

RESEARCH ARTICLE

Efektivitas Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma Cacao* L.) terhadap Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi pada Sel Makrofag

(The effectiveness of Cacao bean extract toward tooth extraction healing on macrophages)

Atik Kurniawati*, Zainul Cholid**, Melati Harum Pertiwi**

* Departemen of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Jember University, Indonesia

** Departemen of Oro Maxillofacial, Faculty of Dentistry, Jember University, Indonesia

*** Under graduate student, Faculty of Dentistry, Jember University, Indonesia

ABSTRACT

Background: Tooth extraction is a choice procedure that is often carried out in the field of dentistry. Tooth extraction can cause a cavity in the form of a tooth socket and tooth extraction wounds on the tissue around the socket followed by the body's response through wound healing. One of the process of wound healing namely the inflammatory phase. Macrophages are the most dominant cells in inflammation with the highest number on days 2 to 3. Polyphenols in cocoa beans have an active compound in the form of anti-inflammatory and antioxidants that are effective in accelerating the healing of wounds. **Purpose:** To determine the effect of giving the cocoa bean extract gel to the number of macrophage cells in the socket after tooth extraction male wistar rat on the 1st, 3th and 5th day. **Material and method:** This type of research is experimental laboratories. The samples used were 24 male Wistar rats which were then divided into 2 groups, namely the control group (sockets not given any treatment) and treatment groups (sockets were given 8% cocoa bean extract) on the 1st, 3th and 5th day post tooth extraction will be carried out decapitation. **Results:** The 8% cocoa bean extract gel had the potential to influence the number of macrophage cells in the socket after the tooth extraction of male Wistar rat on the 1st, 3th and 5th day caused an active compound in the cocoa **Conclusions:** the most effectiveness of the cocoa bean extract gel toward tooth extraction healing on the number of macrophage cells on the 3rd day

Keywords: Cacao, macrophages, tooth extraction.

Correspondence: Atik Kurniawati, Department of Oral Biology, Dental Faculty of Jember University, Jl. Kalimantan no. 56 Jember Indonesia 68121, 0331-333536, Email: atik.fkg@unej.ac.id

INTRODUCTION

Salah satu tindakan perawatan yang sering dilakukan dalam bidang kedokteran gigi adalah ekstraksi atau pencabutan gigi¹. Pencabutan gigi merupakan suatu tindakan pembedahan yang melibatkan jaringan keras seperti tulang dan jaringan lunak. Luka pada jaringan lunak selanjutnya diikuti dengan proses penyembuhan yang terjadi melalui tiga fase, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling²². Beberapa jam setelah luka, terjadilah invasi sel inflamasi yaitu sel neutrofil atau sel polimorfonuklear (PMN) pada jaringan luka yang terjadi pada 6-24 jam pertama, kemudian sel polimorfonuklear (PMN) bermigrasi menuju daerah luka dan setelah 24-48 jam sel PMN akan digantikan dengan makrofag yang merupakan sel paling dominan pada inflamasi dengan jumlah paling tinggi pada hari ke-2 sampai hari ke-3. Makrofag akan tetap di dalam luka sampai penyembuhan berjalan sempurna dan makrofag berangsur-angsur akan menurun dan akan digantikan oleh limfosit^{2,3}.

Makrofag merupakan unsur sel yang penting pada pembentukan jaringan granulasi yang berasal dari sel monosit. Monosit sendiri berasal dari sel progenitor di sumsum tulang. Makrofag berfungsi untuk memfagositosis patogen, sel-sel mati, beberapa komponen dalam matriks ekstraselular dan fibrin. Penurunan jumlah makrofag pada hari ke-5 menunjukkan bahwa proses inflamasi telah banyak berkurang^{1,4,5}.

Salah satu tanaman yang diyakini memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan adalah kakao (*Theobroma cacao* L). Secara empiris, masyarakat mengenal coklat sebagai makanan anti stress. Dilaporkan bahwa orang yang mengkonsumsi coklat selama lebih dari tiga hari secara rutin dapat meningkatkan kualitas hidupnya menjadi lebih lama pada penderita kanker⁶. Peneliti lain menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol biji kakao 50% dapat meningkatkan aktivitas dan

kapasitas fagositosis sel makrofag peritonium mencit yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus epidermidis*⁹. Selain itu pemberian ekstrak biji kakao 8% dapat mempercepat penyembuhan luka pasca pencabutan gigi pada tikus wistar jantan dengan meningkatkan jumlah sel fibroblast⁷. Hal ini dikarenakan kakao banyak memiliki kandungan polifenol berupa katekin, epikatekin, antosianin, proantosianidin, asam-asam fenolat, tanin, dan flavonoid-flavonoid lainnya⁸. Flavanoid dan katekin memiliki fungsi sebagai antiinflamasi, proantosianidin berfungsi sebagai antibakteri dan epikatekin serta antosianin berfungsi sebagai antioksidan, sehingga akhir-akhir ini penelitian tentang kakao di bidang kesehatan berkembang pesat⁹. Akan tetapi penelitian tentang pemberian kakao dalam mempercepat proses penyembuhan luka pencabutan gigi melalui peran makrofag belum pernah dilaporkan. Berdasarkan uraian tersebut maka, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian gel ekstrak biji kakao 8% terhadap jumlah sel makrofag pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan pada hari ke-1, ke-2 dan ke-3

MATERIALS AND METHODS

Penelitian ini sebelumnya sudah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etik FKG Universitas Jember no152/UN.25.8/KEPK/DL/2018, merupakan penelitian *eksperimental laboratories* dengan rancangan *post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan di Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember mulai bulan Juli – Agustus 2018. Pembuatan ekstrak biji kakao menggunakan metode maserasi yang dilanjutkan dengan pembuatan gel ekstrak biji kakao 8% dengan basis CMC-Na^{10,11}. Sampel yang digunakan adalah 24 ekor tikus *Wistar* jantan yang kemudian dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok

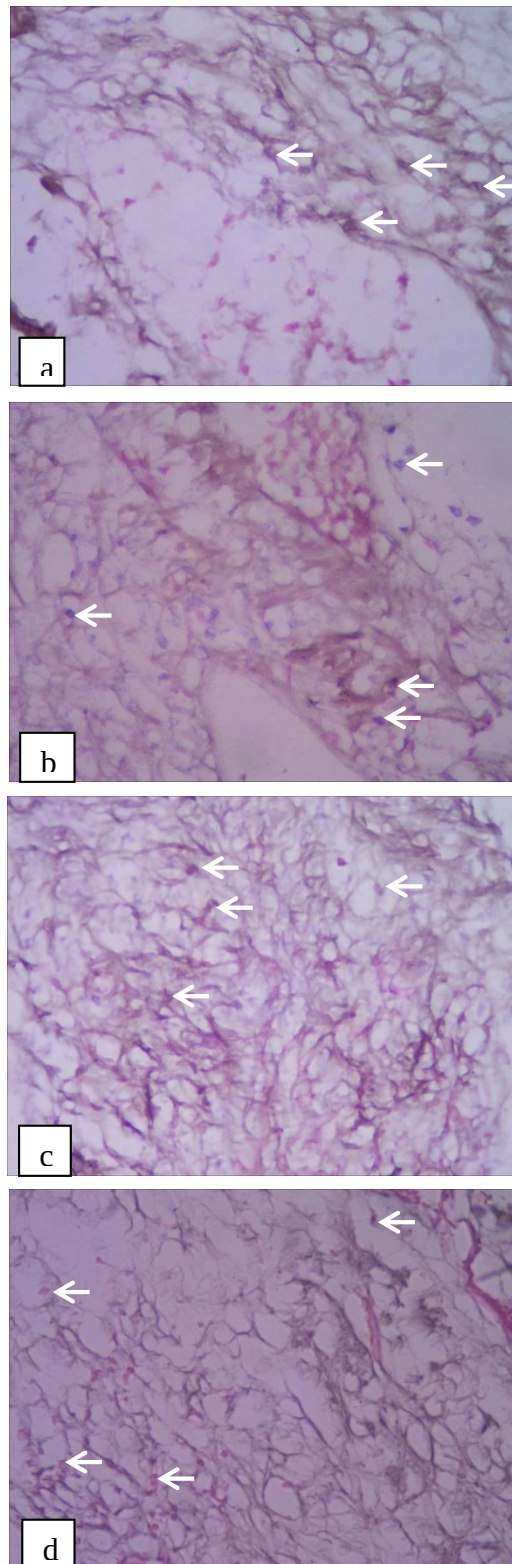
kontrol yang tidak diberikan perlakuan apapun dan kelompok perlakuan yang diberi gel ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) 8%. Semua sampel dilakukan anestesi terlebih dahulu menggunakan *ketamin* kemudian dilakukan pencabutan gigi molar satu kiri bawah. Pada kelompok kontrol, diberikan gel ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) 8% setiap harinya sampai sehari sebelum dilakukan dekaputasi.

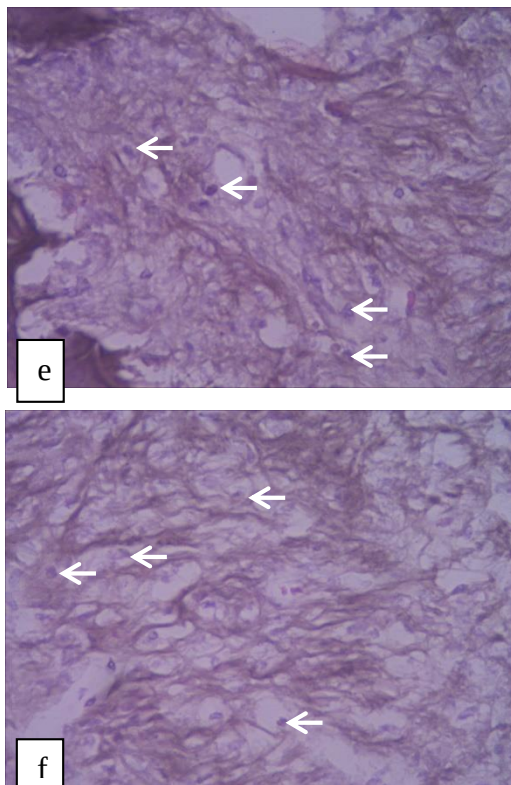
Pada hari ke-1, ke-3, dan hari ke-5 pasca pencabutan dilakukan dekaputasi. Kemudian dilakukan pembuatan preparat histologis dengan pemotongan arah bukal-lingual sehingga nantinya terlihat gambaran soket yang diapit oleh tulang alveolar. Preparat diwarnai dengan pengecatan *Hematoxylin Eosin*. Preparat yang telah jadi, diamati menggunakan mikroskop binokuler pembesaran 400x pada 3 lapang pandang yang berbeda yaitu pada 1/3 apikal pada soket gigi pada bagian mesial, distal dan central dengan menggunakan mikroskop binokuler.

Setelah didapatkan hasil perhitungan sel makrofag, maka dilakukan analisis data pada masing-masing variabel. Pertama, dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, kemudian dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Apabila data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *Anova*. Namun, apabila data tidak memenuhi asumsi normalitas maka dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*.

RESULT

Hasil penelitian diamati pada mikroskop dan terlihat gambaran soket serta sel makrofag yang jumlahnya berbeda pada setiap kelompoknya hari ke-1, ke-3 dan ke-5 (Gambar 1).



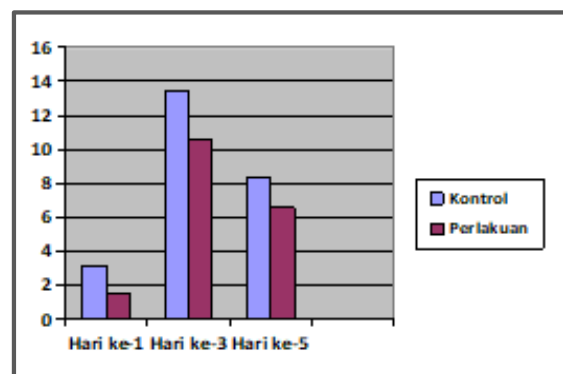


Gambar 1. Gambaran histologis sel makrofag pada soket tikus wistar jantan (panah putih) yang diamati dengan menggunakan mikroskop binokuler pada perbesaran 400x dengan pewarnaan *Haematoxilin-eosin*. (A) Kelompok perlakuan Hari ke-1, (B) Kelompok perlakuan Hari ke-3, (C) Kelompok perlakuan Hari ke-5, (D) Kelompok kontrol hari ke-1, (E) Kelompok kontrol hari ke-3, dan (F) Kelompok kontrol hari ke-5.

Berdasarkan pengamatan dan perhitungan sel makrofag pada preparat histologis yang dilakukan, didapatkan jumlah rerata sel makrofag pada masing - masing kelompok yang dapat dilihat dalam tabel 1.

Tabel 1. Rerata (*mean*) dan standar deviasi (*SD*) jumlah makrofag tikus Wistar jantan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Pengamat an	Hari Ke 1 (<i>mean</i> ± <i>SD</i>)	Hari Ke 3 (<i>mean</i> ± <i>SD</i>)	Hari Ke 5 (<i>mean</i> ± <i>SD</i>)
Kelompok Kontrol	3,1583 ± 0,13096	13,467 5± 0,2067	8,3900± 0,21393
Kelompok Perlakuan	1,4458 ± 0,09076	10,526 7± 0,1075	6,5272± 0,13796



Gambar 2. Histogram rata-rata jumlah sel makrofag masing-masing kelompok pada soket pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan.

Berdasarkan hasil analisis dengan *One-way Anova* menunjukkan bahwa jumlah sel makrofag pada semua masing-masing kelompok menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

DISCUSSION

Sediaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan dalam bentuk gel. Sediaan dalam bentuk gel dipilih karena bentuk gel mempunyai sifat yang menyejukkan, melembabkan, mudah penggunaannya, mudah berpenetrasi pada kulit atau mukosa sehingga memberikan efek yang menyembuhkan [9]. *Gelling agent* yang digunakan adalah CMC-Na dengan konsentrasi 3-6% yang berbentuk serbuk granul putih yang memiliki sifat tidak berbau, tidak berasa, bersifat higroskopis, tidak dapat larut dalam aseton, etanol (95%), eter, dan toluene. Sediaan gel dengan basis CMC-Na memiliki kekurangan yaitu mudah terdispersi dalam air pada segala temperature, sehingga sediaan gel mudah larut dalam saliva yang berada di rongga mulut^{10,11}.

Hasil rerata jumlah sel makrofag pada kelompok perlakuan pada hari ke-1, ke-3 dan ke-5 yang diberi gel ekstrak biji kakao 8% menunjukkan rata-rata jumlah sel makrofag lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol pada hari ke-1, ke-3 dan ke-5, hal ini dikarenakan pada proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi tikus wistar jantan dipengaruhi oleh adanya kandungan dari ekstrak biji kakao 8% ($p < 0,05$) Senyawa aktif tersebut berupa flavonoid dan katekin yang mampu menurunkan jumlah makrofag dengan adanya kandungan antioksidan ini, sehingga dapat mempercepat proses inflamasi. Artinya dengan proses inflamasi yang tidak berkepanjangan, maka proses penyembuhan luka semakin cepat. Hal ini sesuai dengan penelitian dari Fuadi *et al.* (2015) bahwa pemberian gel ekstrak biji kakao mempengaruhi proses penyembuhan pada luka bakar derajat dua¹²

Peran makrofag dalam penyembuhan luka melalui berbagai cara, antara lain kemampuannya dalam mengeliminasi neutrophil yang berisi debris dan mengawalnya sehingga neutrophil hilang dari daerah luka. Makrofag juga dapat memfagosit atau menginduksi apoptosis pada

neutrophil sehingga proses inflamasi menjadi lebih cepat dan selanjutnya memasuki fase penyembuhan. Hal ini merupakan titik peralihan peran makrofag yang semula dari pro-inflamasi menjadi pendukung perbaikan jaringan.¹³ Pada saat luka, makrofag pro-inflamasi akan teraktivasi, sehingga mengeluarkan berbagai macam mediator dan sitokin seperti IL-1, IL-6, IL-12, TNF α , *inducible nitric oxide synthase (iNOS)*. Selain itu makrofag juga memproduksi *chemoattractant* sehingga leukosit tambahan akan berdatangan menuju tempat luka, yang akhirnya luka menjadi lebih cepat sembuh¹⁴ Selain itu, diduga karena adanya senyawa *caffeine*, yang merupakan *methylxanthine* yang menjadi bagian dari alkaloid. Alkaloid merupakan komponen utama pada berbagai makanan seperti kopi, coklat dan teh. Alkaloid berperan sebagai sumber antioksidan potensial. Saat terjadi luka pada jaringan, sel-sel yang rusak akan mengeluarkan *Reactive Oxygen Species (ROS)*, saat itu diperlukan antioksidan yang banyak untuk menghalau radikal bebas (ROS) sehingga luka akan cepat menutup. Sebenarnya anti-oksidan secara normal sudah diproduksi oleh tubuh, akan tetapi pada proses kerusakan jaringan, diperlukan jumlah anti-oksidan yang lebih sehingga proses penyembuhan menjadi lebih cepat¹⁵

Untuk hari pertama, jumlah makrofag lebih sedikit baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan, hal ini sesuai dengan penelitian dari Mutiara *et al.*, (2015) bahwa jumlah makrofag menurun pada penyembuhan luka fase proliferasi tikus putih kondisi hiperglikemia dengan pemberian hydrogel binahong¹⁶. Untuk kelompok kontrol, keberadaan makrofag memang sudah ada sejak beberapa menit setelah inflamasi dimulai dan akan menetap di jaringan yang mengalami inflamasi. Makrofag di jaringan sekitar inflamasi menjadi aktif dan mempunyai kemampuan membelah diri menjadi makrofag lebih banyak lagi untuk segera memulai respons kerjanya

membentuk lini pertama pertahanan tubuh¹⁷.

Pada kelompok perlakuan hari pertama terjadi penurunan makrofag dibandingkan dengan kelompok kontrol hari pertama. Hari pertama merupakan fase awal yaitu dalam 24 jam pertama, sel yang paling banyak bereaksi ialah netrofil atau lekosit polimorfonukleus (PMN) Makrofag mensekresikan protein yang dikenal dengan nama kemokin yang mempunyai kemampuan merekrut sel lain yang memiliki reseptor kemokin seperti neutrofil dan monosit (asal-usul makrofag) dari sirkulasi darah, neutrofil dan monosit dengan segera menuju area inflamasi sehingga jumlah neutrofil akan meningkat namun monosit yang bersirkulasi 10-20 jam di dalam sirkulasi darah ini berjumlah sedikit sehingga memerlukan asupan monosit dari sumsum tulang belakang untuk memperbanyak jumlahnya, datangnya bantuan ini menyebabkan jumlah makrofag jaringan akan semakin meningkat seiring proses inflamasi mengarah ke inflamasi kronis¹⁷, yakni ditunjukkan dengan peningkatan pada hari ke-3 karena mengalami fase inflamasi, kemudian mengalami penurunan kembali pada hari ke-5 dikarenakan jaringan yang mengalami inflamasi tersebut mulai memasuki tahap penyembuhan luka yaitu pada fase proliferasi dan hilangnya faktor yang mempengaruhi lamanya proses inflamasi¹⁸.

Kemokin merupakan salah satu reseptor, berupa protein yang disekresikan makrofag. Selain makrofag, kemokin juga dimiliki oleh neutrofil dan monosit. Kemokin mempunyai kemampuan merekrut sel lain yang memiliki reseptor tersebut untuk segera menuju area inflamasi sehingga jumlahnya meningkat. Untuk 10-20 jam setelah inflamasi, di dalam sirkulasi darah, jumlah neutrofil akan meningkat, namun monosit jumlahnya sedikit sehingga memerlukan kiriman monosit dari sumsum tulang belakang. Datangnya monosit ini menyebabkan jumlah makrofag jaringan akan semakin meningkat, karena monosit

merupakan sel asal dari makrofag. Dalam perkembangannya menuju proses inflamasi kronis, pada hari ke-3 ditunjukkan dengan adanya peningkatan makrofag, kemudian mengalami penurunan kembali pada hari ke-5 dikarenakan jaringan yang mengalami inflamasi tersebut mulai memasuki tahap penyembuhan luka yaitu pada fase proliferasi yang selanjutnya digantikan oleh sel limfosit.^{17,18}

Peningkatan makrofag yang terjadi pada hari ke-3 pada kelompok kontrol dan perlakuan disebabkan karena fase penyembuhan luka memasuki pada fase akhir inflamasi dan awal fase proliferasi dimana sel yang dominan adalah sel makrofag. Hal ini sesuai dengan penelitian Budi dkk (2017), serta Mutiara *et al*, (2015) bahwa makrofag sebagai sel fagosit profesional akan membersihkan debris pada daerah luka dan jumlahnya meningkat pada hari ke-3^{1,16}. Tingginya jumlah makrofag dibandingkan kelompok lain karena ekstrak biji kakao dapat menginduksi makrofag di sekitar luka. Pada proses imunologi non spesifik, makrofag berperan besar pada fagositosis antigen. Tingginya jumlah makrofag pada kelompok perlakuan hari ke-3 ini diduga melalui mekanisme bahwa flavonoid yang teridentifikasi pada ekstrak biji kakao adalah quercetin-3-O- α -D-arabinosid dan quercetin-3-O- β -D-glucopuranosid^{19,20}. Quercetin dapat berikatan dengan reseptor TLR-2 pada permukaan makrofag. Diketahui bahwa flavonoid *quercetin* dapat mempengaruhi aktivasi TLR-2 dan NF- κ B²¹. Aktivasi NF- κ B menyebabkan keluarnya sitokin pro-inflamasi seperti TNF α , IL-1B, IL-6 yang selanjutnya akan mengaktifasi makrofag²², sehingga jumlah makrofag menjadi meningkat. Akan tetapi peningkatan makrofag dalam jumlah yang tidak terkontrol dapat menyebabkan peradangan yang berlebihan atau fibrosis. Disfungsi makrofag atau jumlah makrofag yang rendah dalam proses perbaikan jaringan menyebabkan penyembuhan luka tidak optimal,

terhambatnya proliferasi fibroblas dan angiogenesis¹⁸

Flavonoid berfungsi sebagai antiinflamasi yakni berperan penting dalam menjaga permeabilitas serta meningkatkan resistensi pembuluh darah kapiler, flavonoid bekerja terutama pada endotelium mikrovaskular untuk mengurangi terjadinya hiperpermeabilitas dan edema, mekanisme flavonoid dalam menghambat terjadinya inflamasi melalui dua cara yaitu menghambat asam arakhidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel endothelial dan menghambat fase proliferasi dan fase eksudasi dari proses inflamasi, terhambatnya pelepasan asam arakhidonat dapat menyebabkan kurang tersedianya substrat arakhidonat bagi jalur siklooksigenase dan lipooksigenase, sehingga akhirnya akan menekan jumlah prostaglandin, tromboksan, prostasiklin, endoperoksida, asam hidroksatetraenoat, dan leukotrin⁸. Penekanan jumlah tersebut mempengaruhi migrasi sel-sel inflamasi²³.

Antioksidan merupakan kandungan yang paling banyak pada biji kakao dengan besar 43,5907% yang diperoleh dari hasil uji pada laboratorium analisis terpadu jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Negeri Jember. Kandungan polifenol 43,5907% termasuk besar, ada laporan bahwa polifenol kakao tiga kali lebih besar dari teh hijau yang sudah terkenal sebagai sumber antioksidan²⁴. Fungsi utama antioksidan adalah menangkalkan radikal bebas sehingga timbulnya berbagai penyakit dapat dicegah seperti kanker, arterosklerosis, peradangan, penyakit kardiovaskular dan karies gigi^{25,26,27}.

Biji kakao mengandung flavonoid yang memiliki efek antioksidan yang dapat mempercepat fase inflamasi dengan cara menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi oksidasi dengan meningkatkan aktifitas enzim *Superoxide dismutase* (SOD) dan *glutathion transferase*²⁸ [19]. Flavonoid dapat menangkap radikal bebas dengan cara menghambat kerja enzim yang menghasilkan radikal bebas dan membentuk kelat dengan

logam-logam yang memacu terbentuknya radikal bebas sehingga reaksi radikal bebas dengan sel-sel normal seperti peroksidasi lemak dan kerusakan DNA dapat dicegah atau stres oksidatif tidak terjadi lagi²⁹ [20]. Flavonoid dapat berfungsi sebagai zat pengkelat dari logam-logam Cu dan Fe yang berfungsi sebagai katalis dalam reaksi Fenton. Reaksi ini termasuk reaksi perubahan Hidrogen Peroksida menjadi OH⁻. Proses kelat ini akan menurunkan aktivitas katalitik dari logam Cu dan Fe sehingga akan mengurangi terbentuknya radikal OH⁻ dan secara otomatis akan menurunkan proses kerusakan DNA dan proses peroksidasi lemak (PUFA)^{30,31} [21, 22]. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak biji kakao 8% mampu mempengaruhi jumlah sel makrofag dalam mempercepat proses penyembuhan luka pada soket pasca pencabutan gigi tikus Wistar jantan pada hari ke-1, hari ke-3 dan hari ke-5, akan tetapi hari ke-3 merupakan waktu paling efektif dalam proses penyembuhan luka pencabutan gigi melalui penurunan jumlah sel makrofag

CONCLUSION

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa gel ekstrak biji kakao 8% (*Theobroma Cacao, L*) efektif mempercepat proses penyembuhan luka pencabutan gigi tikus Wistar jantan dengan menurunkan jumlah sel makrofag pada hari ke-3. Selain efektivitas perlu dilakukan penelitian tentang stabilitas gel ekstrak biji kakao 8% (*Theobroma Cacao, L*) terhadap proses penyembuhan luka pencabutan gigi.

ACKNOWLEDMENT

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Rektor Universitas Jember melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LP2M) yang telah memberikan

dana bantuan penelitian melalui Hibah Internal Pendukung IDB Universitas Jember

REFERENCES

- Budi, H.S., P. Soesilowati, Z. Imanina. Gambaran histopatologi penyembuhan luka pencabutan gigi pada makrofag dan neovaskular dengan pemberian getah batang pisang ambon. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 2017;3(3): 122.
- Sugiaman, V.K. Peningkatan penyembuhan luka di mukosa oral melalui pemberian Aloe Vera (Linn.) secara topikal. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2011; 11(1): 79-70.
- Robbins, S.L., R.S. Cotran, dan V. Kumar. Buku Ajar Patologi. Edisi ke-7. Jakarta: EGC; 2013.
- Zhang X, Goncalves R, Mosser D. The isolation and characterization of murine macrophages. *Curr Protoc Immunol*. 2008;14(1): 8.
- Nucera S, Bizziato D, Palma MD. The interplay between macrophages and angiogenesis in development tissue injury and regeneration. *Int. j. dev. Biol*. 2010;55:503-495.
- Wong SY, PL Lua. Effect of dark chocolate consumption on anxiety, depressive symptoms and health related quality of life status among cancer patients. *Health and Environment Journal*. 2012; (3): 35-27.
- Al Fa'izah, Z. Efektifitas Gel Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L) terhadap Jumlah Sel Fibroblast pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Tikus Wistar Jantan [Skripsi]. Jember : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember; 2018.
- Misnawi, S., B. Jinap, Jamillah, dan S. Nazamid. Effect of incubation and polyphenol oxidase enrichment of unfermented and partly fermented dried cocoa beans on color, fermentation index and epicatechin content. *International Journal of Food Science and Technology*. 2002;3(8): 4-2.
- Agussalim. Manfaat Biji Kakao untuk Kesehatan. Sulawesi Tenggara : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian; 2011.
- Ansel, H.C. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi edisi IV. Jakarta : UI Press; 2005.
- Rowe, Raymond C, dkk. Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th Ed. USA: Pharmaceutical Press; 2009.
- Fuadi MI, Ulfa Elfiah, Misnawi. Jumlah fibroblast luka bakar derajat dua pada tikus dengan pemberian gel ekstrak etanol biji kakao dan silver sulfadiazine. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2015; 3.
- Koh TJ, Di Pierro LA. Inflammation and Wound Healing. The Role of the macrophage. *Expert Rev. Mol Med*. 2011;13:e23.
- Brancato SK, Albina JE, Wound macrophages as a key regulators of repair; origin, phenotype and function. *Am. J Pathol*. 2011;178(1):25-19.
- Bonyanian ZMR, Roselin B. Caffeine and its potential role in attenuating impaired wound healing. *Journal of Caffeine Research*. 2016; 5(4):141-8.
- Mutiara, GPI, Nurdiana, Yulian WU. 2015. Efektifitas Hidrogel Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap Penurunan Jumlah makrofag pada Fase Proliferasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Kondisi Hiperglikemia, *Majalah Kesehatan FKUB*. 2015; 2(1):40-29.
- Guyton, A. C. Dan Hall, J. E. "Text Book of Medical Physiology (1996)". Terjemahan Setiawan, I et al. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi kesebelas. Jakarta : EGC; 2008.
- Saraf, Sanjay. Text Book Of Oral Pathology. First Edition. New Delhi, India : Jaypee Brother Medical Publisher Ltd; 2006.
- Towaha J. Kandungan senyawa polifenol pada biji kakao dan kontribusinya terhadap kesehatan, *SIRINOV*. 2014;2(1): 16-1.
- Wollgast, J and E. Anklam. Review of polyphenols in *Theobroma cacao* : changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*. 2000; 33: 447-423.
- Lim EK, Paul J, Najmeeyah B, Rebecca AD, Gordon B, Paul MK, 2013. Regio specific methylation of dietary flavonoid scaffold selectively enhances IL-1B, production following Toll Like Receptor 2 stimulation on THP 1 on monocytes, *Journal of Biology Chemistry*. 2013; 288(29): 21126-33.
- Posadas RL, I Ballester, Mascaraque, MD Suarez, A Zarzuelo, O Martinez, et al. Flavonoid exert distinct modulatory actions on cyclooxygenase 2 and NF-kB in an intestinal epithelial cell line (IEC18), *British Journal of Pharmacology*. 2010;160:1714-26.
- Sabir A. Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi. Dalam *Majalah Kedokteran Gigi*. Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III. FKG Unair. 2003:87-81.
- Agussalim. Manfaat Biji Kakao untuk Kesehatan. Sulawesi Tenggara : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian ; 2011.
- Ito, K., Y. N. Akamura, T. T. Okunaga, and D. I. Ijima. Anti Cariogenic Properties of a Water Soluble Extract from Cacao. *Enzyme*. 2003; 67 (12): 2567-73.
- Prior, R. L., and L. Gu. 2005. Occurrence and Biological Significance of Proanthocyanidins in the American Diet. *Phytochemistry*. 2005; 66: 2264-80. (18 SPEC. ISS.). doi:10.1016/j.phytochem.2005.03.025
- Hidayat, T.S.N. Peran Topikal Ekstrak Gel Aloe Vera pada Penyembuhan Luka Bakar derajat Dua Dalam. Skripsi. Surabaya: Universitas Airlangga; 2013.
- Pawarta, I.M.O. Adi. Antioksidan. Denpasar : Universitas Udayana; 2016.
- Valko, M., Mario I., Milan M., Christopher J.R. and Joshua T. Role of oxygen radicals in DNA damage

- and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2004;266 : 37- 36.
30. Akhlaghi, M., Brian, B. Mechanisms of flavonoid protection against myocardial ischemia–reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*.2009; 46:309–17.(2).
31. Li J, Li G, Hu JL,Fu XH, Zeng YJ, Zhou YG, Xiong G,. Chronic or high doze acute caffeine treatment protects mice against oleic acid-induced acute lung injury via an adenosine A2A receptor-independent mechanism. *Eur J Pharmacol*. 2011;654(3):303-295.