



LAMPIRAN

Lampiran 1. Keterangan Kelaikan Etik

**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA****KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 562-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI KEFIR DAN
LIDAH BUAYA (Aloe vera) TERHADAP EKSPRESI
TNF- α DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI KULIT
SEBAGAI PENGobatan LUKA INSISI PADA TIKUS

PENELITI : LOVY CENDYA LUCKYTA

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 30 Mei 2016

Ketua Komisi Etik Penelitian

Universitas Brawijaya



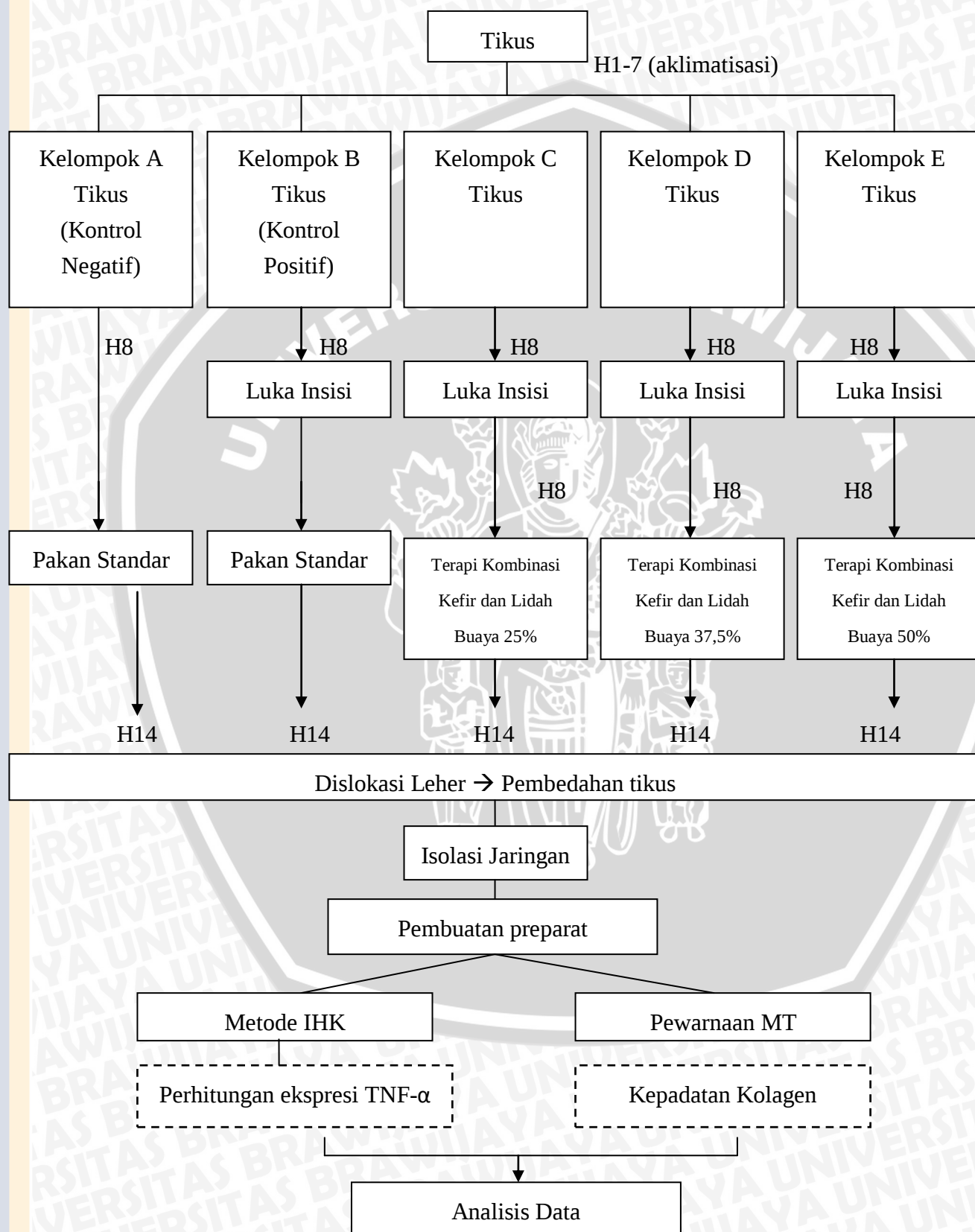
Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.

NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 2. Determinasi Tanaman Lidah Buaya (*Aloe vera*)

 DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR UPT MATERIA MEDICA Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313) KOTA BATU	
Nomor	: 074 / 223 / 101.8 / VIII / 2016
Sifat	: Biasa
Perihal	: <u>Determinasi Tanaman Lidah Buaya</u>
Memenuhi permohonan saudara :	
Nama/NIM	: OLIVIA ANGGITA Y.P / 125130100111049 RIZKA SURYANING DEWI / 125130101111048 LOVY CENDYA L. / 125130101111050
Fakultas	: JURUSAN PENDIDIKAN DOKTER HEWAN, FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG
1. Perihal determinasi tanaman lidah buaya	Kingdom : Plantae (Tumbuhan) Sub kingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh) Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji) Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga) Sub divisi : Angiospermae Kelas : Monocotyledonae Bangsa : Liliales Suku : Liliaceae Marga : Aloe Jenis : <i>Aloe Vera</i> Linn. Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15a-109a-110b-111a-112a-113b-116a-119b-120b-128b-129b-135b-136a-137b.
2. Morfologi	: Habitus: Semak, tahunan, tinggi ± 1 m. Batang: Bulat, tidak berkayu, percabangan monopodial. Daun: Tunggal, lanset, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi bergerigi, panjang 30-50 cm, lebar 2-5 cm, berdaging tebal, berlendir, bergetah kuning, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk malai, di ujung batang, daun pelindung panjang ± 1.5 cm, benang sari enam, putik menyebel keluar atau melekat pada pangkal kepala sari, tangkai putik silindris, kepala putik bulat, kecil, mahkota panjang 2.5-3.5 cm, bertabung pendek, ujung melebar, jingga atau merah. Buah: Kotak, panjang ± 20 cm, berkatup, hijau keputih-putihan. Buah: Bulat, kecil, hitam. Akar: Serabut, kuning kotor.
3. Nama Simplesia	: Succus Aloe Inspissatus / Daging daun lidah buaya
4. Kandungan Kimia	: Daun lidah buaya mengandung aloin, aloe-emodin, rhein, aloinoside A, barbaloin, vitamin (B1, B2, B6, B12, dan C), mineral (kalsium, natrium, kalium, mangan, seng), asam amino esensial, lemak, polisakarida, isoharbaloin, rhein, aloin, aloinoside B, antrakuinon, saponin, karbohidrat, enzim (oksidase, katalase, lipase, aninase, amylase) dan hormon.
5. Penggunaan	: Penyusunan Tugas Akhir
6. Daftar Pustaka	- Anonim. http://www.tanamanobat.com/lidah_buaya , diakses tanggal 9 Januari 2009. - Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/lidah_buaya , diakses tanggal 15 Desember 2010. - Anonim. http://www.iptek.net.id/Lidah_buaya , diakses tanggal 21 Oktober 2010. - Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. Inventaris Tanaman Obat Indonesia I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. - Van Steenis, CGGJ. 2008. FLORA, Pradnya Paramita, Jakarta.
Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.	
Batu, 04 Agustus 2016 Kepala UPT Materia Medica Batu  Dr. H. Masin RM, Dpt. Apt., M.Kes.	

Lampiran 3. Kerangka Operasional Penelitian



Lampiran 4. Perhitungan Dosis Terapi Salep Kombinasi Kefir dan Lidah Buaya (*Aloe vera*)

A. Formula

- Dibuat sediaan 1 gr $\rightarrow 5 \text{ mg} \times 10 \text{ hari} = 50 \text{ mg} = 0,05 \text{ gr} \times 20 \text{ ekor}$
 $= 1 \text{ gr}$
- Salep Kefir Kombinasi Lidah Buaya : 25%, 37,5%, 50%
- Vaseline Albume : 95%
- Cera Alba : 5%
- Perbandingan Kefir dan Lidah Buaya yang digunakan : 3:1

Basis Salep

B. Kefir dan Lidah Buaya (*Aloe vera*) konsentrasi 25%

$$\frac{25}{100} \times 1 \text{ gr} = 0,25 \text{ gr}$$

Kefir

$$\frac{3}{4} \times 0,25 \text{ gr} = 0,19 \text{ gr}$$

Lidah Buaya

$$\frac{1}{4} \times 0,25 \text{ gr} = 0,06 \text{ gr}$$

- Basis Salep: $100\% - 25\% = 75\%$

$\frac{75}{100} \times 1 \text{ gr} = 0,75 \text{ gr} \rightarrow$ Berat basis salep (vaseline album dan cera alba) yang terkandung pada salep kefir 25% sediaan 1 gr

Vaseline Albume

$$\frac{95}{100} \times 0,75 \text{ gr} = 0,71 \text{ gr}$$

Cera Alba

$$\frac{5}{100} \times 0,75 \text{ gr} = 0,04 \text{ gr}$$

▪ Penimbangan

BAHAN	PENIMBANGAN
Kefir Susu Sapi	0,19 gr
Sari Lidah Buaya	0,06 gr
Vaseline albume	0,71 gr
Cera Alba	0,04 gr

C. Kefir dan Lidah Buaya (*Aloe vera*) konsentrasi 37,5%

$$\frac{37,5}{100} \times 1 \text{ gr} = 0,38 \text{ gr}$$

Kefir

$$\frac{3}{4} \times 0,38 \text{ gr} = 0,29 \text{ gr}$$

Lidah Buaya

$$\frac{1}{4} \times 0,38 \text{ gr} = 0,09 \text{ gr}$$

- Basis Salep: 100% - 37,5% = 62,5%

$$\frac{62,5}{100} \times 1 \text{ gr} = 0,62 \text{ gr} \rightarrow \text{Berat basis salep (vaseline album dan cera alba) yang dibutuhkan pada salep kefir 37,5% sediaan 1 gr}$$

Vaseline Albume

$$\frac{95}{100} \times 0,62 \text{ gr} = 0,59 \text{ gr}$$

Cera Alba

$$\frac{5}{100} \times 0,62 \text{ gr} = 0,03 \text{ gr}$$

▪ Penimbangan

BAHAN	PENIMBANGAN
Kefir Susu Sapi	0,29 gr
Sari Lidah Buaya	0,09 gr
Vaseline albume	0,59 gr
Cera Alba	0,03 gr

D. Kefir dan Lidah Buaya (*Aloe vera*) konsentrasi 50%

$$\frac{50}{100} \times 1 \text{ gr} = 0,5 \text{ gr}$$

Kefir

$$\frac{3}{4} \times 0,5 \text{ gr} = 0,38 \text{ gr}$$

Lidah Buaya

$$\frac{1}{4} \times 0,5 \text{ gr} = 0,12 \text{ gr}$$

- Basis Salep: 100% - 50% = 50%

$\frac{50}{100} \times 1 \text{ gr} = 0,5 \text{ gr} \rightarrow$ Berat basis salep (vaseline album dan cera alba) yang dibutuhkan pada salep kefir 50% sediaan 1 gr

Vaseline Albume

$$\frac{95}{100} \times 0,5 \text{ gr} = 0,47 \text{ gr}$$

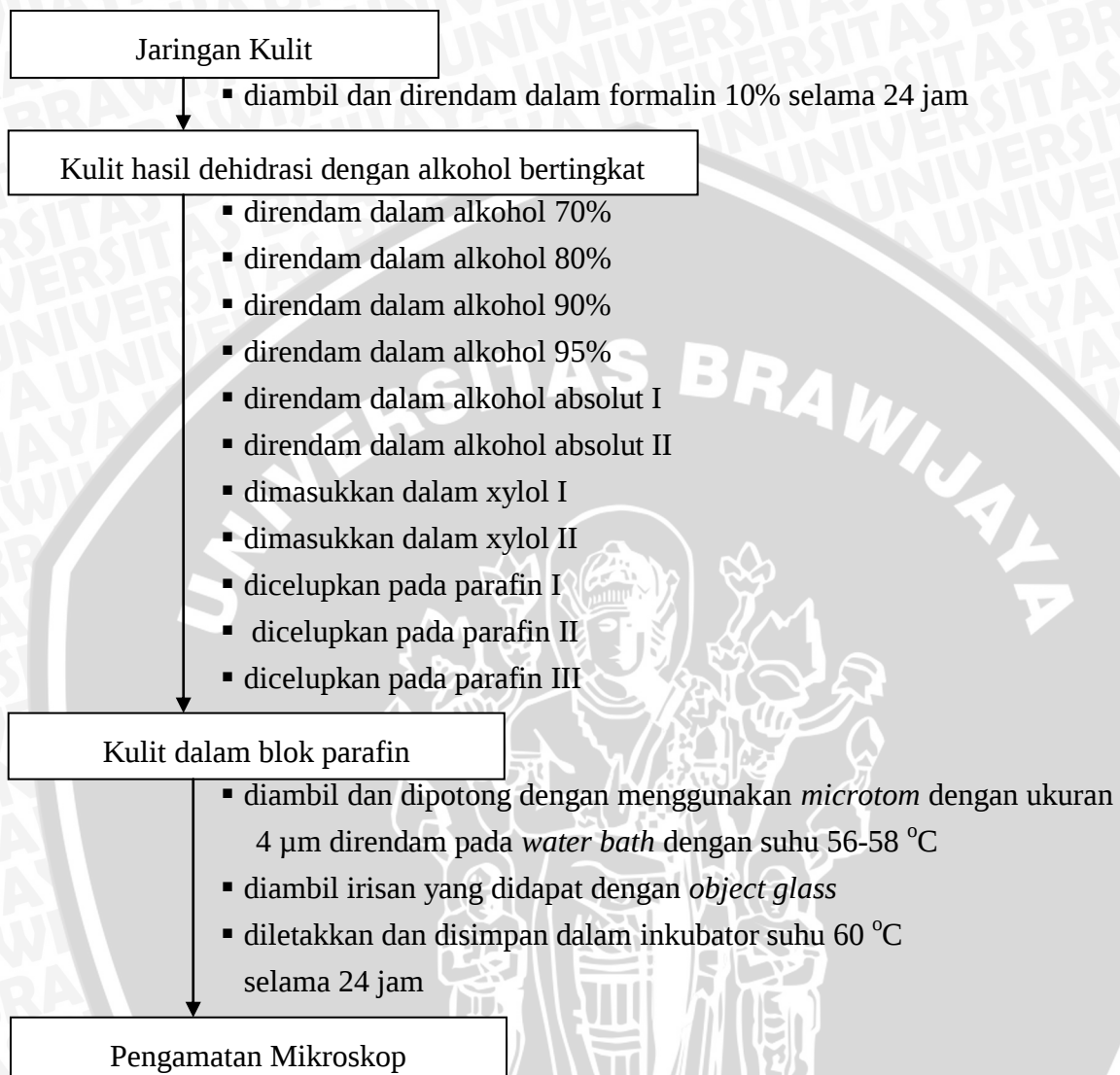
Cera Alba

$$\frac{5}{100} \times 0,5 \text{ gr} = 0,03 \text{ gr}$$

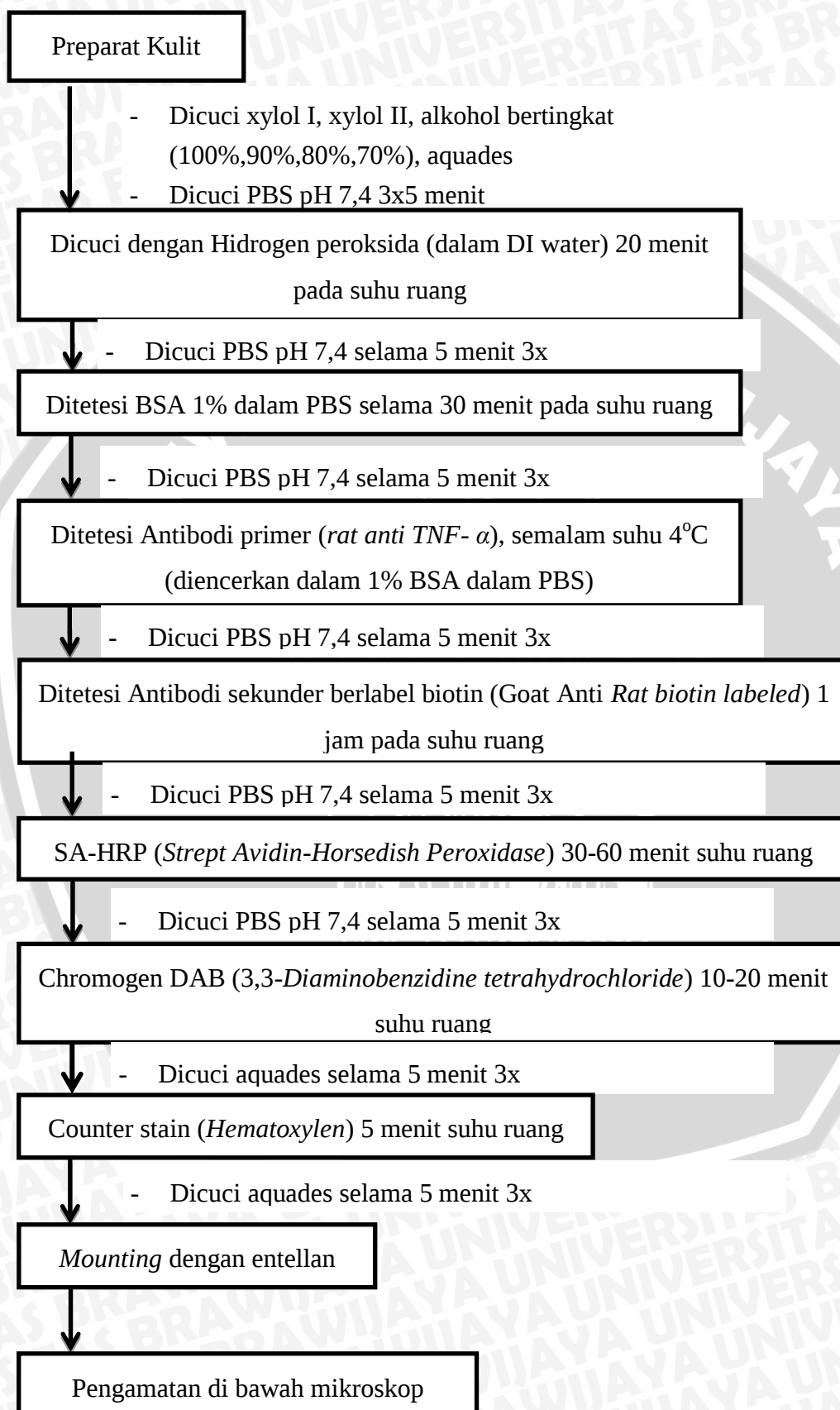
▪ Penimbangan

BAHAN	PENIMBANGAN
Kefir Susu Sapi	0,38 gr
Sari Lidah Buaya	0,12 gr
Vaseline albume	0,47 gr
Cera Alba	0,03 gr

Lampiran 5. Pembuatan Preparat Histopatologi Jaringan



Lampiran 6. Metode Imunohistokimia Ekspresi TNF- α



Lampiran 7. Pewarnaan *Masson's Trichrome*

Preparat kulit siap pewarnaan

- dideparafinasi dengan dimasukkan pada xylol bertingkat I – III masing – masing selama 5 menit
- direndam dalam alkohol absolut I selama 5 menit
- direndam dalam alkohol absolut II selama 5 menit
- direndam dalam alkohol absolut III selama 5 menit
- direndam dalam alkohol 95% selama 5 menit
- direndam dalam alkohol 90% selama 5 menit
- direndam dalam alkohol 80% selama 5 menit
- direndam dalam alkohol 70% selama 5 menit
- direndam dalam aquades selama 5 menit

Preparat Kulit

- difiksasi dengan formalin 10%,
- dilakukan deparafinasi dengan akuades
- dimasukkan dalam *boin's* selama 1 jam pada suhu 56°C
- didinginkan dan dicuci dengan air mengalir
- dibilas dengan akuades
- dimasukkan dalam *weigert's iron hematoxylin* selama 10 menit
- dicuci dengan air mengalir selama 10 menit
- dibilas dengan aquades
- direndam kedalam *biebrich scarlet-acid fuchsin* selama 2 menit
- dibilas kembali dengan aquades
- dimasukkan dalam *phosphomolybdic-phosphotungstic* selama 10 menit
- dimasukkan dalam *aniline blue* selama 5 menit
- dibilas dengan aquades
- dimasukkan dalam *asam glasial asetat* selama 3 menit
- dimasukkan dalam alkohol 95% dan 100%,
- dibersihkan dengan *xylene* sebanyak dua kali
- *dimounting* dengan balsam Kanada
- diberi entelan
- ditutup *object glass*.

Pengamatan Mikroskop

Lampiran 8. Perhitungan Ekspresi TNF- α

Tabel L8.1 Data Ekspresi TNF- α dalam *Percent Area*

Kelompok Perlakuan	Tikus				Rataan Ekspresi TNF- α
	1	2	3	4	
Kontrol (-)	85,15	92,05	78,20	77,70	83,2750
Kontrol (+)	86,90	99,17	88,20	87,12	90,3475
Terapi 25%	90,42	84,62	91,40	81,05	86,8725
Terapi 37,5%	77,68	79,30	80,92	80,60	79,6250
Terapi 50%	94,15	87,10	90,57	89,08	90,225



Lampiran 9. Presentase Peningkatan dan Penurunan Ekspresi TNF- α

Kelompok Kontrol

$$\begin{aligned} \text{Peningkatan ekspresi TNF-}\alpha \text{ (\%)} &= \frac{\text{Rataan Kontrol (+)} - \text{Rataan Kontrol (-)}}{\text{Rataan Kontrol (-)}} \times 100\% \\ &= \frac{90,3475 - 83,2750}{83,2750} \times 100\% \\ &= 8,49\% \end{aligned}$$

Kelompok Terapi 25%

$$\begin{aligned} \text{Penurunan ekspresi TNF-}\alpha \text{ (\%)} &= \frac{\text{Rataan Kontrol (+)} - \text{Rataan Terapi}}{\text{Rataan Kontrol (+)}} \times 100\% \\ &= \frac{90,3475 - 86,8725}{90,3475} \times 100\% \\ &= 3,84\% \end{aligned}$$

Kelompok Terapi 37,5%

$$\begin{aligned} \text{Penurunan ekspresi TNF-}\alpha \text{ (\%)} &= \frac{\text{Rataan Kontrol (+)} - \text{Rataan Terapi}}{\text{Rataan Kontrol (+)}} \times 100\% \\ &= \frac{90,3475 - 79,6250}{90,3475} \times 100\% \\ &= 11,8\% \end{aligned}$$

Kelompok Terapi 50%

$$\begin{aligned} \text{Penurunan ekspresi TNF-}\alpha \text{ (\%)} &= \frac{\text{Rataan Kontrol (+)} - \text{Rataan Terapi}}{\text{Rataan Kontrol (+)}} \times 100\% \\ &= \frac{90,3475 - 90,2238}{90,3475} \times 100\% \\ &= 0,13\% \end{aligned}$$

Lampiran 10. Uji Statistika Ekspresi TNF- α

Tabel L10.1. Uji Normalitas Data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		TNF- α
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	86,0688
	Std. Deviation	6,02394
Most Extreme Differences	Absolute	,148
	Positive	,148
	Negative	-,105
Test Statistic		,148
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		
c. Lilliefors Significance Correction.		
d. This is a lower bound of the true significance.		

Hasil pengujian normalitas nilai menunjukkan nilai signifikasi (p) sebesar 0,200. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi yang tersebar dengan normal.

Tabel L10.2 Uji Homogenitas Data

Test of Homogeneity of Variances			
TNF- α			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,639	4	15	,075

Hasil pengujian menunjukkan nilai signifikasi (p) sebesar 0,075. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai ragam yang homogen. Pengujian nilai homogenitas dan nilai normalitas sampel telah memenuhi asumsi sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANNOVA.

Tabel L10.3. Uji Statistik ANNOVA

ANOVA					
TNF- α					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	342,179	4	85,545	3,695	,028
Within Groups	347,290	15	23,153		
Total	689,469	19			

Nilai $p < 0,05$, maka H_0 ditolak dan dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan.

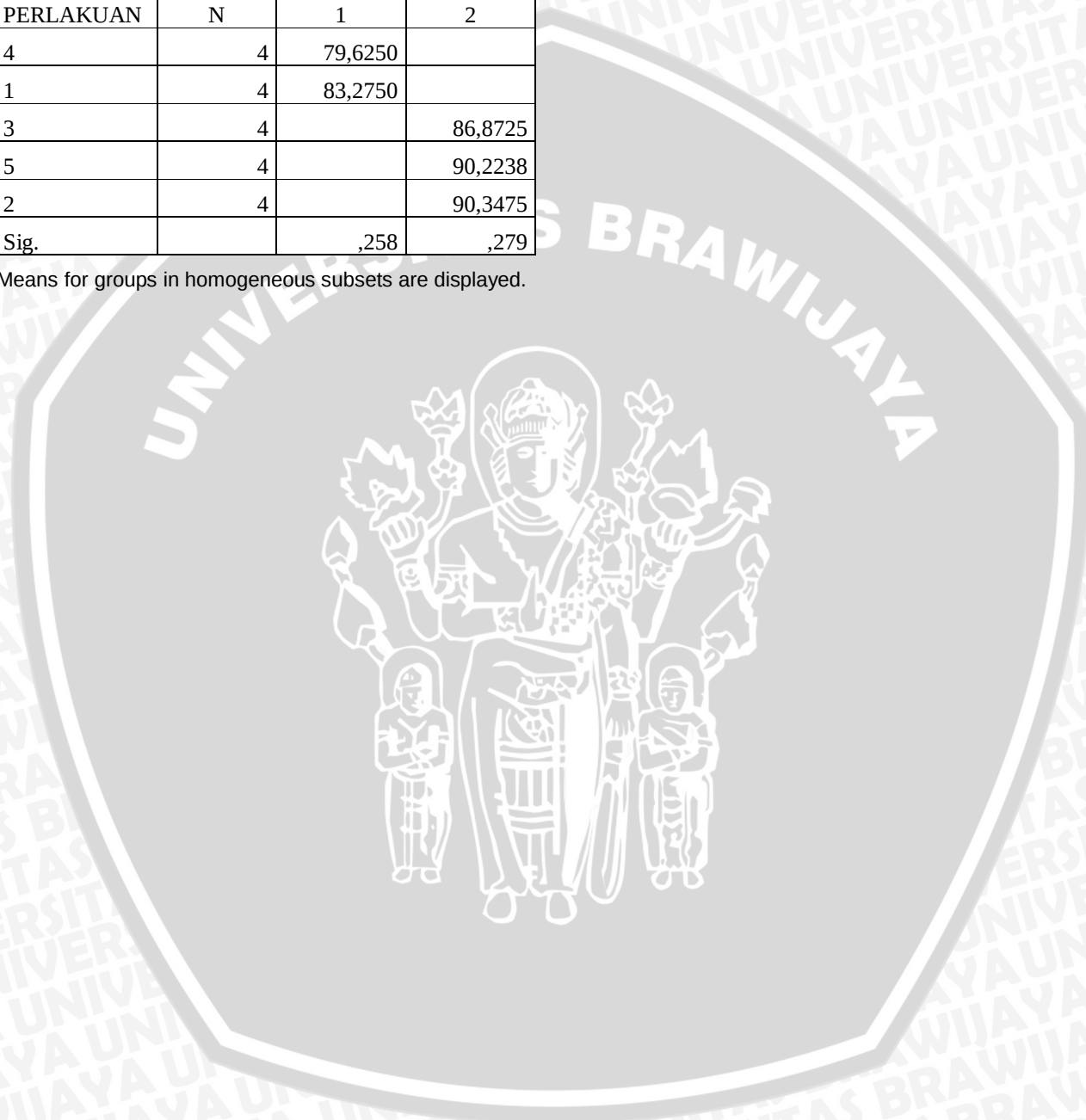
Tabel L10.4. Uji Lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur)

Multiple Comparisons					
Dependent Variable: TNF- α					
Tukey HSD					
(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound
1	2	-7,07250	3,40240	,279	-17,5789
	3	-3,59750	3,40240	,825	-14,1039
	4	3,65000	3,40240	,817	-6,8564
	5	-6,94875	3,40240	,294	-17,4551
2	1	7,07250	3,40240	,279	-3,4339
	3	3,47500	3,40240	,842	-7,0314
	4	10,72250*	3,40240	,044	,2161
	5	,12375	3,40240	1,000	-10,3826
3	1	3,59750	3,40240	,825	-6,9089
	2	-3,47500	3,40240	,842	-13,9814
	4	7,24750	3,40240	,258	-3,2589
	5	-3,35125	3,40240	,858	-13,8576
4	1	-3,65000	3,40240	,817	-14,1564
	2	-10,72250*	3,40240	,044	-21,2289
	3	-7,24750	3,40240	,258	-17,7539
	5	-10,59875*	3,40240	,048	-21,1051
5	1	6,94875	3,40240	,294	-3,5576
	2	-,12375	3,40240	1,000	-10,6301
	3	3,35125	3,40240	,858	-7,1551
	4	-10,59875*	3,40240	,048	-,0924

Tabel L10.5 Pemberian Notasi pada Uji BNJ

TNF- α			
Tukey HSD ^a			
PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
4	4	79,6250	
1	4	83,2750	
3	4		86,8725
5	4		90,2238
2	4		90,3475
Sig.		,258	,279

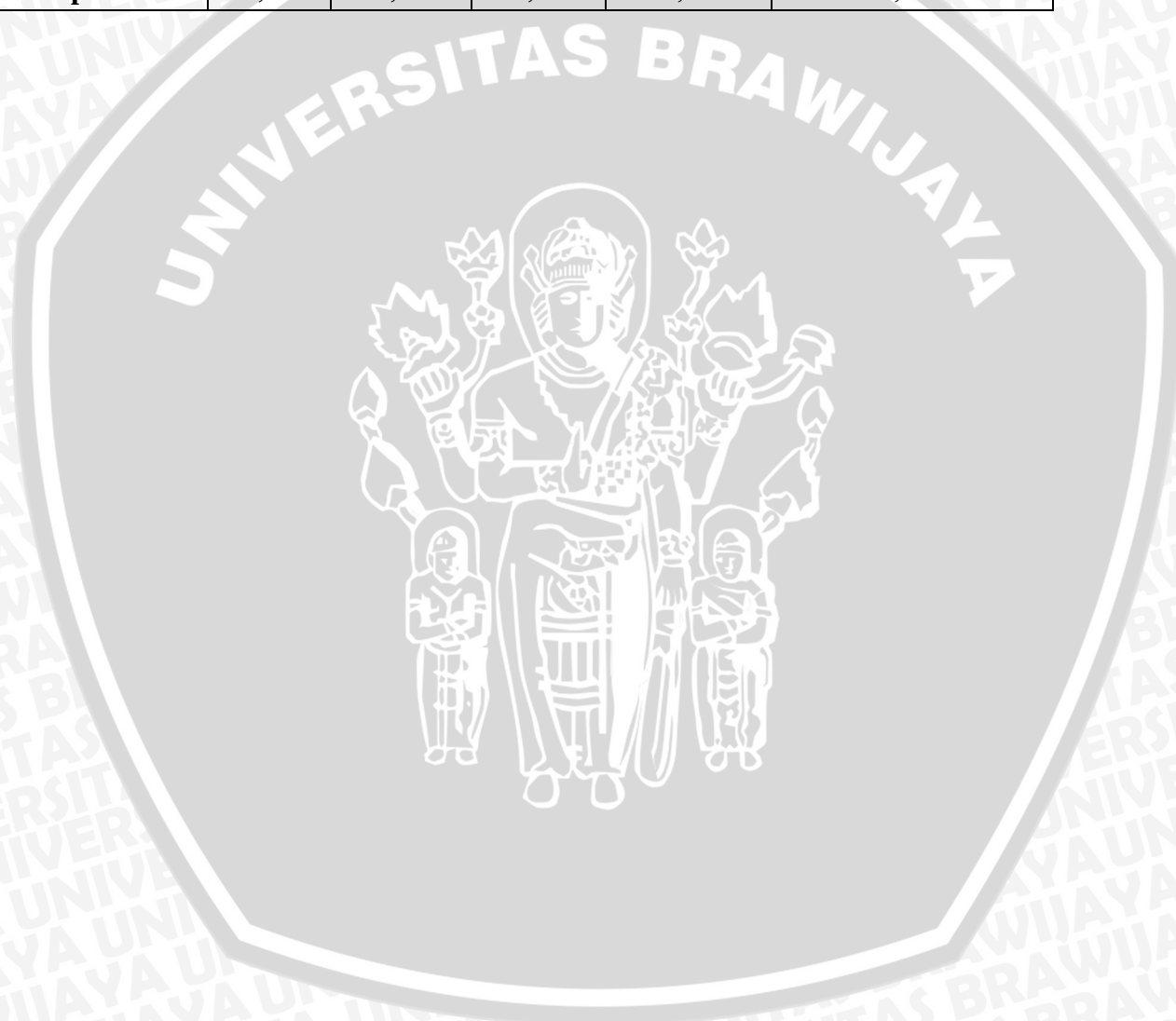
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 11. Perhitungan Kerapatan Kolagen

Tabel L11.1 Data Kerapatan Kolagen

Kelompok Perlakuan	Tikus				Rataan Kerapatan Kolagen
	1	2	3	4	
Kontrol (-)	2,39	2,40	2,56	2,20	2,3875
Kontrol (+)	2,76	2,86	2,65	2,90	2,7295
Terapi 25%	2,39	2,28	2,38	2,88	2,4825
Terapi 37,5%	2,22	2,06	2,29	1,84	2,1025
Terapi 50%	2,54	2,50	2,54	2,88	2,615



Lampiran 12. Perhitungan Peningkatan dan Penurunan Kerapatan Kolagen

Kelompok Kontrol

$$\begin{aligned}\text{Peningkatan kerapatan kolagen (\%)} &= \frac{\text{Rataan Kontrol (+)} - \text{Rataan Kontrol (-)}}{\text{Rataan Kontrol (-)}} \times 100\% \\ &= \frac{2,7295 - 2,3875}{2,7295} \times 100\% \\ &= 12,52\%\end{aligned}$$

Kelompok Terapi 25%

$$\begin{aligned}\text{Peningkatan kerapatan kolagen (\%)} &= \frac{\text{Rataan Kontrol (+)} - \text{Rataan Terapi}}{\text{Rataan Kontrol (+)}} \times 100\% \\ &= \frac{2,7295 - 2,4825}{2,7295} \times 100\% \\ &= 9,04\%\end{aligned}$$

Kelompok Terapi 37,5%

$$\begin{aligned}\text{Peningkatan kerapatan kolagen (\%)} &= \frac{\text{Rataan Kontrol (+)} - \text{Rataan Terapi}}{\text{Rataan Kontrol (+)}} \times 100\% \\ &= \frac{2,7295 - 2,1025}{2,7295} \times 100\% \\ &= 22,97\%\end{aligned}$$

Kelompok Terapi 50%

$$\begin{aligned}\text{Peningkatan kerapatan kolagen (\%)} &= \frac{\text{Rataan Kontrol (+)} - \text{Rataan Terapi}}{\text{Rataan Kontrol (+)}} \times 100\% \\ &= \frac{2,7295 - 2,615}{2,7295} \times 100\% \\ &= 4,19\%\end{aligned}$$

Lampiran 13. Uji Statistika Kerapatan Kolagen

Tabel L13.1. Uji Normalitas Data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		KOLAGEN
N		20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2,4754
	Std. Deviation	,29032
Most Extreme Differences	Absolute	,107
	Positive	,102
	Negative	-,107
Test Statistic		,107
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200
a. Test distribution is Normal.		
b. Calculated from data.		
c. Lilliefors Significance Correction.		

Hasil pengujian normalitas nilai menunjukkan nilai signifikansi (p) sebesar 0,200. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi yang tersebar dengan normal.

Tabel L13.2 Uji Homogenitas Data

Test of Homogeneity of Variances			
KOLAGEN			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,839	4	15	,521

Hasil pengujian menunjukkan nilai signifikansi (p) sebesar 0,521. Oleh karena nilai $p > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai ragam yang homogen. Pengujian nilai homogenitas dan nilai normalitas sampel telah memenuhi asumsi sehingga dapat dilanjutkan dengan uji ANNOVA.

Tabel L13.3 Uji Statistik ANNOVA

ANOVA					
KOLAGEN					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,064	4	,266	7.430	,002
Within Groups	,537	15	,036		
Total	1,601	19			

Nilai $p < 0,05$, maka H_0 ditolak dan dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan.

Tabel L13.4 Uji Lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur)

Multiple Comparisons					
Dependent Variable: KOLAGEN					
Tukey HSD					
(I) PERLAKUAN	(J) PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound
1,00	2,00	-,40500	,13381	,056	-,8182
	3,00	-,09500	,13381	,951	-,5082
	4,00	,28500	,13381	,258	-,1282
	5,00	-,22462	,13381	,475	-,6378
2,00	1,00	,40500	,13381	,056	-,0082
	3,00	,31000	,13381	,193	,1032
	4,00	,69000*	,13381	,001	-,2768
	5,00	,18038	,13381	,667	-,2328
3,00	1,00	,09500	,13381	,951	-,3182
	2,00	-,31000	,13381	,193	-,7232
	4,00	,38000	,13381	,079	-,0332
	5,00	-,12962	,13381	,856	-,5428
4,00	1,00	-,28500	,13381	,258	-,6982
	2,00	-,69000*	,13381	,001	-1,1032
	3,00	-,38000	,13381	,079	-,7932
	5,00	-,50962*	,13381	,013	-,9228
5,00	1,00	,22462	,13381	,475	-,1886
	2,00	-,18038	,13381	,667	-,5936
	3,00	,12962	,13381	,865	-,2836
	4,00	-,50962*	,13381	,013	-,0964

Tabel L13.5 Pemberian Notasi pada Uji BNJ

Kolagen			
Tukey HSD ^a			
PERLAKUAN	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
4	4	2,1025	
1	4	2,3875	
3	4		2,4825
5	4		2,6121
2	4		2,7925
Sig.		,079	,056

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

