut dalam air, etanol, etil asetat, metanol, dan dioksin tetapi tidak larut dalam minyak mineral

Sorbitan monooleat atau yang lebih dikenal dengan Span 80 merupakan emulsifying agent lipofilik berbentuk cairan kental kekuningan dan tidak berbau. Span 80 larut atau terdistribusi dalam minyak, dalam pelarut organik, dan praktis tidak larut dalam air

Penggunaan kombinasi kedua emulsifying agent ini bertujuan untuk memperoleh emulsi yang stabil karena memiliki sifat non-ionik yang cenderung memiliki sifat hidrofilik dan lipofilik yang seimbang

### 4. Parafin Cair

Parafin cair merupakan cairan kental transparan, tidak berwarna, berasa dingin dan tidak berbau tapi memiliki bau saat dipanaskan. Penggunaan parafin dalam formulasi adalah sebagai emolient, yaitu membantu menjaga agar kulit tetap lembut dan halus

### 5. Propil paraben dan Metil paraben

Propil paraben atau nipasol merupakan serbuk kristal berwarna putih dan tidak berbau. Nipasol memiliki sifat sangat sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dan dalam eter, larut dalam 6 bagian propilenglikol, larut dalam 40 bagian gliserin dan larut dalam 40 bagian air mendidih. Nipasol biasanya digunakan sebagai pengawet karena memiliki aktivitas sebagai antimikroba dengan konsentrasi 0,01 – 0,02% untuk sediaan topikal.

Metil paraben atau nipagin merupakan serbuk hablur kecil tidak berwarna atau berwarna putih dan berbau khas lemah. Nipagin digunakan sebagai antimikroba dengan konsentrasi 0,02-0,3% .

### 6. Aqua destilata

Menurut Farmakope Indonesia edisi III, aquadest yaitu cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak mempunyai rasa. Nama lain aquadest adalah air suling. Aquadest dibuat dengan menyuling air yang dapat diminum. Fungsi aquadest sebagai pelarut, dengan rumus kimia H<sub>2</sub>O dan berat molekul 18,02.